

PŘÍHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **23.03.2000**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **23.03.1999 16.06.1999**
08.10.1999 08.11.1999

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1999/126056 1999/140028**
1999/414905 1999/164048

(33) Země priority: **US US US US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **17.04.2002**
(Věstník č. 4/2002)

(86) PCT číslo: **PCT/US00/07883**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO00/56757**

(21) Číslo dokumentu:

2001 - 3420

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

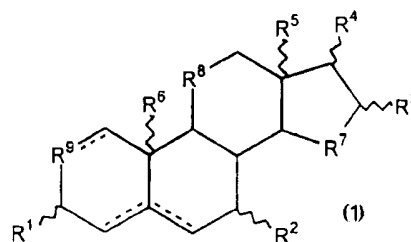
C 07 J 1/00
C 07 J 3/00
A 61 K 31/565
A 61 P 35/00
A 61 P 37/00

(71) Přihlašovatel:

HOLLIS-EDEN PHARMACEUTICALS, INC., San Diego, CA, US;

(72) Původce:

Ahlem Clarence Nathaniel, San Diego, CA, US;
Frincke James Martin, San Diego, CA, US;
De Carvalho Luis Daniel dos Anjos, Paio Pires, PT;
Heggie William, Cabanas, PT;
Prendergast Patrick T., Straffan, IE;
Reading Christopher L., San Diego, CA, US;
Thadikonda Krupakar Paul, Gaithersburg, MD, US;
Vernon Russell Neil, Oak Hills, CA, US;



(74) Zástupce:

Jírotková Ivana Ing., Nad Štolou 12, Praha 7, 17000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Imunomodulační steroidy, zejména hemihydrát
16alfa-bromepiandrosteronu

(57) Anotace:

Předložený vynález popisuje přípravky na bázi steroidů obecného vzorce I, např. hemihydrátu 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstanu-17-onu, a jedné nebo více pomocných látek, typicky obsahuje přípravek méně než 3 % vody. Přípravky jsou účinné při výrobě zlepšených farmaceutických formulací. Vynález také popisuje způsoby intermitentního podávání steroidních sloučenin, např. analog hemihydrátu 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstanu-17-onu, a přípravky použitelné při tomto způsobu dávkování. Vynález dále popisuje přípravky a způsoby inhibice replikace patogenu (virového), zlepšení symptomů souvisejících s imunitní dysregulací a modulací imunitních odpovědí subjektu pomocí určitých steroidů a analog steroidů. Vynález také popisuje způsoby výroby a použití těchto přípravků a formulací s imunomodulačními vlastnostmi.

IMUNOMODULAČNÍ STEROIDY, ZEJMÉNA HEMIHYDRÁT 16 α - BROMEPIANDROSTERONU

Oblast techniky

Vynález popisuje způsoby přípravy a použití steroidů, např. 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstanu-17-onu (16 α -bromepiandrosteronu, dále jen "BrEA") a jeho nová analoga. Steroidy jsou účinné při mnoha terapeutických a neterapeutických aplikacích, včetně jejich použití jako imunomodulátorů. Předložený vynález také popisuje způsoby přípravy sloučenin, přípravků a formulací.

Dosavadní stav techniky

BrEA a jeho příprava ze steroidní sloučeniny, 3 β -hydroxyandrost-5-en-17-onu (dehydroepiandrosteron nebo dále "DHEA"), již byla popsána viz např. *J. Org. Chem.* 1962 27: 2937-2938). Způsoby přípravy DHEA a dalších steroidů a jejich biologické vlastnosti již byly také popsány viz. Např. patent US č. 2833793, 2911418, 3148198, 3471480, 3976691, 4268441, 4427649, 4542129, 4666898, 4956355, 5001119, 5043165, 5077284, 5028631, 5110810, 5157031, 5162198, 5175154, 5277907, 5292730, 5296481, 5372996, 5387583, 5407684, 5424463, 546102, 5478566, 5506223, 5518725, 5527788, 5527789, 5532230, 5559107, 5562910, 5583126, 5585371, 5587369, 5591736, 5593981, 5610150, 5635496, 5641766, 5641768, 5656621, 5660835, 5686438, 5696106, 5700793, 5707983, 5709878, 5710143, 5714481, 5728688, 5736537, 5744462, 5753237, 5756488, 5776921, 5776923, 5780460, 5795880, 5798347, 5798348, 5804576, 5807848, 5807849, 5811418, 5824313, 5824668, 5824671, 5827841, 5837269, 5837700, 5843932, 5846963, 5859000, 5872114 a 5872147; německé patenty č. 2035738 a 2705917; PCT přihlášky zveřejněné pod čísly WO 95/21617, WO 97/48367, WO 98/05338, WO 98/50040, WO 98/50041, WO 98/58650; evropský patent č. 0020029; Ben David, *et al.*, *Proc. Soc. Expt. Biol. Med.* 1967 125: 1136-1140, Coleman *et al.*, *Diabetes* 1982 31: 830, Oertel, *et al.*, *J. Steroid Biochem.* 1972 3: 493-496, Pashko, *et al.*, *Carcinogenesis* 1981 2: 717-721, Schwartz *et al.*, *Nutr. Cancer* 1981 3: 46-53; Dyner *et al.*, *J. Acquired Immune Deficiency Syndromes* 1993 6: 459-465; A. A. Afanasii a Y. A. Titov, *Total Steroid Synthesis*, Plenum Press, New York, 1970, viz např. str. 1-304.

Použití DHEA a dalších steroidů při různých aplikacích, např. modulaci imunitních odpovědí, byly popsány např. v patentech US č. 5869090, 5863910, 5856340, 5824668, 5804576, 5753237, 5714481, 5709878, 5407684, 5206008, 5077284, 4978532, 4898694, 4542129, 3711606 a 3710795. V patentu US č. 4956355 a PCT přihlášce č. WO 97/48367 bylo popsáno použití BrEA a určitých steroidních sloučenin při ošetření virových a bakteriálních infekcí, např. virus lidského selhání imunity („HIV“). Byly také popsány různé biologické účinky a/nebo metabolické přeměny steroidních sloučenin, např. Batta *et al.*, *J. Biol. Chem.* 1986 25 : 127-133, Belli *et al.*, *Liver* 1991 11: 162-169, Bhattacharjee *et al.*, *Anal. Biochem.* 1992 201 : 233-236, Blake *et al.*, *Int. J. Peptide Protein Res.* 1982 20:97-101, 1986 25: 127-133, Bonaventura, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1978 131: 403-409, Bucala *et al.*, *J. Steroid Biochem.* 1986 25: 127-133, Carey *et al.*, *Biochem.* 1981 20: 3637-3648, Chen *et al.*, *Carcinogenesis* 1999 20: 249-254, Chen *et al.*, *Carcinogenesis* 1998 19: 2187-2193, Chow *et al.*, *Antisense Res. Dev.* 1994 4: 81-86, Citro *et al.*, *Dis. Colon Rectum* 1994 37 (2 Suppl): S127-S132, Cleary, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1991 196: 8-16, Cleary, *Int. J. Biochem.* 1990 22: 205-210, Crawford *et al.*, *Lab. Invest.* 1994 71: 42-51, Danenberg *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.* 1992 36: 2275-2279, Dotzlaw *et al.*, *Cancer Res.* 1999 59: 529-532, Falany *et al.*, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 1994 48: 369-375, Faredin *et al.*, *J. Investigative Dermatol.* 1969 52: 357-361, Galigniana *et al.*, *Mol. Pharmacol.* 1999 55: 317-323, Goto *et al.*, *J. Chromatogr.* 1983 276: 289-300, Grenot *Biochem.* 1992 31: 7609-7621, Hofbauer *et al.*, *Life Sci.* 1999 64: 671-679, Huijghebaert *et al.*, *J. Lipid Res.* 1986 27: 742-752, Hurd *et al.*, *Oncogene* 1999 18: 1067-1072, Iida *et al.*, *J. Lipid Res.* 1995 36: 628-638, Jellinck *et al.*, *Steroids* 1967 10: 329-346, Jonsson *et al.*, *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1995 20: 394-402, Kalimi *et al.*, *Mol. Cell. Biochem.* 1994 131: 99-108, Kramer *et al.*, *J. Biol. Chem.* 1994 269: 10621-10627, LaRochelle *et al.*, *Steroids* 1984 43: 209-217, Liao *et al.*, *Carcinogenesis* 1998 19: 2173-2180, Lillienau *et al.*, *J. Clin. Invest.* 1992 89: 420-431, Loria, *Psychoneuroendocrinology* 1997 22: S103-S108, Luscher *et al.*, *Mol. Immunol.* 1983 20: 1099-1105, Manna *et al.*, *J. Biol. Chem.* 1999 274: 5909-5918, Marschall *et al.*, *J. Biol. Chem.* 1989 264: 12989-12993, Medh *et al.*, *Cancer Res.* 1998 15: 3684-3693, Mohan *et al.*, *Steroids* 1992 57: 244-247, Munoz de Toro *et al.*, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 1998 67: 333-339, Padgett *et al.*, *J. Neuroimmunol.* 1998 84: 61, Padgett Padgett *et al.*, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1995 774: 323, Padgett *et al.*, *J. Immunol.* 1994 153: 1544-1552, Pashko *et al.*, *Carcinogenesis* 1984 5 : 463-466, Pashko *et al.*, *Carcinogenesis* 1981 2: 717, Petrylak *et*

al., *J. Clin. Oncology* 1999 17: 958-967, Podesta *et al.*, *Steroids* 1996 61: 622-626, Regelson *et al.*, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1994 719: 564, Schmassmann *et al.*, *Gastroenterology* 1993 104: 1171-1181, Schmassmann *et al.*, *Hepatology* 1990 11: 989-996, Schreiber *et al.*, *Lancet* 353: 459-461, Schreiber, *Neth. J. Med.* 1998 53: S24-31, Schwartz *et al.*, *Cancer Res.* 1988 48: 4817, Shahidi *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999 254: 559-565, Steer *et al.*, *Ann. Rheum. Dis.* 1998 57: 732-737, Suzuki *et al.*, *Steroids* 1998 63: 672-677, Suzuki *et al.*, *Steroids* 1996 61: 296-301, Swaan *et al.*, *Bioconjugate Chem.* 1997 8: 520-525, Tang *et al.*, *Anticancer Drug Res.* 1998 13: 815-824, Thomas *et al.*, *J. Steroid Biochem.* 1986 25: 103-108, Utsumi *et al.*, *Cancer Res.* 1999 59 : 377-381, Vanden Heuvel, *J. Nutr.* 1999 129 (2S Suppl.) : 575S-580S, Wang *et al.*, *Endocrinology* 1998 139: 3903-3912, Wong *et al.*, *J. Biol. Chem.* 1999 274: 5443-5453, Xie *et al.*, *Endocrinology* 1999 140: 219-227, Yen *et al.*, *Lipids* 1977 12 : 409-413, Zackheim *et al.*, *Arch. Dermatology* 1998 134: 949-954, Zhang *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta* 1991 1096: 179-186, Zhu *et al.*, *Carcinogenesis* 1988 19: 2101-2106.

Přípravky obsahující BrEA, které byly používány k podání sloučeniny do buněk nebo buněčných extraktů, obvykle obsahovaly podstatné množství vody. Tyto přípravky obsahovaly rozpouštědla, např. dioxan nebo dimethylsulfoxid („DMSO“), která obsahovala vodu nebo vodné roztoky cyklodextrinu k usnadnění přenosu sloučeniny do buněk, viz např. *J. Pharmacol Exp. Ther.* 1998,285: 876-83, *Cancer Res.* 1986 46: 3389-95, *Carcinogenesis* 1985 6: 333-35, *Carcinogenesis* 1981 2: 717-721, *Carcinogenesis* 1981 2: 683-86. Tyto přípravky jsou typicky aplikovány do zvířecích subjektů injekcí nebo do buněk v tkáňových kulturách přidání do média s buněčnou kulturou. Evropská patentová přihláška EP 429 187 popisuje formulace, které obsahují DHEA nebo BrEA a polyvinylpyrrolidon a zesíťovaný polyvinylpyrrolidon. Některé z těchto přípravků mohou mít nežádoucí nebo suboptimální vlastnosti. Například obecně nejsou žádoucí rozpouštědla, např. dioxan, DMSO nebo chloroform, nebo vhodné parenterální pomocné látky, zejména při humánním použití. Formulace, které obsahují BrEA nebo příbuzné steroidy, a jenž mají zlepšené vlastnosti, např. nižší toxicitu, zlepšenou chemickou stabilitu nebo požadované charakteristiky pro použití ve větším měřítku, jsou velmi potřebné.

Savčí imunitní odpovědi na infekce nebo jiné stavy jsou často charakteristické svými odpověďmi, které jsou zprostředkované různými populacemi efektorových buněk. V některých případech, pomocné T buňky označované Th1 u myši, podporují imunitní efektorové funkce, které jsou typicky regulovány odpověďmi zprostředkovanými buňkami.

V dalších případech pomocné T buňky označované Th2 podporují imunitní efektorové funkce, které jsou typicky regulovány humorálními odpověďmi. Intenzivní Th1 odpovědi jsou obvykle potřebné kvůli likvidaci infekcí nebo k zpomalení progresu infekce. Pokud jsou imunitní odpovědi subjektu ovlivněny nebo regulovány odpověďmi typu Th2, mají cytokiny související s Th2 odpověďmi tendenci potlačit schopnosti imunitního systému a ve stejný čas zvýšit Th1 odpovědi. V zásadě je možná také obměna. Pokud odpovědi savčího imunitního systému začnou vedou ke zvyšování Th2 odpovědí, mají Th1 odpovědi na stejný stav tendenci slábnout. Slabé Th1 odpovědi mohou souviset s progresí některých infekcí nebo jiných stavů, viz M. Clerici a G. M. Shearer, *Immunol. Today* 14: 107-111, 1993; M. Clerici a G. M. Shearer, *Immunol. Today* 15: 575-581, 1994.

Podstata vynálezu

Přípravky, formulace nebo způsoby podle vynálezu zahrnují jeden nebo více z následujících předmětů.

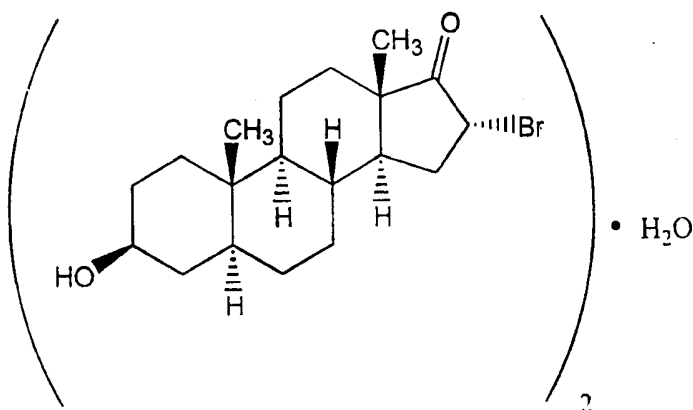
V rámci jednoho předmětu předloženého vynálezu jsou popisovány nové steroidní sloučeniny nebo analoga, která jsou vhodná pro terapeutické a jiné aplikace, např. použití jako imunomodulátorů. Předměty předloženého vynálezu dále zahrnují hemihydrát BrEA ($\text{BrEA} \cdot \text{H}_2\text{O}$), přípravky, které obsahují hemihydrát BrEA, a způsoby jejich přípravy a použití. Další předmět předloženého vynálezu zahrnuje tekuté přípravky a formulace, které obsahují sloučeninu(y) obecného vzorce (1) zahrnující 3 obj.% nebo méně vody. Další předmět předloženého vynálezu zahrnuje přípravky, které mohou sloužit jako meziprodukty při přípravě humánních farmaceutických a veterinárních formulací, jenž obsahují sloučeninu(y) obecného vzorce (1). Další předmět předloženého vynálezu zahrnuje intermitentní způsoby dávkování k aplikaci sloučeniny obecného vzorce (1) subjektu za účelem zvýšení Th1 imunitních odpovědí. Další předmět předloženého vynálezu zahrnuje způsoby modulace přirozené imunity nebo způsoby zvýšení Th1 imunitních odpovědí subjektu podáním sloučenin(y) obecného vzorce (1), např. BrEA, tomuto subjektu. Další předmět předloženého vynálezu zahrnuje způsoby inhibice patogenu, např. virového, replikace v subjektu, podáním sloučenin(y) obecného vzorce (1), např. BrEA, tomuto subjektu. Další předmět předloženého vynálezu zahrnuje sloučeniny obecného vzorce (1) nebo formulace použitelné k zlepšení jednoho nebo více symptomů patologického stavu souvisejícího se imunosupresí nebo s deficitem Th1 imunitních

odpovědí. Další předmět předloženého vynálezu zahrnuje způsoby přípravy a použití přípravků a formulací obsahujících sloučeninu(y) obecného vzorce (1).

Podrobný popis obrázků

Obrázek 1 je USP metodou <197> získané FTIR (Fourier transform infrared) spektrum hemihydrátu BrEA, který se připraví precipitací BrEA ze směsi ethanolu a vody. Obrázek 2 je USP metodou <197> získané FTIR spektrum bezvodého BrEA, který se připraví precipitací BrEA z bezvodého methanolu. Obrázek 3 ukazuje DSC endotermu hemihydrátu BrEA, který se připraví precipitací BrEA ze směsi ethanolu a vody. Obrázek 4 ukazuje DSC endotermu bezvodého BrEA, který se připraví precipitací BrEA z bezvodého methanolu. Obrázek 5 je XRD (powder X-ray diffraction) spektrum hemihydrátu BrEA, který se připraví precipitací BrEA ze směsi ethanolu a vody. Obrázek 6 je USP metodou <197> získané FTIR spektrum hemihydrátu BrEA, který se připraví precipitací BrEA ze směsi acetonu a vody.

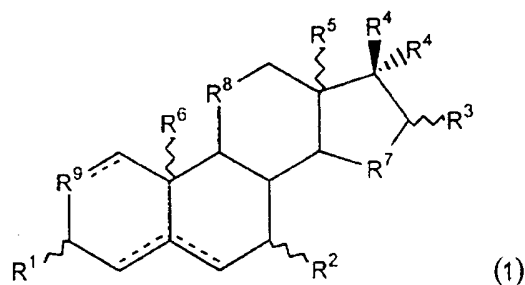
V souladu s předměty vynálezu, popisuje předložený vynález hemihydrát BrEA mající vzorec



který je případně charakterizován jednou nebo více fyzikálními vlastnostmi, např. teplotou tání, infračerveným absorpčním spektrem nebo spektrem rentgenové difrakce.

Související provedení zahrnují hemihydrát BrEA a jednu nebo více pomocných látek, které jsou vhodné pro humánní farmaceutické a veterinární použití. Další související provedení je způsob přípravy hemihydrátu BrEA zahrnující precipitaci BrEA ze směsi ethanolu a vody.

Provedení vynálezu zahrnují přípravek obsahující sloučeninu obecného vzorce (1)



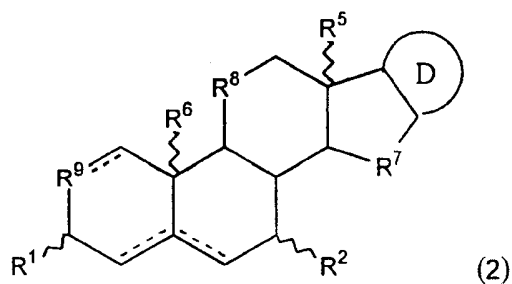
a jednu nebo více bezvodých tekutých pomocných látek, přičemž přípravek obsahuje méně než 3 obj.% vody; a kde

substituenty R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 a R^{10} jsou nezávisle atom vodíku, $-OR^{PR}$, $-SR^{PR}$, $N(R^{PR})_2$,

$-O-Si-(R^{13})_3$, $-CN$, $-NO_2$, ester, thioester, fosfoester, fosfthioester, fosfonoester, fosfiniester, sulfitester, sulfátester, amid, aminokyselina, peptid, ether, thioether, acylová skupina, thioacylová skupina, karbonát, karbamát, thioacetal, halogen, případně substituovaná alkylová skupina, případně substituovaná alkenylová skupina, případně substituovaná alkynylová skupina, případně substituovaná arylová část, případně substituovaná heteroarylová část, případně substituovaný monosacharid, případně substituovaný oligosacharid, nukleosid, nukleotid, oligonukleotid, polymer nebo

jeden nebo více ze substituentů R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} a R^{18} jsou $=O$ nebo $=S$ a atom vodíku, který je připojen na stejný atom uhlíku není přítomen, nebo

substituenty R^3 a R^4 společně vytvářejí strukturu obecného vzorce (2)



substituent R^7 je $-CHR^{10}$ -, $-CHR^{10}-CHR^{10}$ -, $-CHR^{10}-CHR^{10}-CHR^{10}$ -, $-CHR^{10}-O-CHR^{10}$ -, $-CHR^{10}-S-CHR^{10}$ -, $-CHR^{10}-NR^{PR}-CHR^{10}$ -, $-O$ -, $-O-CHR^{10}$ -, $-S$ -, $-S-CHR^{10}$ -, $-NR^{PR}$ - nebo $-NR^{PR}-CHR^{10}$;

substituenty R^8 a R^9 jsou nezávisle $-CHR^{10}$ -, $-CHR^{10}-CHR^{10}$ -, $-O$ -, $-O-CHR^{10}$ -, $-S$ -, $-S-CHR^{10}$ -, $-NR^{PR}$ - nebo $-NR^{PR}-CHR^{10}$ - nebo substituenty R^8 nebo R^9 jsou nezávisle nepřítomné za vzniku 5-ti členného kruhu;

substituent R^{13} je nezávisle C_{1-6} alkylová skupina;

substituent R^{16} je nezávisle $-CH_2-$, $-O-$, $-S-$ nebo $-NH-$;

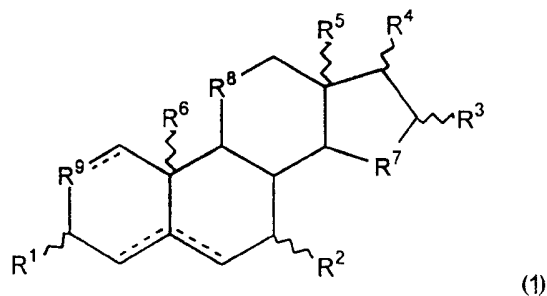
D je heterocyklická skupina nebo 4-, 5-, 6- nebo 7-členný kruh, který obsahuje nasycené atomy uhlíku, kde 1, 2 nebo 3 atomy uhlíku v 4-, 5-, 6- nebo 7-členném kruhu jsou případně nezávisle substituovány $-O-$, $-S-$ nebo $-NR^{PR}$, nebo kde 1, 2 nebo 3 atomy vodíku heterocyklické skupiny, nebo kde 1 nebo 2 atomy vodíku v 4-, 5-, 6- nebo 7-členného kruhu jsou substituovány $-OR^{PR}$, $-SR^{PR}$, $-N(R^{PR})_2$, $-O-Si-(R^{13})_3$, $-CN$, $-NO_2$, esterem, thioesterem, fosfoesterem, fosfothioesterem, fosfonoesterem, fosfiniesterem, sulfitesterem, sulfátesterem, amidem, aminokyselinou, peptidem, etherem, thioetherem, acylovou skupinou, thioacylovou skupinou, karbonátem, karbamátem, thioacetalem, halogenem, případně substituovanou alkylovou skupinou, případně substituovanou alkenylovou skupinou, případně substituovanou alkynylovou skupinou, případně substituovanou arylovou částí, případně substituovanou heteroarylovou částí, případně substituovaným monosacharidem, případně substituovaným oligosacharidem, nukleosidem, nukleotidem, oligonukleotidem, polymerem nebo

jeden nebo více z atomů uhlíku kruhu je substituován $=O$ nebo $=S$ skupinou+,

nebo D obsahuje dva 5-ti členné nebo 6-ti členné kruhy, kde kruhy jsou kondenzovány nebo jsou spojeny 1 nebo 2 vazbami.

V dalších provedeních poskytuje vynález sloučeninu obecného vzorce (1), kde 2 nebo 3 substituenty R^7 , R^8 a R^9 nejsou nezávisle $-CHR^{10}-$, kde sloučenina je případně přítomna v přípravku, který obsahuje jednu nebo více pomocných látek vhodných pro humánní farmaceutické nebo veterinární použití.

Další provedení vynálezu také zahrnují sloučeninu obecného vzorce (1)

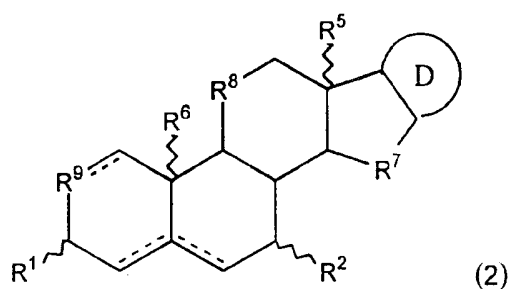


kde substituenty R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 a R^{10} jsou nezávisle atom vodíku, $-OR^{PR}$, $-SR^{PR}$, $-N(R^{PR})_2$,

$-O-Si-(R^{13})_3$, $-CN$, $-NO_2$, ester, thioester, fosfoester, fosfothioester, fosfonoester, fosfiniester, sulfitester, sulfátester, amid, aminokyselina, peptid, ether, thioether, acylová

skupina, thioacylová skupina, karbonát, karbamát, thioacetal, halogen, případně substituovaná alkylová skupina, případně substituovaná alkenylová skupina, případně substituovaná alkynylová skupina, případně substituovaná arylová část, případně substituovaná heteroarylová část, případně substituovaný monosacharid, případně substituovaný oligosacharid, nukleosid, nukleotid, oligonukleotid, polymer nebo

jeden nebo více ze substituentů R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 a R^{10} jsou nezávisle =O nebo =S skupina a atom vodíku, který je připojen na stejný atom uhlíku, není přítomen nebo substituenty R^3 a R^4 společně vytvářejí strukturu vzorce (2)



substituent R^7 je $-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{CHR}^{10}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{CHR}^{10}-\text{CHR}^{10}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{CHR}^{10}-\text{O}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{CHR}^{10}-\text{S}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{CHR}^{10}-\text{NR}^{\text{PR}}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{NR}^{\text{PR}}$ - nebo $-\text{NR}^{\text{PR}}-\text{CHR}^{10}$;

substituenty R^8 a R^9 jsou nezávisle $-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{CHR}^{10}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{NR}^{\text{PR}}$ - nebo $-\text{NR}^{\text{PR}}-\text{CHR}^{10}$ - nebo substituenty R^8 nebo R^9 jsou nezávisle nepřítomné za vzniku 5-ti členného kruhu;

substituent R^{13} je nezávisle C_{1-6} alkylová skupina;

D je heterocyklická skupina nebo 4-, 5-, 6- nebo 7-členný kruh, který obsahuje nasycené atomy uhlíku, kde 1, 2 nebo 3 atomy uhlíku v 4-, 5-, 6- nebo 7-členném kruhu jsou případně nezávisle substituovány $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ nebo $-\text{NR}^{\text{PR}}$ -, nebo kde 1, 2 nebo 3 atomy vodíku heterocyklické skupiny, nebo kde 1 nebo 2 atomy vodíku 4-, 5-, 6- nebo 7-členného kruhu jsou substituovány $-\text{OR}^{\text{PR}}$, $-\text{SR}^{\text{PR}}$, $-\text{N}(\text{R}^{\text{PR}})_2$, $-\text{O}-\text{Si}(\text{R}^{13})_3$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, esterem, thioesterem, fosfoesterem, fosfioesterem, fosfonoesterem, fosfiniesterem, sulfitesterem, sulfátesterem, amidem, aminokyselinou, peptidem, etherem, thioetherem, acylovou skupinou, thioacylovou skupinou, karbonátem, karbamátem, thioacetalem, halogenem, případně substituovanou alkylovou skupinou, případně substituovanou alkenylovou skupinou, případně substituovanou alkynylovou skupinou, případně substituovanou arylovou částí, případně substituovanou heteroarylovou částí, případně substituovaným

monosacharidem. případně substituovaným oligosacharidem, nukleosidem, nukleotidem, oligonukleotidem, polymerem nebo

jeden nebo více z atomů uhlíku kruhu je substituovány =O nebo =S skupinou,

nebo D obsahuje dva 5-ti členné nebo 6-ti členné kruhy, kde kruhy jsou kondenzovány nebo jsou spojeny 1 nebo 2 vazbami, přičemž jeden, dva nebo tři substituenty R^7 , R^8 a R^9 nejsou -CHR¹⁰-.

Další provedení zahrnují způsoby zvýšení exprese jednoho nebo více cytokinů nebo interleukinů, které podporují Th1 imunitní odpovědi subjektu, nebo způsoby redukce exprese jednoho nebo více cytokinů nebo interleukinů, které podporují Th2 imunitní odpovědi subjektu, zahrnující podání účinného množství přípravku podle nároku 32 subjektu, čímž dojde ke zvýšení Th1 imunitních odpovědí subjektu nebo k redukci nežádoucích Th2 imunitních odpovědí subjektu.

Provedení zahrnují tekuté formulace, které obsahují sloučeninu obecného vzorce (1), jednu nebo více pomocných látek a méně než 3% vody, kde formulace je případně skladována v obalech za nepřístupu vzdušné vlhkosti.

Další provedení zahrnuje způsob intermitentního podání sloučeniny obecného vzorce (1) subjektu trpícího patologickým stavem, např. infekce virem či parazitem.

Další provedení zahrnuje způsob modulace přirozené imunity subjektu, Th1 imunitních odpovědí nebo Th2 imunitních odpovědí podáním sloučeniny obecného vzorce (1) subjektu.

Další provedení jsou popsána v popisné části včetně přiložených očíslovaných provedení a patentových nároků.

Detailní popis vynálezu

Definice

Jednotlivé termíny, pokud není uvedeno jinak nebo nemá jiný specifický význam v kontextu, mají následující významy.

Termín „formulace podle vynálezu“ nebo „formulace“ znamená přípravek podle vynálezu, který může být podáván parenterálně lidským nebo zvířecím subjektům bez

jakýchkoliv dalších manipulací vedoucích ke změně přítomných složek nebo poměrů přítomných složek. Formulace jsou vhodné pro humánní nebo veterinární aplikace.

Termín „přípravek podle vynálezu“ je přípravek, který je meziproduktem a je možné ho použít k výrobě formulace podle vynálezu, tzn. k výrobě formulace je nutná změna(y) ve složky (složek) nebo jeho (jejich) množství. Tudíž přípravky podle vynálezu zahrnují přípravky, u kterých je nutné další zpracování než se stanou formulací, např. smíchání nebo přidáním požadovaného množství složky.

Termín „pomocná látka“ označuje komponentu nebo složku, která je přijatelná ve smyslu slučitelnosti s dalšími složkami přípravků nebo formulací podle předloženého vynálezu a není příliš škodlivá pro lidský nebo zvířecí subjekt, kterému se tato formulace podává. Termín „pomocné látky“ zahrnuje tekuté, např. benzylbenzoát, bavlníkový olej, *N,N*-dimethylacetamid, C_{2-12} alkohol (např. ethanol), glycerol, podzemnicový olej, polyethylenglykol („PEG“), vitamin E, makový olej, propylenglykol, světlicový olej, sezamový olej, sojový olej a rostlinný olej. Pomocné látky, jak jsou používány v předloženém vynálezu, případně nezahrnují chloroform, dioxan, rostlinný olej, DMSO nebo jakoukoliv kombinaci výše zmíněných. Pomocné látky obsahují jednu nebo více komponent, které se typicky používají ve farmaceutické technice, např. plniva, pojiva, desintegrátory a lubrikanty.

Termín „subjekt“ zahrnuje lidský nebo zvířecí subjekt. Obvykle jsou zvířecí subjekty obratlovci, např. primáti, hlodavci, domácí nebo divoká zvířata. Primáti zahrnují šimpanze, cynomologní opice, chápány a makaky, např. *Rhesus*. Hlodavci zahrnují myši, krysy, sviště, fretky, králíky a křečky. Domácí a divoká zvířata zahrnují krávy, koně, prasata, jeleny, bizony, buvoly, kočkovité šelmy, např. domácí kočky, psy, ptáky, slepice, emu, pštrosy a ryby, např. pstruhy, sumce a lososy. Subjekt zahrnuje jakoukoliv podskupinu z výše uvedených, např. všechny výše zmíněné, ale vylučuje jednu nebo více skupin nebo species, např. lidi, primáty nebo hlodavce.

Vyjádření, která jsou označena „sloučenina(y) obecného vzorce (1)“ nebo „sloučenina obecného vzorce (1)“, znamenají přípravky nebo formulace podle vynálezu, ve kterých je přítomna jedna nebo více než jedna sloučenina obecného vzorce (1), typicky 1, 2, 3 nebo 4, obvykle 1.

Termín „alkylová skupina“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na spojené normální, sekundární, terciární nebo cyklické atomy uhlíku, tzn. rozvětvené, nerozvětvené nebo cyklické. Počet atomů uhlíku v alkylové skupině nebo části je 1 až 20,

pokud není specifikováno jinak, např. C₁₋₈alkylová skupina znamená alkylovou část obsahující 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 nebo 8 atomů uhlíku. Příklady zahrnují methyl, ethyl, 1-propyl(*n*-propyl), 2-propyl(*i*-propyl), -CH(CH₃)₂), 1-butyl(*n*-butyl), 2-methyl-1-propyl(*i*-butyl), -CH₂CH(CH₃)₂), 2-butyl(*s*-butyl, -CH(CH₃)CH₂CH₃), 2-methyl-2-propyl(*t*-butyl, -C(CH₃)₃), 1-pentyl(*n*-pentyl), 2-pentyl(-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃), 3-pentyl(-CH(CH₂CH₃)₂), 2-methyl-2-butyl(-C(CH₃)₂CH₂CH₃), 3-methyl-2-butyl(-CH(CH₃)CH(CH₃)₂), 3-methyl-1-butyl(-CH₂CH₂CH(CH₃)₂), 2-methyl-1-butyl(-CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃), 1-hexyl, 2-hexyl(CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂CH₃), 3-hexyl(-CH(CH₂CH₃)(CH₂CH₂CH₃)), 2-methyl-2-pentyl(-C(CH₃)₂CH₂CH₂CH₃), 3-methyl-2-pentyl(-CH(CH₃)CH(CH₃)CH₂CH₃), 4-methyl-2-pentyl(-CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)₂), 3-methyl-3-pentyl(-C(CH₃)(CH₂CH₃)₂), 2-methyl-3-pentyl(CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)₂), 2,3-dimethyl-2-butyl(-C(CH₃)₂CH(CH₃)₂), 3,3-dimethyl-2-butyl(CH(CH₃)C(CH₃)₃), cyklopropyl, cyklobutyl, cyklopentyl a cyklohexyl.

Termín „alkenylová skupina“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na spojené normální, sekundární, terciární nebo cyklické atomy uhlíku, ve kterých je přítomna jedna nebo více dvojných vazeb (např. -CH=CH-), typicky 1, 2 nebo 3, obvykle 1 nebo 2. Počet atomů uhlíku v alkenylové skupině nebo části je 2 až 20, pokud není specifikováno jinak, např. C₁₋₈alkenylová skupina znamená alkenylovou část obsahující 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 nebo 8 atomů uhlíku.

Termín „alkynylová skupina“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na spojené normální, sekundární, terciární nebo cyklické atomy uhlíku, ve kterých je přítomna jedna nebo více trojných vazeb (např. -CH≡CH-), typicky 1, 2 nebo 3, obvykle 1. Počet atomů uhlíku v alkynylové skupině nebo části je 2 až 20, pokud není specifikováno jinak, např. C₁₋₈alkynylová skupina znamená alkynylovou část obsahující 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 nebo 8 atomů uhlíku.

Termín „arylová skupina“ znamená fenylovou nebo naftylovou skupinu.

Termín „substituovaná alkylová skupina“, „substituovaná alkenylová skupina“ nebo „substituovaná alkynylová skupina“ znamená alkylovou, alkenylovou nebo alkynylovou skupinu, která obsahuje substituent(y) připojené na atom uhlíku nebo substituent(y), které přerušují řetězec atomů uhlíku. Substituenty zahrnují ethery (-O-), ketony (-C(O)-), OR^{PR}, -C(O)OR^{PR}, -C(O)O-, -C(S)OR^{PR}, -C(S)O-, -OC(O)-, -C(O)H, -OCH₂-, OCH₂CH₂-, -OCH₂O-, -OCH₂CH₂O-,

-NR^{PR}-, -N(R^{PR})₂-, -NHR^{PR}-, -NHC(O)-, -CH₂NR^{PR}-, -CH₂-NHR^{PR}-, -CH₂-NHC(O)-, -C(O)NH-, -C(O)NHR^{PR}-, -OC(O)NR^{PR}-, -OC(O)NHR^{PR}-, -NR^{PR}C(O)NR^{PR}-, -NR^{PR}C(O)NHR^{PR}-, -NR^{PR}CH₂-, -NR^{PR}CH₂CH₂-, -S-, -SR^{PR}-, -S(O)-, -S(O)(O)-, -S(O)OR^{PR}-, -S(O)H-, -CN-, -NO₂-, halogen a kombinace výše uvedených částí, kde substituent R^{PR} je nezávisle atom vodíku, chránicí skupina nebo oba substituenty R^{PR} dohromady jsou chránicí skupina. Pokud je přítomen více než jeden substituent, jsou substituenty nezávisle vybrány. Alkenylové a alkynylové skupiny, které obsahují substituent(y), jsou typicky substituovány na atomu uhlíku, který je jednou nebo více methylenovými částmi oddělenými od dvojné vazby, např. oddělená alespoň jednou, dvěma nebo více částmi -CH₂-.

Termín „heterocyklická skupina“ nebo „heterocyklická skupina“ zahrnuje např., ale není to nikterak limitováno, heterocyklické skupiny uvedené v knize: Paquette, Leo A.; "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W. A. Benjamin, New York, 1968), zejména kapitoly 1, 3, 4, 6, 7, a 9; "The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, New York, 1950 to present), zejména díly 13, 14, 16, 19, a 28; a *J. Am. Chem. Soc.* 1960, 82:5566.

Příklady heterocyklických skupin zahrnují, ale není to nikterak limitováno, pyridyl, thiazolyl, tetrahydrothiofenyl, tetrahydrothiofenyl oxidovaný sírou, pyrimidinyl, furanyl, thienyl, pyrrolyl, pyrazolyl, imidazolyl, tetrazolyl, benzofuranyl, thianafalenyl, indolyl, indolenyl, chinoliny, izochinoliny, benzimidazolyl, piperidiny, 4-piperidonyl, pyrrolidiny,

2-pyrrolidonyl, pyrroliny, tetrahydrofuranyl, tetrahydrochinoliny, tetrahydroizochinoliny, dekahydrochinoliny, oktahydroizochinoliny, azociny, triaziny, 6*H*-1,2,5-thiadiaziny, 2*H*,6*H*-1,5,2-dithiaziny, thienyl, thianthrenyl, pyranyl, izobenzofuranyl, chromenyl, xanthenyl, fenoxathiiny, 2*H*-pyrrolyl, izothiazolyl, izoxazolyl, pyraziny, pyridaziny, indoliziny, izoindolyl, 3*H*-indolyl, 1*H*-indazolyl, puriny, 4*H*-chinoliziny, ftalaziny, naftyridiny, chinoxaliny, chinazoliny, cinnoliny, pteridiny, 4*aH*-karbazoly, karbazoly, β-karboliny, fenantridiny, akridiny, pyrimidiny, fenanthroliny, fenaziny, fenothiaziny, furazany, fenoxaziny, izochromany, chromany, imidazolidiny, imidazoliny, pyrazolidiny, pyrazoliny, piperaziny, indoliny, izoindoliny, chinuklidiny, morfoliny, oxazolidiny, benzotriazolyl, benzizoxazolyl, oxindolyl, benzoxazoliny a isatinoyl.

Příklady heterocyklických skupin, které jsou připojeny přes atom uhlíku, jsou navázány do polohy 2, 3, 4, 5 nebo 6 pyridinu, do polohy 3, 4, 5 nebo 6 pyridazinu, do polohy 2, 4, 5 nebo 6 pyrimidinu, do polohy 2, 3, 5 nebo 6 pyrazinu, do polohy 2, 3, 4 nebo 5 furanu, tetrahydrofuranu, thiofuranu, thiofenu, pyrrolu nebo tetrahydropyrrolu, do polohy 2, 4 nebo 5 oxazolu, imidazolu nebo thiazolu, do polohy 3, 4 nebo 5 izoxazolu, pyrazolu nebo izothiazolu, do polohy 2 nebo 3 aziridinu, do polohy 2, 3 nebo 4 azetidinu, do polohy 2, 3, 4, 5, 6, 7 nebo 8 chinolinu nebo do polohy 1, 3, 4, 5, 6, 7 nebo 8 izochinolinu. Dále mezi typičtější heterocyklické skupiny, které jsou připojeny přes atom uhlíku, patří 2-pyridyl, 3-pyridyl, 4-pyridyl, 5-pyridyl, 6-pyridyl, 3pyridaziny, 4-pyridaziny, 5-pyridaziny, 6-pyridaziny, 2-pyrimidiny, 4-pyrimidiny, 5-pyrimidiny, 6-pyrimidiny, 2-pyraziny, 3-pyraziny, 5-pyraziny, 6-pyraziny, 2-thiazoly, 4-thiazoly nebo 5-thiazoly.

Příklady heterocyklických skupin, které jsou připojeny přes atom dusíku, jsou navázány do polohy 1 aziridinu, azetidinu, pyrrolu, pyrrolidinu, 2-pyrrolinu, 3-pyrrolinu, imidazolu, imidazolidinu, 2-imidazolinu, 3-imidazolinu, pyrazolu, pyrazolinu, 2-pyrazolinu, 3-pyrazolinu, piperidinu, piperazinu, indolu, indolinu, 1*H*-indazolu, do polohy 2 izoindolu nebo izoindolinu, do polohy 4 morfolinu, do polohy 9 karbazolu nebo β -karbolinu. Dále mezi typické heterocyklické skupiny, které jsou připojeny přes atom dusíku, patří 1-aziridyl, 1-azetidyl, 1-pyrrolyl, 1imidazolyl, 1-pyrazolyl a 1-piperidinyl.

Termín „heteroarylová skupina“ znamená aromatický kruh nebo dva nebo více kondenzovaných kruhů, které obsahují jeden nebo více aromatických kruhů, kde kruh nebo kondenzované kruhy obsahují 1, 2, 3 nebo více heteroatomů, obvykle atom kyslíku (-O-), dusíku (-NX-) nebo síry (-S-), kde X je atom vodíku chránicí skupina nebo C_{1-6} alkylová skupina, obvykle -H. Příklady jsou popsány pro heterocyklické skupiny.

Termín „alkohol“, jak je používán v předloženém vynálezu, obvykle v souvislosti s pomocnými látkami, se vztahuje na alkohol, který obsahuje C_{2-12} alkylovou část substituovanou v poloze atomu vodíku jednou hydroxylovou skupinou. Příklady alkoholů zahrnují ethanol, *n*-propanol, *i*-propanol, *n*-butanol, *i*-butanol, *s*-butanol, *t*-butanol, *n*-pentanol, *i*-pentanol, *n*-hexanol, cyklohexanol, *n*-heptanol, *n*-oktanol, *n*-nonanol a *n*-dekanol. Řetězec atomů uhlíku v alkoholech může být rozvětvený, nerozvětvený nebo cyklický. Alkoholy zahrnují jakoukoliv podskupinu výše zmíněných, např. C_{2-4} alkoholy (alkoholy mající 2, 3 nebo 4 atomy uhlíku).

Termín „halogen“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na fluor, chlor, brom nebo jod.

Termín „chránicí skupina“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na část, která chrání atom, na který je připojena, před nežádoucími reakcemi. Například u skupiny $-OR^{PR}$, může být R^{PR} , atom vodíku nebo chránicí skupina pro atom kyslíku, zatímco pro skupinu $-C(O)-OR^{PR}$, může být R^{PR} atom vodíku nebo karboxyl chránicí skupina, pro skupinu $-SR^{PR}$, může být R^{PR} atom vodíku nebo chránicí skupina pro síru např. v thiolech, a pro skupinu $-NHR^{PR}$ nebo $-N(R^{PR})_2$, může být R^{PR} atom vodíku nebo skupina chránící atom dusíku pro primární nebo sekundární aminy. Hydroxylové, aminové a další reaktivní skupiny se mohou nacházet ve sloučeninách obecného vzorce (1), např. v poloze substituentu R^1 nebo R^2 . Tyto skupiny mohou vyžadovat chránění proti nežádoucím reakcím, které mohou nastat kdekoli v molekule. Skupiny chránící atom kyslíku, síry nebo dusíku jsou obvykle používány při chránění proti nežádoucím reakcím s elektrofilními sloučeninami, např. při acylačních reakcích v steroidní chemii.

Termín „ester“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na část, která obsahuje skupinu $-C(O)-O-$. Typicky obsahují estery, které jsou používány v předloženém vynálezu, organickou část mající 1-50 atomů uhlíku (např. 2-20 atomů uhlíku) a 0-10 nezávisle vybraných heteroatomů (např. O, S, N, P, Si) připojenou na steroidní jádro obecného vzorce (1) např. v poloze substituentu R^1 nebo R^2 přes skupinu $-C(O)-O-$, např. organická část $-C(O)-O$ -steroid nebo steroid- $O-C(O)$ -organická část. Organická část obvykle obsahuje jednu nebo více jakýchkoliv z výše popsaných organických skupin, např. C_{1-20} alkylové části, C_{2-20} alkenylové části, C_{2-20} alkynylové části, arylové části, C_{2-9} heterocyklické části nebo jakékoliv jejich substituované deriváty, např. obsahující 1, 2, 3, 4 nebo více substituentů, přičemž každý ze substituentů je nezávisle vybrán. Typické substituce atomu vodíku nebo atomů uhlíku v těchto organických skupinách zahrnují 1, 2, 3, 4 nebo více substitucí, obvykle 1, 2 nebo 3 substituce skupinami vybranými z $-O-$, $-S-$, $-NR^{PR}-$ (včetně $-NH-$), $-C(O)-$, $=O$, $=S$, $-N(R^{PR})_2$ (včetně $-NH_2$), $-C(O)OR^{PR}$ (včetně $-C(O)OH$), $-OC(O)R^{PR}$ (včetně $-O-C(O)-H$), $-OR^{PR}$ (včetně $-OH$), $-SR^{PR}$ (včetně $-SH$), $-NO_2$, $-CN$, $-NHC(O)-$, $-C(O)NH-$, $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-O-A8$, $-S-A8$, $-C(O)-A8$, $-OC(O)-A8$, $-C(O)O-A8$, $=N-$, $-N=$, $=N-OH$, $-OPO_3(R^{PR})_2$, $-OSO_3H_2$ nebo halogenové části nebo atomy, kde každý substituent R^{PR} je atom vodíku, nezávisle vybraná chránicí skupina nebo

oba substituenty R^{PR} společně zahrnují chránicí skupinu, a A8 je C_{1-8} alkylová, C_{2-8} alkenylová, C_{2-8} alkynylová, C_{1-4} alkyl-arylová (např. benzyl), arylová (např. fenyl) nebo C_{0-4} alkyl- C_{2-9} heterocyklická skupina. Jednotlivé substituce jsou nezávisle vybrány. Organická část zahrnuje sloučeniny definované pro substituent R^4 . Mezi organické části nepatří zřetelně nestabilní části, např. $-O-O-$, kromě míst, kde jsou tyto nestabilní části tranzitní species, které mohou být používány k přípravě sloučeniny s dostatečnou chemickou stabilitou pro jednu nebo více popisovaných aplikací předloženého vynálezu. Substituce uvedené výše jsou typicky substituenty, které lze použít k odstranění jednoho nebo více atomů uhlíku, např. $-O-$ nebo $-C(O)-$ nebo jednoho nebo více atomů vodíku, např. halogenu, $-NH_2$ nebo $-OH$ skupiny.

Termín „thioester“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na část, která obsahuje skupinu $-C(S)-O-$. Typicky thioestery, které jsou používány v předloženém vynálezu, obsahují organickou část mající 1-50 atomů uhlíku (např. 2-20 atomů uhlíku) a 0-10 nezávisle vybraných heteroatomů (např. O, S, N, P, Si) připojenou na steroidní jádro obecného vzorce (1) např. v poloze substituentu R^2 přes skupinu $-C(S)-O-$, např. organická část- $C(S)-O$ -steroid nebo organická část- $O-C(S)$ -steroid. Organická část je popsána výše u esterů.

Termín „thioacetal“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na část, která obsahuje skupinu $-C(O)-S-$. Typicky thioacetal, které jsou používány v předloženém vynálezu, obsahují organickou část mající 1-50 atomů uhlíku (např. 2-20 atomů uhlíku) a 0-10 heteroatomů (např. O, S, N, P, Si) připojenou na steroidní jádro obecného vzorce (1) např. v poloze substituentu R^2 přes skupinu $-C(O)-S-$, např. organická část- $C(O)-S$ -steroid nebo organická část- $S-C(O)$ -steroid. Organická část je popsána výše u esterů.

Termín „fosfoester“ nebo „ester fosfátu“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na část, která obsahuje skupinu $-O-P(OR^{PR})(O)-O-$, kde substituent R^{PR} je atom vodíku ($-H$), chránicí skupina nebo organická část popsanou výše u esterů. Typicky fosfoestery, které jsou používány v předloženém vynálezu, obsahují atom vodíku, chránicí skupinu nebo organickou část mající 1-50 atomů uhlíku a 0-10 heteroatomů (např. O, S, N, P, Si) připojenou na steroidní jádro obecného vzorce (1) v poloze substituentu R^1-R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} nebo R^{18} přes skupinu $-O-P(O)(O)-O-$, např. organická část- $O-P(O)(O)-O$ -steroid. Organická část je popsána výše u esterů.

Termín „fosfthioester“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na část, která obsahuje skupinu $-O-P(OSR^{PR})(O)-O-$, kde substituent R^{PR} je atom vodíku (-H), chránicí skupina nebo organická část popsanou výše u esterů. Typicky fosfthioestery, které jsou používány v předloženém vynálezu, obsahují atom vodíku, chránicí skupinu nebo organickou část mající 1-50 atomů uhlíku a 0-10 heteroatomů (např. O, S, N, P, Si) připojenou na steroidní jádro obecného vzorce (1) např. v poloze substituentu R^1-R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} nebo R^{18} přes skupinu $-O-P(O)(O)-O-$, např. organická část $-O-P(O)(SH)-O-$ steroid. Organická část je popsána výše u esterů.

Termín „fosfonoester“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na část, která obsahuje skupinu $-P(OR^{PR})(O)-O-$, kde substituent R^{PR} je atom vodíku (-H), chránicí skupina nebo organická část popsanou výše u esterů. Typicky fosfonoestery, které jsou používány v předloženém vynálezu, obsahují atom vodíku, chránicí skupinu nebo organickou část mající 1-50 atomů uhlíku a 0-10 heteroatomů (např. O, S, N, P, Si) připojenou na steroidní jádro obecného vzorce (1) v poloze substituentu R^1-R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} nebo R^{18} přes skupinu $-P(OR^{PR})(O)-O-$, tzn. organická část $-O-P(OR^{PR})(O)-O-$ steroid nebo steroid $-O-P(OR^{PR})(O)-O-$ organická část. Organická část je popsána výše u esterů.

Termín „fosfiniester“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na část, která obsahuje skupinu $-P(OR^{PR})-O-$, kde substituent R^{PR} je atom vodíku (-H), chránicí skupina nebo organická část popsanou výše u esterů. Typicky fosfiniestery, které jsou používány v předloženém vynálezu, obsahují atom vodíku, chránicí skupinu nebo organickou část mající 1-50 atomů uhlíku a 0-10 heteroatomů (např. O, S, N, P, Si) připojenou na steroidní jádro obecného vzorce (1) v poloze substituentu R^1-R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} nebo R^{18} přes skupinu $-P(OR^{PR})-O-$, tzn. organická část $-P(OR^{PR})-O-$ steroid nebo steroid $-P(OR^{PR})-O-$ organická část. Organická část je popsána výše u esterů.

Termín „sulfátester“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na část, která obsahuje skupinu $-O-S(O)(O)-O-$. Typicky sulfátestery, které jsou používány v předloženém vynálezu, obsahují atom vodíku, chránicí skupinu nebo organickou část mající 1-50 atomů uhlíku a 0-10 heteroatomů (např. O, S, N, P, Si) připojenou na steroidní jádro obecného vzorce (1) v poloze substituentu R^1-R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} nebo R^{18} přes skupinu $-O-S(O)(O)-O-$, např. organická část $-O-S(O)(O)-O-$ steroid. Organická část je popsána výše u esterů.

Termín „sulfitester“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na část, která obsahuje skupinu $-O-S(O)-O-$. Typicky sulfitestery, které jsou používány v

předloženém vynálezu, obsahují organickou část mající 1-50 atomů uhlíku a 0-10 heteroatomů (např. O, S, N, P, Si) připojenou na steroidní jádro obecného vzorce (1) v poloze substituentu R^1 - R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} nebo R^{18} přes skupinu -O-S(O)-O-, např. organická část-O-S(O)-O-steroid. Organická část je popsána výše u esterů.

Termín „thioacetal“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na část, která obsahuje skupinu -SC(O)-. Typicky thioacetalové skupiny, které jsou používány v předloženém vynálezu, obsahují organickou část mající 1-50 atomů uhlíku a 0-10 heteroatomů (např. O, S, N, P, Si) připojenou na steroidní jádro obecného vzorce (1) v poloze substituentu R^1 - R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} nebo R^{18} přes skupinu -SC(O)-, např. organická část-SC(O)-O-steroid nebo steroid-SC(O)-O-organická část. Organická část je popsána výše u esterů.

Termín "amid" se vztahuje na organickou část, která je definována výše u esteru a obsahuje 1, 2, 3, 4 nebo více -C(O)-NR^{PR}- částí, obvykle 1 nebo 2, kde substituent R^{PR} je atom vodíku nebo a chránicí skupina, substituent R^{PR} je obvykle atom vodíku, v některých provedeních je skupina -C(O)NHR^{PR}- připojena na steroidní jádro v poloze substituentu R^1 - R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} nebo R^{18} , tzn. organická část-C(O)NR^{PR}-steroid nebo steroid-C(O)NR^{PR}-organická část.

Termín "ether" se vztahuje na organickou část, která je definována výše u esterů a obsahuje 1, 2, 3, 4 nebo více nebo více skupin -O-, obvykle 1 nebo 2, v některých provedeních je skupina -O- připojena na steroidní jádro v poloze substituentu R^1 - R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} nebo R^{18} , např. organická část-O-steroid.

Termín "thioether" se vztahuje na organickou část, která je popsána výše u esteru a obsahuje 1, 2, 3, 4 nebo více částí -S-, obvykle 1 nebo 2. V některých provedeních je skupina -S- připojena na steroidní jádro v poloze substituentu R^1 - R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} nebo R^{18} , např. organická část-S-steroid.

Termín "acylová skupina" se vztahuje na organickou část, která je popsána výše u esteru a obsahuje 1, 2, 3, 4 nebo více částí -C(O)-. V některých provedeních je skupina -C(O)- připojena na steroidní jádro v poloze substituentu R^1 - R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} nebo R^{18} , např. organická část-C(O)-steroid.

Termín "thioacylová skupina" se vztahuje na organickou část, která je popsána výše u esteru a obsahuje 1, 2, 3, 4 nebo více skupin -C(S)-. V některých provedeních je skupina -C(S)- připojena na steroidní jádro v poloze substituentu R^1 - R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} nebo R^{18} , např. organická část-C(S)-steroid.

Termín "karbonát" se vztahuje na organickou část, která je popsána výše u esteru a obsahuje 1, 2, 3, 4 nebo více skupin $-O-C(O)-O-$. Typicky karbonátové skupiny, které jsou používány v předloženém vynálezu, obsahují organickou část mající 1-50 atomů uhlíku a 0-10 heteroatomů (např. O, S, N, P, Si) připojenou na steroidní jádro obecného vzorce (1) v poloze substituentu R^1-R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} nebo R^{18} přes skupinu $-O-C(O)-O-$, např. organická část- $O-C(O)-O$ -steroid.

Termín "karbamát" se vztahuje na organickou část, která je popsána výše u esteru a obsahuje 1, 2, 3, 4 nebo více skupin $-O-C(O)NR^{PR}$, kde substituent R^{PR} je atom vodíku, chránicí skupina nebo organická část popsána výše u esteru. Typicky karbonátové skupiny, které jsou používány v předloženém vynálezu, obsahují organickou část mající 1-50 atomů uhlíku a 0-10 heteroatomů (např. O, S, N, P, Si) připojenou na steroidní jádro obecného vzorce (1) v poloze substituentu R^1-R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} nebo R^{18} přes skupinu $-O-C(O)NR^{PR}$, např. organická část- $O-C(O)NR^{PR}$ -steroid nebo steroid- $O-C(O)NR^{PR}$ -organická část.

Termín „monosacharid“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na polyhydroxyaldehyd nebo polyhydroxyketon mající stechiometrický vzorec $(CH_2O)_n$, kde index n je 3, 4, 5, 6 nebo 7. Monosacharidy zahrnují otevřené a zavřené formy řetězce, nicméně obvykle budou zavřené formy řetězce, a hexofuranosy a pentofuranosy, např. 2'-deoxyribosu, ribosu, arabinosu, xylosu, jejich 2'-deoxy a 3'-deoxy deriváty a jejich 2', 3'-dideoxy deriváty. Monosaccharidy také zahrnují 2', 3' dideoxydidehydro derivát ribosy. Monosacharidy dále zahrnují D-, L- a DL-izomery glukosy, fruktosy, mannosy, idosy, galaktosy, allosy, gulosy, altrosy, talosy, fukosy, erythrosy, threosy, lyxosy, erythrulose, ribulose, xylulose, ribosy, arabinosy, xylosy, psikosy, sorbosy, tagatosy, glycerinaldehydu, dihydroxyacetonu a jejich monodeoxy deriváty, např. rhamnosy. Monosaccharidy jsou případně chráněné nebo částečně chráněné.

Případně substituovaná alkylová skupina, případně substituovaná alkenylová skupina, případně substituovaná alkynylová skupina, případně substituovaná arylová část a případně substituovaná heterocyklická skupina znamená substituce, které zahrnují C_{1-20} alkylové části, C_{2-20} alkenylové části, C_{2-20} alkynylové části, arylové části, C_{2-9} heterocyklické část nebo jakékoli jejich substituované deriváty. Typické substituce pro tyto organické skupiny zahrnují 1, 2, 3, 4 nebo více substitucí, obvykle 1 nebo 2 substituce vybrané z $-O-$, $-S-$, $-NR^{PR}-$, $-C(O)-$, $-N(R^{PR})_2-$, $-C(O)OR^{PR}$, $-OC(O)R^{PR}$, $-OR^{PR}$, $-SR^{PR}$, $-NO_2$, $-CN$, $-NHC(O)-$, $-C(O)NH-$, $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-O-A8$, $-S-A8$, $-C(O)-A8$, $-OC(O)-A8$, $-C(O)O-A8$, $=N-$, $-N=$, $-OPO_2(R^{PR})$, $-OSO_3H$ nebo halogenové části nebo

atomy, kde každý substituent R^{PR} je nezávisle atom vodíku, vybraná chránicí skupina nebo oba substituenty R^{PR} společně vytvářejí chránicí skupinu, a A8 je C_{1-8} alkylová, C_{1-8} alkenylová, C_{1-8} alkynylová, C_{1-4} alkyl-arylová (např. benzyl), arylová (např. fenylová) nebo C_{1-4} alkyl- C_{1-5} heterocyklická skupina. Jednotlivé substituce jsou nezávisle vybrány. Organické části popsané v předloženém vynálezu a pro jakékoliv jiné části popsané v předloženém vynálezu, platí vyloučení použít zřetelně nestabilní části, např. $-O-O-$, kromě míst, kde jsou např. nestabilní části tranzitní částice, které mohou být používány k přípravě sloučeniny s dostatečnou chemickou stabilitou pro jednu nebo více zde popisovaných aplikací.

Případně substituovaný „monosacharid“ obsahuje jakýkoliv C_{3-7} cukr, D-, L- nebo DL-konfigurace, např. erythrosa, glycerol, ribosa, deoxyribosa, arabinosa, glukosa, manna, galaktosa, fukosa, manna, glukosamin, *N*-acetyleneuraminová kyselina, *N*-acetylglukosamin, *N*-acetylgalaktosamin, který je případně substituovaný jednou nebo více hydroxylovými skupinami. Vhodné substituce zahrnují atom vodíku, chráněnou hydroxylovou, karboxylovou, azido, kyano skupinu, $-O-C_{1-6}$ alkylovou, $-S-C_{1-6}$ alkylovou, $-O-C_{2-6}$ alkenylovou, $-S-C_{2-6}$ alkenylovou skupinou, případně chráněný amin, případně chráněnou karboxylovou skupinu, halogen, thiolovou nebo chráněnou thiolovou skupinu. Vazba mezi monosacharidem a steroidem může být α nebo β .

Případně substituovaný „oligosacharid“ obsahuje 2, 3, 4 nebo více jakýchkoliv C_{3-7} cukrů, které jsou kovalentně vázány jeden na druhého. Jednotlivé spojené cukry mohou mít D-, L- nebo DL-konfigurace. Vhodné cukry a substituce těchto cukrů jsou uvedeny pro monosacharidy. Vazba mezi oligosacharidem a steroidem může být α nebo β stejně tak jako vazby mezi monosacharidovými jednotkami oligosacharidů.

Nukleosid zahrnuje 3TC, AZT, D4T, ddI, ddC, G, A, U, C, T, dG, dA, dT a dC.

Polymer zahrnuje biologicky kompatibilní organické polymery, např. PEG a polyhydroxyalkylpolymery.

Zkratka PEG znamená polymer na bázi ethylenglykolu, který obsahuje 20-2000000 spojených monomerů, typicky 50-1000 spojených monomerů, obvykle 100-300. Polyethylenglykoly zahrnují PEG obsahující různý počet spojených monomerů, např. PEG20, PEG30, PEG40, PEG60, PEG80, PEG100, PEG115, PEG 200, PEG 300, PEG400, PEG500, PEG600, PEG1000, PEG1500, PEG2000, PEG3350, PEG4000, PEG4600, PEG5000, PEG6000, PEG8000, PEG11000, PEG12000, PEG2000000 a jakékoliv jejich směsi.

Aminokyselina

Termín "aminokyselina" znamená aminokyselinovou část, která obsahuje jakýkoliv přirozeně vyskytující se nebo syntetický aminokyselinový zbytek, tzn. jakoukoliv část obsahující alespoň jednu karboxylovou skupinu a alespoň jeden amino zbytek přímo připojený na 1, 2, 3 nebo více atomů uhlíku, typicky jeden (α) atom uhlíku. Charakter a původ vmezeřené struktury, která je lokalizovaná mezi karboxylovou a amino skupinou, může být velmi rozmanitý, včetně těch skupin, které jsou popsány v předloženém vynálezu. Typicky mají aminokyseliny připojené na steroid přes aminovou skupinu vhodnou konformaci a délku, aby byl schopné autokatalytické hydrolýzy vazby mezi aminokyselinou a steroidem, a tím k uvolnění steroidu, což se může vyskytovat, pokud volná karboxylová skupina je generována *in vivo* deesterifikací, deaminací nebo peptidolytickým štěpením prekursoru, který obsahuje vazbu mezi aminovou skupinou aminokyseliny a steroidem. Hydrolýza vazby mezi karboxylovou nebo aminovou skupinou aminokyselin a steroidem může být provedena chemickou nebo enzymatickou hydrolýzou, např. štěpení esterasami nebo neenzymatickou hydrolýzou.

Obecně jsou aminokyseliny korespondující se zbytky ve sloučeninách podle vynálezu, přirozeně vyskytující se aminokyseliny a nemají významnou farmakologickou aktivitu *per se*. Nicméně optimální farmakokinetická aktivita (v podstatě kompletní hydrolýza po hydrolýze distální amidové nebo esterové vazby)) může být dosažena použitím přirozeně se nevyskytujících aminokyselinových zbytků. Vmezeřená struktura může být tak jednoduchá, jako např. methylen, pokud je aminokyselinový zbytek glycyl, nebo pro jiné α -aminokyseliny substituovaný methylen. Struktura zpravidla obsahuje až 5 atomů uhlíku nebo heteroatomů v nerozvětveném řetězci mezi karboxylovým atomem uhlíku aminokyselin a atomem dusíku aminu. Tudíž aminokyseliny mohou obsahovat vmezeřené ethylenové, propylenové, butylenové nebo pentylenové skupiny nebo jejich substituovaná analoga, např. oxyestery nebo ethery, ve kterých je atom uhlíku nahrazen atomem kyslíku, případně atomem vodíku. Příklady takových vmezeřených struktur mohou být $-\text{CH}-\text{O}-\text{C}(\text{R}^{22})(\text{R}^{23})-$, kde substituenty R^{22} a R^{23} jsou nezávisle vybraný atom vodíku nebo organické části, které jsou popsány výše u esteru. V některých provedeních jeden ze substituentů R^{22} a R^{23} je atom vodíku a druhý je C_{2-20} organická část. Typicky organické části obsahují 1-20 atomů uhlíku a 0, 1, 2, 3, 4 nebo 5 nezávisle vybraných heteroatomů, které jsou typicky vybrány z atomu kyslíku, dusíku, síry a fosforu. Pokud je potřeba rychlejší hydrolýza, je obecně používána vmezeřená struktura s menším počtem atomů,

ačkoliv větší struktury jsou vhodné, pokud mají např. dostatečnou flexibilitu nebo konformaci k uvedení karboxylové skupiny do správné orientace v blízkosti vazby mezi aminokyselinou a steroidem.

Obyčejně je substituent R^{22} atom vodíku methylová nebo hydroxymethylová skupina, obvykle atom vodíku a substituent R^{23} je postranní řetězec nebo skupina přirozeně vyskytující se aminokyselinou. Postranní řetězec aminokyseliny zahrnuje analogy, ve kterých postranní řetězec je C_{1-15} homolog odpovídající přirozené sloučenině, např. methylen, ethylen, propylen, butylen nebo jejich substituovaný derivát, např. substituovaný derivát alkylové skupiny, etheru nebo alkoxy skupiny (např. methoxy, ethoxy, propoxy skupina). Obecně u postranních řetězců obsahujících karboxylovou skupinu, pokud je atom uhlíku karboxylové skupiny postranní řetězce připojen 5 nebo méně atomy na atom dusíku, pak karboxylová skupina bude případně blokována, např. esterifikací nebo amidací, přičemž esterové nebo amidové vazby jsou *in vivo* hydrolyzovatelné. Substituent R^{22} je také spojen dohromady se substituentem R^{30} za vzniku prolinového zbytku $(-CH_2)_3$. Tudiž substituent R^{23} je obecně postranní skupina, např. atom vodíku, $-CH_3$, $-CH(CH_3)_2$, $-CH_2-CH(CH_3)_2$, $-CHCH_3-CH_2-CH_3$, $-CH_2-C_6H_5$, $-CH_2CH_2S-CH_3$, $-CH_2OH$, $-CH(OH)-CH_3$, $-CH_2-SH$, $-CH_2-C_6H_4OH$, $-CH_2-CO-NH_2$, $-CH_2-CH_2-CONH_2$, $-CH_2-COOH$, $-CH_2-CH_2-COOH$, $-(CH_2)_4-NH_2$ a $-(CH_2)_3-NH-C(NH_2)-NH_2$. Substituent R^{23} také zahrnuje 1-guanidinoprop-3-yl, benzyl, 4-hydroxybenzyl, imidazol-4-yl, indol-3-yl, methoxyfenyl a ethoxyfenyl. Optimální substituent R^{30} je vybrán standardním způsobem.

Obecně má aminokyselinový zbytek strukturu uvedenou ve vzorcích níže. Obvykle index n nabývá hodnot 1 nebo 2, substituent R^{22} je atom vodíku a substituent R^{23} je část obsahující jednu nebo více z následujících skupin: amino, karboxyl, amid, karboxylester, hydroxyl, C_6-C_7 aryl, ether(-O-), thioether(-S-), *n*-, *s*- nebo *t*-alkyl(C_1-C_6), guanidiny, imidazolyl, indolyl, sulfhydryl, sulfoxid a fosforyl. Substituenty R^{22} a R^{23} mohou mít různé struktury, včetně těch, které jsou uvedeny v předloženém vynálezu, např. estery, ethery nebo karbonáty.

Pokud aminokyselinové zbytky obsahují jedno nebo více chirálních center, spadají do rozsahu tohoto vynálezu jakékoliv D, L, mezo, threo nebo erythro (pokud je to vhodné) reaceматы nebo jejich směsi. Obecně by při neenzymatické hydrolyze měl být používán D izomer. Na druhou stranu L izomery mohou být více univerzální, poněvadž mohou být citlivé jak na neenzymatickou, tak i na potenciálně žádanou enzymatickou hydrolyzu a

jsou lépe transportovatelné aminokyselinou nebo dipeptidylovým transportním systémem v gastrointestinálním traktu.

Příklady vhodných aminokyselinových zbytků zahrnují: glycyl; aminopolykarboxylové kyseliny, např. zbytky aspartové kyseliny, β -hydroxyaspartové kyseliny, glutamové kyseliny, β -hydroxyglutamové kys., β -methylaspartové kyseliny, β -methylglutamové kyseliny, β,β -dimethylaspartové kyseliny, γ -hydroxyglutamové kyseliny, β,γ -dihydroxyglutamové kyseliny, β -fenylglutamové kyseliny, γ -methylenlglutamové kyseliny, 3-aminoadipové kyseliny, 2-aminopimelové kyseliny, 2-aminosuberové kyseliny a 2-aminosebakové kyseliny; amidy aminokyselin, např. glutaminyl a asparaginylyl; polyamino-monokarboxylové nebo vícesytné monokarboxylové kyseliny, např. arginin, lysin, β -aminoalanin, γ -aminobutyryl, ornithin, citrulin, homoarginin, homocitrullin, zbytky 5-hydroxy-2,6-diaminohexanové kyseliny (běžně hydroxylysin, včetně allohydroxylysinu) a diaminobutyrové kyseliny; další bazické zbytky aminokyselin, např. histidinylyl; diaminodikarboxylovou kyselinu, např. zbytky α,α' -diaminosukcinové kyseliny, α,α' -diaminoglutarové kyseliny, α,α' -diaminoadipové kyseliny, α,α' -diaminopimelové kyseliny, α,α' -diamino- β -hydroxypimelové kyseliny, α,α' -diaminosuberové kyseliny, α,α' -diaminoazelaové kyseliny a α,α' -diaminosebakové kyseliny; imino kyseliny, např. prolin, zbytky 4- nebo 3-hydroxy-2-pyrrolidinkarboxylové kyseliny (běžně hydroxyprolin, včetně allohydroxyprolinu), γ -methylprolin, zbytky pipekolinové kyseliny, 5-hydroxypipekolinové kyseliny, $-N([CH_2]_nCOOR^{PR})_2$, kde index n nabývá hodnot 1, 2, 3, 4, 5 nebo 6 a substituent R^{PR} je atom vodíku nebo chránicí skupina a zbytky azetidin-2-karboxylové kyseliny; mono- nebo di-alkyl (typicky C_1 - C_8 rozvětvené nebo nerozvětvené) aminokyseliny, např. alanin, valin, leucin, allylglycin, butyryl, norvalin, norleucin, heptylin, α -methylserin, α -amino- α -methyl- γ -hydroxyvalerové kyseliny, α -amino- α -methyl-6-hydroxyvalerové kyseliny, α -amino- α -methyl- ϵ -hydroxykaprinové kyseliny, izovalin, α -methylglutamové kyseliny, α -aminoizobutyrové kyseliny, α -aminodiethyloctové kyseliny, α -amino-diizopropyloctové kyseliny, α -aminodi- n -propyloctové kyseliny, α -amino-diizobutyloctové kyseliny, α -aminodi- n -butyloctové kyseliny, α -amino-ethylizopropyloctové kyseliny, α -amino- n -propyloctové kyseliny, α -amino-diizoamyloctové kyseliny, α -methylaspartové kyseliny, α -methylglutamové kyseliny, 1-aminocyklopropan-1-karboxylové kyseliny; izoleucin, alloizoleucin, *tert*-leucin, β -methyltryptofan a α -amino- β -ethyl- β -fenylpropionové

kyseliny; β -fenylserinyl; alifatické α -amino- β -hydroxy kyseliny, např. serin, β -hydroxyleucin, β -hydroxynorleucin, β -hydroxynorvalin a α -amino- β -hydroxystearové kyseliny; amino, α -, γ -, δ - nebo ϵ -hydroxykyseliny, např. homoserin, γ -hydroxynorvalin, δ -hydroxynorvalin a ϵ -hydroxynorleucin; canavinyl a canalinyl; γ -hydroxyornithinyl; 2-hexosamininová kyselina, např. D-glukosaminová kyselina nebo D-galaktosaminová kyselina; α -amino- β -thioly, např. penicillamin, β -thiolnorvalin nebo β -thiolbutyryl; další aminokyselinové zbytky obsahující síru, včetně cysteinu; homocystein; β -fenylmethionin; methionin; S-allyl-L-cysteinsulfoxid; 2-thiolhistidin; cystathionin; a thiolethery cysteinu nebo homocysteinu; fenylalanin, tryptofan a α -aminokyseliny substituované na kruhu, např. fenyl- nebo cyklohexylaminokyseliny a α -aminofenylctové kyseliny, α -aminocyklohexylctové kyseliny a α -amino- β -cyklohexylpropionové kyseliny; analoga fenylalaninu a deriváty obsahující aryl, nižší alkyl, hydroxy, guanidino, oxyalkylether, nitro skupinu, síru nebo fenyl substituovaný halogenem (např., tyrosin, methyltyrosin a *o*-chlor-, *p*-chlor-, 3,4-dichlor, *o*-, *m*- nebo *p*-methyl-, 2,4,6-trimethyl-, 2-ethoxy-5-nitro, 2-hydroxy-5-nitro a *p*-nitro-fenylalanin); furyl-, thienyl-, pyridyl-, pyrimidinyl-, purin nebo naftylalaniny; analoga tryptofanu a jeho deriváty, včetně kynureninu, 3-hydroxykynureninu, 2-hydroxytryptofanu a 4-karboxytryptofanu; aminokyselinové zbytky substituované v poloze α -amino skupiny, včetně sarkosinu (*N*-methylglycin), *N*-benzylglycinu, *N*-methylalaninu, *N*-benzylalaninu, *N*-methylfenylalaninu, *N*-benzylfenylalaninu, *N*-methylvalinu a *N*-benzylvalinu; a α -hydroxyaminokyselinové zbytky a substituované α -hydroxyaminokyselinové zbytky, včetně serinu, threoninu, allothreoninu, fosfoserinu a fosfothreoninu.

Jakákoliv z výše uvedených aminokyselin nebo jiné známé aminokyseliny se mohou použít v tomto vynálezu. Typicky jsou aminokyseliny schopné autokatalyticky hydrolyzovat vazbu mezi aminokyselinou a steroidem. Tudíž typicky obsahují nebo po jejich hydrolyze *in vivo*, volnou karboxylovou nebo amino skupinu.

Předmětem zájmu mohou být také hydrofobní aminokyseliny, např. mono nebo di-alkyl nebo arylaminokyseliny, cykloalkylaminokyseliny, atp. Tyto zbytky společně se substituenty R^{29} - R^{34} (R^{31} - R^{34} jsou definovány níže) mohou přispívat k buněčné permeabilitě modulací lipofility sloučeniny obecného vzorce (1) nebo (2). Typicky zbytek neobsahuje sulfhydrylový nebo guanidino substituent.

Peptid

1, 2, 3 nebo více substituentů R^1-R^4 může zahrnovat „peptid“, tzn. dvě nebo více výše definovaných aminokyselin. Typicky jsou aminokyseliny připojené normálními peptidovými vazbami, tzn. $-CO-NH-$, mezi sousedícími aminokyselinovými zbytky. Peptidy obsahují dipeptidy (dimery), tripeptidy (trimery), krátké peptidy mající 4, 5, 6, 8, 10 nebo 15 zbytků a dlouhé peptidy nebo proteiny mající 100 nebo více zbytků. Sloučeniny podle vynálezu, které obsahují peptid, mohou být používány jako imugeny, proléčiva nebo jako syntetické prekurzory pro další deriváty steroidu. V rámci jednoho provedení obsahuje peptid místo pro štěpení peptidolytickým enzymem v peptidové vazbě spojené s první zbytkem a následujícím zbytkem distálně k steroidnímu zbytku. Tato místa štěpení jsou případně obklopena enzymatickými rozpoznávacími místy, např. jednotlivé zbytky rozpoznávané hydrolytickým enzymem, např. peptidasou lokalizovanou v séru nebo v buňkách. Peptidolytické enzymy patří mezi známé enzymy a zejména zahrnují karboxypeptidasy štěpící polypeptidy odstraněním C-koncových zbytků a jsou specifické v mnoha případech zejména pro C-koncové sekvence. Tyto enzymy a jejich vyžadované substráty jsou obecně známé. Například dipeptid mající příslušný pár zbytků a volný karboxylový konec je kovalentně vázaný přes svoji α -amino skupinu na steroidní jádro. Dá se očekávat, že peptid bude štěpen příslušnou dipeptidasou, proteasou nebo chemickou hydrolýzou za vzniku karboxylu proximálního aminokyselinového zbytku k autokatalytickému štěpení amidátové vazby.

Příklady vhodných dipeptidylových skupin (označované svými jednoduchými zkratkami) jsou uvedeny v tabulce níže.

SYMBOL

1-písmenná zkratka	3-písmenná zkratka	aminokyselina
Y	Tyr	tyrosin
G	Gly	glycin
F	Phe	fenylalanin
M	Met	methionin
A	Ala	alanin
S	Ser	serin
I	Ile	izoleucin
L	Leu	leucin
T	Thr	threonin
V	Val	valin

P	Pro	prolin
K	Lys	lysin
H	His	histidin
Q	Gln	glutamin
E	Glu	glutamová kyselina
W	Trp	tryptofan
R	Arg	arginin
D	Asp	aspartová kyselina
N	Asn	asparagin
C	Cys	cystein

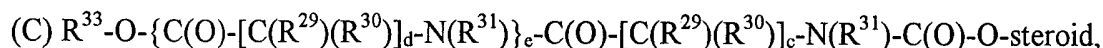
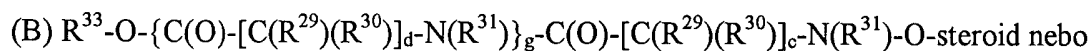
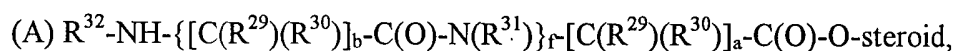
Dipeptidy

AA, AR, AN, AD, AC, AE, AQ, AG, AH, AI, AL, AK, AM, AF, AP, AS, AT, AW, AY, AV, RA, RR, RN, RD, RC, RE, RQ, RG, RH, RI, RL, RK, RM, RF, RP, RS, RT, RW, RY, RV, NA, NR, NN, ND, NC, NE, NQ, NG, NH, NI, NL, NK, NM, NF, NP, NS, NT, NW, NY, NV, DA, DR, DN, DD, DC, DE, DQ, DG, DH, DI, DL, DK, DM, DF, DP, DS, DT, DW, DY, DV, CA, CR, CN, CD, CC, CE, CQ, CG, CH, CI, CL, CK, CM, CF, CP, CS, CT, CW, CY, CV, EA, ER, EN, ED, EC, EE, EQ, EG, EH, EI, EL, EK, EM, EF, EP, ES, ET, EW, EY, EV, QA, QR, QN, QD, QC, QE, QQ, QG, QH, QI, QL, QK, QM, QF, QP, QS, QT, QW, QY, QV, GA, GR, GN, GD, GC, GE, GQ, GG, GH, GI, GL, GK, GM, GF, GP, GS, GT, GW, GY, GV, HA, HR, HN, HD, HC, HE, HQ, HG, HH, HI, HL, HK, HM, HF, HP, HS, HT, HW, HY, HV, IA, IR, IN, ID, IC, IE, IQ, IG, IH, II, IL, IK, IM, IF, IP, IS, IT, IW, IY, IV, LA, LR, LN, LD, LC, LE, LQ, LG, LH, LI, LL, LK, LM, LF, LP, LS, LT, LW, LY, LV, KA, KR, KN, KD, KC, KE, KQ, KG, KH, KI, KL, KK, KM, KF, KP, KS, KT, KW, KY, KV, MA, MR, MN, MD, MC, ME, MQ, MG, MH, MI, ML, MK, MM, MF, MP, MS, MT, MW, MY, MV, FA, FR, FN, FD, FC, FE, FQ, FG, FH, FI, FL, FK, FM, FF, FP, FS, FT, FW, FY, FV, PA, PR, PN, PD, PC, PE, PQ, PG, PH, PI, PL, PK, PM, PF, PP, PS, PT, PW, PY, PV, SA, SR, SN, SD, SC, SE, SQ, SG, SH, SI, SL, SK, SM, SF, SP, SS, ST, SW, SY, SV, TA, TR, TN, TD, TC, TE, TQ, TG, TH, TI, TL, TK, TM, TF, TP, TS, TT, TW, TY, TV, WA, WR, WN, WD, WC, WE, WQ, WG, WH, WI, WL, WK, WM, WF, WP, WS, WT, WW, WY, WV, YA, YR, YN, YD, YC, YE, YQ, YG, YH, YI, YL, YK, YM, YF, YP, YS, YT, YW, YY, YV, VA, VR, VN, VD, VC, VE, VQ, VG, VH, VI, VL, VK, VM, VF, VP, VS, VT, VW, VY, VV

Tyto dipeptidy zahrnují sloučeniny, ve kterých jsou obě aminokyseliny v L-konfiguraci, D-konfiguraci nebo jako směs konfigurací.

Tripeptidy, tzn. tři spojené aminokyselinové zbytky, jsou také zahrnuty do rozsahu použitelných provedení. Tyto tripeptidy zahrnují ty aminokyseliny, kde A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W nebo Y je připojeno standardní peptidickou vazbou na amino nebo karboxylový konec jakéhokoliv výše uvedeného dipeptidu. Sekvence –X1-pro-X2 (kde X1 je jakákoliv aminokyselina a X2 je atom vodíku, jakýkoliv aminokyselinový zbytek nebo karboxylester prolinu) bude štěpena luminalkarboxypeptidasou za vzniku X1 s volnou karboxylovou skupinou, která se hned autokatalyticky štěpí amidátovou vazbu. X2 bude obvykle benzylester karboxy skupiny X2. Další provedení zahrnují tetrapeptidy, např. ty, ve kterých jakékoliv dva z výše uvedených dipeptidů, jenž mohou být stejné nebo rozdílné dipeptidy (např. AA a AA spojené dohromady nebo např. AA a GI spojené dohromady), jsou spojeny jeden s druhým peptidickou vazbou přes amino konec nebo karboxylový konec. Jeden, dva nebo více tetrapeptidů může být vázáno na sloučeninu obecného vzorce (1) nebo vzorce (2) přes tetrapeptidový amino nebo karboxylový konec.

V některých provedeních obsahuje sloučenina obecného vzorce (1) nebo (2) jednu nebo více aminokyselin nebo peptidů majících strukturu (A), (B) nebo (C):



kde (A), (B) nebo (C) jsou nezávisle vybrány a jsou vázány na 1, 2, 3 nebo více substituentů R^1 až R^4 , kde každý ze substituentů R^{29} - R^{31} je nezávisle vybrán; substituent R^{29} je atom vodíku nebo C_{1-20} organická část (např., C_{1-6} alkylová skupina, např. $-CH_3$ nebo $-C_2H_5$); substituent R^{30} je nezávisle postranní řetězec aminokyseliny, včetně postranního řetězce přirozeně vyskytujících se výše uvedených aminokyselin, např. atom vodíku, $-CH_3$, $-CH_2C_6H_5$; substituent R^{31} je atom vodíku nebo chránicí skupina; substituenty R^{32} a R^{33} nezávisle zahrnují atom vodíku, chránicí skupinu, ester nebo amid, kde každý atom nebo skupina je nezávisle vybrána; indexy a, b, c a d nabývají nezávisle hodnot 1, 2, 3, 4 nebo 5, obvykle 1; indexy e, f a g nabývají nezávisle hodnot 0 až 1000, typicky jsou nezávisle 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 nebo 8; indexy a, b, c a d nabývají nezávisle hodnot 1 nebo 2; indexy e, f a g nabývají nezávisle hodnot 1, 2, 3, 4 nebo 5.

Pokud aminokyselina(y) nebo zbytek(y) mají dva nebo více aminoskupin, jako např. lysinylový, arginylový nebo ornithinylový zbytek, pak substituent R^{29} je obvykle atom vodíku a substituent R^{30} může zahrnovat $[C(R^{34})_2]_{n2}N(R^{PR})-$, kde index $n2$ nabývá hodnot 0, 1, 2, 3, 4, 5 nebo 6, substituent R^{PR} je atom vodíku nebo chránicí skupina a každý substituent R^{34} je nezávisle atom vodíku, C_{1-20} případně substituovaná alkylová skupina, C_6-C_{20} případně substituovaná arylová skupina, C_7-C_{20} případně substituovaná alkylarylová skupina, C_7-C_{20} případně substituovaná arylalkylová skupina, C_1-C_{20} případně substituovaná alkoxy skupina, C_6-C_{20} případně substituovaná aryloxy nebo hydroxylová skupina. Tyto sloučeniny mohou obsahovat několik steroidních částí. Například pokud jsou epsilon (ϵ) nebo delta (δ) a alfa(α) amino skupiny lysinu nebo ornithinu substituované steroidními částmi, může být amidátová skupina schopná uvolňovat dvě molekuly aktivní látky, každou vznikající za jiných farmakokinetických podmínek, a tím dochází k trvalejšímu uvolňování léčiva.

Soli

Provedení vynálezu zahrnují soli a komplexy sloučenin podle vynálezu (sloučeniny obecného vzorce (1)), včetně farmaceuticky přijatelných solí, které jsou relativně netoxické. Některé ze sloučenin podle vynálezu mají jednu nebo více částí, které obsahují alespoň částečně pozitivní nebo negativní náboj ve vodném roztoku, typicky při pH v rozmezí 4 až 10, který může participovat při tvorbě solí, komplexu, přípravku s parciálními vlastnostmi solí a komplexu, nebo jiné nekovalentní interakce, tzn. všechny, které označujeme jako „soli“. Soli jsou obvykle biologicky slučitelné nebo farmaceuticky přijatelné nebo netoxické, zejména pro savčí buňky. Soli, které jsou biologicky toxické jsou případně používány společně se syntetickými meziprodukty sloučenin podle vynálezu. V případech, kdy jsou potřeba ve vodě rozpustné přípravky, se obvykle používají monovalentní soli.

Soli kovů jsou typicky připravovány reakcí hydroxidu kovu se sloučeninou podle tohoto vynálezu. Příklady solí kovů, které jsou případně připraveny tímto způsobem, zahrnují soli obsahující Li^+ , Na^+ a K^+ . Méně rozpustné soli kovů mohou být precipitovány z roztoku více rozpustné soli přidáním vhodné sloučeniny kovu. Soli podle předloženého vynálezu mohou být připraveny kyselou adicí určitých organických kyselin, např. organické karboxylové kyseliny a anorganické kyseliny, např. alkylsulfonové kyseliny nebo halogenovodíkových kyselin, na kyselá nebo bazická centra ve sloučeninách podle

předloženého vynálezu, např. bazická centra na analogách pyrimidinovýchází podle předloženého vynálezu. Soli kovů zahrnují Na^+ , Li^+ , K^+ , Ca^+ nebo Mg^{++} . Další soli kovů mohou obsahovat iont hliníku, baria, stroncia, kadmia, bismutu, arsenu nebo zinku.

Soli (sůl) sloučenin podle předloženého vynálezu mohou obsahovat kombinace příslušných kationtů, např. alkalických iontů nebo iontů alkalických zemin nebo amoniaku a kvarterních amonných iontů s částí kyselého iontu fosforečné nebo fosforité kyseliny, které mohou být přítomny v polymerech nebo monomerech předloženého vynálezu.

Soli jsou připravovány standardními technikami, včetně rozpuštění volné báze ve vodném, vodném-alkoholovém nebo vodném-organickém roztoku obsahujícím vybranou kyselinu a případně odpařením roztoku. Volná báze se nechá reagovat v organickém roztoku obsahujícím kyselinu a poté se sůl obvykle separuje přímo nebo lze roztok zakoncentrovat.

Vhodné soli aminu zahrnují aminy mající dostatečnou bazicitu k tvorbě stabilní soli, obvykle aminy s nízkou toxicitou zahrnují trialkylaminy (tripropylamin, triethylamin, trimethylamin), prokain, dibenzylamin, *N*-benzyl-betafenetylamin, efenamin, *N,N*-dibenzyletylendiamin, *N*-ethylpiperidin, benzylamin a dicyklohexylamin.

Soli zahrnující organických sulfonových kyselin nebo organických karboxylových kyselin připravené např. přidáním kyselin do bazických center, typicky aminů. Názorné příklady sulfonových kyselin zahrnují C_{6-16} arylsulfonové kyseliny, C_{6-16} heteroarylsulfonové kyseliny a C_{1-16} alkylsulfonové kyseliny, např. fenylsulfonovou kyselinu, α -naftalensulfonovou kyselinu, β -naftalensulfonovou kyselinu, (S)-kafrosulfonovou kyselinu, methyl ($\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$), ethyl ($\text{C}_2\text{H}_5\text{SO}_3\text{H}$), *n*-propyl, *i*-propyl, *n*-butyl, *s*-butyl, *i*-butyl, *t*-butyl, pentyl a hexylsulfonové kyseliny. Názorné příklady organických karboxylových kyselin zahrnují C_{1-16} alkyl, C_{6-16} arylkarboxylové kyseliny a C_{4-16} heteroarylkarboxylové kyseliny, např. octová, glykolová, mléčná, pyrohroznová, malonová, glutarová, tartarová, citronová, fumarová, sukcinová, jablečná, maleinová, oxalová, hydroxymaleinová, benzoová, hydroxybenzoová, fenylactová, skořicová, salicylová, nikotinová a 2-fenoxibenzoová kyselina.

Soli předloženého vynálezu zahrnují ty, které mohou být připraveny z anorganických kyselin, např. HF, HCl, HBr, HI, H_2SO_4 , H_3PO_4 , Na_2CO_3 , K_2CO_3 , CaCO_3 , MgCO_3 a NaClO_3 . Vhodné anionty, které se případně vyskytují spolu s kationtem, např. Ca^{++} , Mg^{++} , Li^+ , Na^+ nebo K^+ , zahrnují arsenát, arsenitformiát, sorbát, chlorát, perchlorát, jodistan, dichromát, glykodeoxycholát, cholát, deoxycholát, desoxycholát,

taurocholát, taurodeoxycholát, tauroolithocholát, tetraborát, nitrát, nitrit, sulfit, sulfamát, hyposulfit, bisulfit, pyrosulfit, thiosulfát, thiokyanát, silikát, metasilikát, CN-, glukonát, glukuronát, hippuran, pikrát, hydrosulfit, hexafluorofosfát, chlornan, hypochlorát, borát, metaborát, wolframan a urát.

Soli také zahrnují soli sloučenin podle předloženého vynálezu s jednou nebo více aminokyselin. Mnoho aminokyselin je pro tyto účely vhodných, zejména přirozeně se vyskytující aminokyseliny, které lze nalézt jako komponenty proteinů, i když aminokyseliny jako takové mají typicky postranní řetězec s bazickou nebo kyselou skupinu, např. lysin, arginin, histidin nebo kyselina glutamová, nebo neutrální skupinou, např. glycin, serin, threonin, alanin, izoleucin nebo leucin.

Přípravky podle předloženého vynálezu zahrnují sloučeniny ve formě neionizovaných látek, zwitterionů a kombinace se stechiometrickým množstvím vody jako v hydrátech.

Stereoizomery

Sloučeniny podle vynálezu (sloučeniny obecného vzorce (1)) zahrnují obohacené nebo rozlišené optické izomery na jakémkoliv nebo všech asymetrických atomech uvedených na obrázcích. Racemáty, směsi diastereoizomerů i jednotlivé optické izomery mohou být izolovány nebo syntetizovány tak, aby byly podstatně bez svých enantiomerních nebo diastereomerních partnerů, přičemž všechny jsou v rozsahu vynálezu. Chirální centra sloučenin podle vynálezu mohou být nalezena ve sloučeninách vynálezu např. v substituentech R^1 , R^2 , R^3 a R^4 .

Jeden a nebo více z následujících způsobů je používán k přípravě enantiomerně obohacených nebo čistých izomerů. Způsoby jsou uvedeny podle své důležitosti, tzn. stereospecifická syntéza z chirálních prekurzorů, chromatografické rozlišení enantiomeru, spontánní krystalizace.

Stereospecifická syntéza je popsána v příkladech. Způsoby tohoto typu jsou vhodně využívány, za předpokladu, že je příslušná chirální výchozí látka je dostupná a reakční kroky jsou vybrány tak, aby se předešlo nežádoucí racemizaci na chirálních centrech. Jednou z výhod stereospecifické syntézy je to, že při ní nevznikají nežádoucí enantiomery, které by pak musely být odstraněny od finálního produktu, čímž by se snížil celkový výtěžek syntézy. Obecně bude odborné veřejnosti jasné, které výchozí látky a reakční podmínky zvolit, aby byly stereospecifickou syntézou získány požadované enantiomerně obohacené nebo čisté izomery.

Pokud nemůže být stereospecifická syntéza empiricky určena nebo stanovena běžnou experimentální cestou, mohou být zvoleny jiné způsoby. Jednou z takových metod je chromatografie enantiomerů na chirálních chromatografických sloupcích. Tyto chirální chromatografické sloupce, běžně nazývané sloupce Pirkle, jsou komerčně dostupné. Tyto chirální chromatografické sloupce obsahují chirální stacionární fázi. Racemát je rozpuštěn v mobilní fázi a nanesen na sloupec, a poté separován pomocí HPLC. Viz např. Proceedings Chromatographic Society-International Symposium on Chiral Separations, Sept, 3-4, 1987. Příklady chirálních chromatografických sloupců, které by mohly být používány ke screeningu optimální separační metody, zahrnují Diacel Chriacel OD, Regis Pirkle Covalent D-phenylglycine, Regis Pirkle Type 1A, Astec Cyclobond II, Astec Cyclobond III, Serva Chiral D-DL=Daltosil 100, Bakerbond DNBLau, Sumipax OA-1000, Merck Cellulose Triacetát column, Astec Cyclobond I-Beta nebo Regis Pirkle Covalent D-Naphthylalanine. Ne všechny z těchto sloupců jsou účinné na každou racemickou směsí. Nicméně je zcela zřejmé, že určitý screening k zjištění optimální stacionární fáze je nutný. Při použití těchto sloupců je třeba, aby sloučeniny podle předloženého vynálezu byly ve formě svých nabytých iontů, tzn. nesmí být zneutralizované, např. ve formě karboxylové skupiny, která není esterifikována nebo amidátována.

Další metoda zahrnuje nejprve převedení enantiomerů směsi na diastereoizomery chirálními pomocnými látkami, a poté separaci konjugátů na běžných chromatografických sloupcích, což je velmi vhodná metoda, zejména pokud jednotlivá provedení sloučeniny podle předloženého vynálezu obsahují volnou karboxylovou, amino nebo hydroxylovou skupinu, která tvoří sůl nebo kovalentní vazbu s chirální pomocnou látkou. Všechny dosud známé chirálně čisté aminokyseliny, organické kyseliny nebo organosulfonové kyseliny jsou vhodné jako pomocné chirální látky. Soli s takovými pomocnými látkami mohou být tvořeny nebo mohou být kovalentně (ale reverzibilně) vázány na funkční skupinu. Například čisté D nebo L aminokyseliny mohou být používány k amidaci karboxylové skupiny jednotlivých provedení podle předloženého vynálezu, která obsahují karboxylovou skupinu, a poté jsou chromatograficky separovány.

Další potenciálně vhodná metoda je enzymatické rozdělení izomerů. V těchto metodách lze nejprve připravit kovalentní deriváty enantiomerů v racemické směsi, obecně nižší alkylestery (např. karboxylová skupina), a poté se tento derivát podrobí enzymatickému štěpení, obecně hydrolýze. K úspěšnému provedení této metody musí být vybrán takový enzym, který je schopen stereospecifického štěpení, což vyžaduje nejprve

screening několika enzymů. Pokud mají být štěpeny estery, je třeba nejdříve vybrat skupinu esteras, fosfatas a lipas a stanovit jejich aktivitu vůči danému derivátu. Typické esterasy jsou z jater, slinivky nebo jiných zvířecích orgánů a zahrnují vepřovou esterasu z jater.

Jestliže je enantiomerní směs separována z roztoku nebo taveniny jako konglomerát, tzn. směs enantiomerně čistých krystalů, mohou být krystaly mechanicky separovány, a tím vyrobena enantiomerně obohacený preparát. Nicméně tento způsob není praktický ve velkém měřítku a má omezenou hodnotu pro skutečné racemické sloučeniny.

Asymetrická syntéza je další z technik, které se používají k získání enantiomerně obohacených produktů. Například se se skupinou, která má být chráněna, nechá reagovat chirální chránicí skupina a reakční směs se ekvilibruje. Pokud je reakce enantiomerně specifická, pak je produkt obohacen o příslušný enantiomer.

Další informace ohledně separace enantiomerních směsí lze nalézt, ale nikoli pouze, např. v "Enantiomers, Racemates, and resolutions", Jean Jacques, Andre Collet, and Samuel H. Wilen (Krieger Publishing Company, Malabar, FL, 1991, ISBN 0-89464-618-4): Part 2, Resolution of Enantiomer Mixture, str. 217-435; zejména, díl 4, Resolution by Direct Crystallization, str. 217-251, díl 5, Formation and Separation of Diastereomers, str. 251-369, díl 6, Crystallization Induced Asymmetric Transformations, str. 369-378, a díl 7, Experimental Aspects and Art of Resolutions, str. 378-435; zejména, díl 5.1.4, Resolution of Alcohols, Transformation of Alcohols into Salt-Forming Derivatives, str. 263-266, díl 5.2.3, Covalent Derivatives of Alcohols, Thiols, and Phenols, str. 332-335, díl 5.1.1, Resolution of Acids, str. 257-259, díl 5.1.2, Resolution of Bases, str. 259-260, díl 5.1.3, Resolution of Amino Acids, str. 261-263, díl 5.2.1, Covalent Derivatives of Acids, page 329, díl 5.2.2, Covalent derivatives of Amines, str. 330-331, díl 5.2.4, Covalent Derivatives of Aldehydes, Ketones, and Sulfoxides, str. 335-339, a díl 5.2.7, Chromatographic Behavior of Covalent Diastereomers, str. 348-354.

Není-li uvedeno jinak nebo nevyplývá z kontextu, znamenají procenta tekuté složky, např. pomocné látky, v přípravku nebo formulaci podle vynálezu objemové procento složky (v/v), tj. 20 % propylenglykolu znamená, že v přípravku nebo formulaci podle předloženého vynálezu je obsaženo 20 obj. % propylenglykolu. Množství pomocné látky uvedené v přípravcích podle předloženého vynálezu není ovlivněno používanou formou, např. rozpouštědlo nebo pomocná látka třídy NF nebo USP. Tudiž přípravek podle

předloženého vynálezu, který obsahuje 30% polyethylenglykolu 300 NF, může místo toho obsahovat ekvivalent USP.

Termín „přirozená imunita“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na jednu nebo více složek typicky souvisejících s nespecifickými imunitními obrannými mechanismy subjektu. Tyto složky zahrnují náhradní komplementární dráhu, např. faktor B, faktor D a properdin; NK buňky, fagocyty (monocyty, makrofágy), neutrofil, eosinofil, dendritické buňky, fibrocyty; protimikrobní chemické látky, např. defensiny; fyzické bariéry-kůži, mukózní epitel; a určité interleukiny, chemokiny a cytokiny. Přirozená imunita hraje důležitou roli při rezistanci proti intracelulárním infekcím parazity, např. infekce leukocytů, infekce jater a další infekce, např. infekce lymfatických uzlin. Zlepšení mechanismu přirozené imunity sloučeninami obecného vzorce (1) nebo způsoby, které jsou popsány v tomto vynálezu, mohou zvýšit fúzi nebo pohyb fagolysosomu, které některé patogeny, např. intracelulární bakterie, např. mykobakterie, nebo *Listeria* inhibují.

Odkazy na CD molekuly, podskupiny specifických imunitních buněk, imunitní odpovědi atp., obecně používají nomenklaturu, která je aplikována na molekuly, buňky atp. nacházející se u lidských subjektů. Analoga nebo protějšky takových molekul, buněk atp. v jiných látkách mohou mít odlišnou nomenklaturu, nicméně jsou také zahrnuty do rozsahu předloženého vynálezu. Popis nomenklatury a funkce různých CD molekul a podskupin imunitních buněk jsou stejné jako v odborné vědecké literatuře. Odkazy na Th0, Th1 nebo Th2 buňky a odkazy na Th1 nebo Th2 imunitní odpovědi v kontextu s lidskými pacienty popisují lidské protějšky myších Th0, Th1 nebo Th2 buněk a odpovědí. Pro podrobnější informace viz např., A. K. Abbas *et al.*, editors, Cellular and Molecular Immunology, W. B. Saunders Company, third edition, 1997, ISBN 0-7216-4024-9, str. 4-469, a I. Kimber and M. K. Selgrade, editors, T Lymphocyte Subpopulations in Immunotoxicology, John Wiley & Sons Ltd., 1998, ISBN 0-471-97194-4, str.1-53.

Termín „imunosupresivní molekula“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na molekuly, např. cyklosporin, cyklohexamid, mitomycin C, adriamycin, taxol a amfotericin B. Tyto molekuly mají tendenci být toxické vůči imunitnímu systému a jsou přímo či nepřímo imunosupresivní, tzn. toxické vzhledem k dělení buněk nebo mohou tlumit imunitu.

Termín „receptor steroidu“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na genový produkt, typicky monomer nebo dimer proteinu, který se může vázat na ligand, např. přírodní steroid nebo jeho analog, např. sloučeniny obecného vzorce (1). Receptory

steroidu zahrnují „orphan“ receptory steroidu. Tyto „orphan“ receptory steroidu jsou proteiny, pro které je přirozený ligand nebo biologická funkce alespoň částečně neznámá. Receptory steroidu zahrnují homodimery, např. SXR a $(CAR\beta)_2$ a heterodimery, např. PXR- $CAR\beta$ nebo RXR- $CAR\beta$. Receptory steroidu také zahrnují izoformy, např., PXR.1 a PXR.2 pro PXR receptor, a homologa steroidních receptorů, např. homologa $CAR\beta$ známá jako MB67. Izoformy jsou typicky generovány rozdílnými dráhami sestřihu nukleární RNA z jednoho genu, zatímco homologa jsou typicky zřetelné kopie genu pro receptoru steroidu, kde kopie genu kóduje pouze relativně malé rozdíly v porovnání s referenčním produktem genu receptoru steroidu. Tyto rozdíly jsou velmi často nalezeny v jiných oblastech než je oblast dimerizace a oblast vazby steroidu ve struktuře receptoru steroidu. Typicky jsou izoformy a homologa vážou stejné nebo podobné ligandy jako referenční produkt genu pro receptor steroidu. Receptory steroidu mohou být lidského nebo zvířecího původu, např. získané z buněk, tkání nebo expresních knihoven cDNA získaných z buněk nebo tkání jakéhokoliv primátu, hlodavce (včetně myši), ptáka, ovce, hovězího dobytka, koně, psa, kočky nebo jakéhokoliv species v rozsahu jakékoli skupiny (např. rodiny nebo rodu) species, který je uveden v předloženém vynálezu nebo v jakémkoliv odkazu uvedeném v předloženém vynálezu.

V kontextu s kombinací molekul, které zahrnují receptor steroidu a sloučeninu obecného vzorce (1), znamená termín „komplex podle předloženého vynálezu“ nebo „komplexy“ komplex, který obsahuje receptor steroidu a sloučeninu obecného vzorce (1) a případně další molekuly. Tyto další molekuly zahrnují (i) rozpoznávací sekvence DNA (dále jen „DNARS“), tzn. sekvenci, kterou receptor steroidu specificky rozpoznává a naváže se na ni a (ii) transkripční faktor, který se může vázat na komplex receptoru steroidu a sloučeniny obecného vzorce (1). Komplexy, jak jsou používány v tomto vynálezu, mohou vznikat v buňkách *in vitro* nebo *in vivo* nebo v bezbuněčných systémech. Komplexy dále zahrnují např. kombinace heterodimeru receptoru steroidu a sloučeniny obecného vzorce (1), kombinace homodimeru receptoru steroidu a sloučeniny obecného vzorce (1), kombinace monomeru receptoru steroidu a sloučeniny obecného vzorce (1), kombinace heterodimeru receptoru steroidu, sloučeniny obecného vzorce (1) a DNA (nebo DNARS), kombinace homodimeru receptoru steroidu, sloučeniny obecného vzorce (1) a DNA (nebo DNARS), kombinace heterodimeru receptoru steroidu, sloučeniny obecného vzorce (1) a transkripčního faktoru, kombinace homodimeru receptoru steroidu, sloučeniny obecného vzorce (1) a transkripčního faktoru, kombinace heterodimeru receptoru steroidu,

sloučeniny obecného vzorce (1), DNA (nebo DNARS) a transkripčního faktoru, kombinace homodimeru receptoru steroidu, sloučeniny obecného vzorce (1), DNA (nebo DNARS) a transkripčního faktoru.

Termín „agonista“ nebo „antagonista“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na sloučeninu nebo přípravek, který zvyšuje, resp. snižuje aktivitu receptoru, což může vést ke zvýšené nebo snížené transkripci regulovaného genu. Receptory (a transkripční faktory) mohou modulovat transkripci svého cílového genu (ů) zvýšením nebo snížením transkripce.

Obecné způsoby

K stanovení obsahu vody a rozpouštědel v různých preparátech byly popsány metody, např. metoda Karla Fischera (KF) nebo stanovení vody nebo rozpouštědel sušením (LOD). LOD stanovuje veškeré těkavé látky ve vzorku, zatímco KF je typicky používána k měření celkového obsahu vody. Pokud je voda pouze jedinná přítomná těkavá látka, pak jsou hodnoty LOD rovnocenné nebo nižší než hodnoty KF pro daný preparát. Pomocí metody KF se stanovuje voda v hydrátech sloučenin a metodou LOD se stanovuje voda a množství dalších těkavých látek. U přípravků a formulací podle předloženého vynálezu se stanovuje množství vody titrací podle KF (např. voltmetrem 684 KF nebo jeho ekvivalentem) publikovaným způsobem (US *Pharmacopoeia*, vol. 23, 1995, chapter < 921 > , US Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, MD) a podle příložených instrukcí od výrobce. Množství používaného materiálu při testech, 50-100 mg, je měřeno na analytických vahách s 5 místnou přesností (Sartorius, Model RC210D nebo jeho vhodný ekvivalent). Množství vody specifikované v přípravcích a formulacích podle předloženého vynálezu zjištěno metodou KF.

K popsání různých krystalických látek bylo používáno rentgenové difrakce (XRD) (viz např. US *Pharmacopoeia*, volume 23, 1995, < 941 > , str. 1843-1845, US Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, MD; Stout *et al.*, *X-Ray Structure Determination; A Practical Guide*, MacMillan Co., New York, N.Y., 1986). Vzorky nebo jejich části získané z krystalické formy sloučeniny jsou obvykle postačující k změření rentgenové difrakce a k navržení příslušné krystalické formy, ačkoliv slabé nebo velmi slabé difrakční piky se nemusejí vždy objevit při opakování měření. Také relativní intenzity XRD pásů, zejména při nízkých hodnotách incidenčních hodnot úhlu

rentgenových paprsků (nízké Theta), mohou být velmi rozdílné díky preferovaným vlivů orientací vyplývajících z rozdílů např. ve vzhledu krystalu, velikosti částice nebo jiným podmínkám měření. Píky na XRD spektru jsou typicky definovány příslušnými hodnotami Theta +/- v rozmezí 0,1 až 0,2. Informace XRD plynoucí z 1, 2, 3, 4, 5 nebo více XRD píků s hlavní intenzitou, případně spojené s jedním nebo více dalších diagnostických údajů (teplota tání, DSC, IR), jsou obvykle postačující k charakterizaci nebo popsání krystalické látky, např. hemihydrát BrEA od jiných krystalických forem, které obsahují stejnou sloučeninu.

Další vhodné techniky, které jsou používány k identifikaci nebo popsání krystalické látky, např. hemihydrátu BrEA, zahrnují teplotu tání (MP) a údaje z diferenciální kalorimetrie (DSC) a infračervené spektroskopie (IR). Při DSC se měří termální tranzitní teploty, při kterých krystal absorbuje nebo uvolňuje teplo, když se jeho krystalická struktura mění nebo taje. Údaje z MP a DSC termálních tranzitních teplot jsou typicky reprodukovatelné při úspěšné analýze v rozsahu 1 nebo 2 °C. Při IR se měří absorpce infračerveného záření, které je spojeno s přítomností jednotlivých chemických vazeb, které jsou spojeny se skupinami, např. hydroxylovou skupinou, které vibrují v reakci na konkrétní vlnové délky záření.

Provedení vynálezu

Vynález popisuje hemihydrát BrEA, který je typicky v podstatě prostý svých dalších forem, např. amorfního BrEA nebo bezvodého BrEA. Termín „hemihydrát BrEA“ nebo „krystalický hemihydrát“, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na pevný BrEA a vodu mající přesné uspořádání v podstatě všech částí molekul v definované 3D prostorové struktuře nebo krystalové mřížce. Krystalický hemihydrát BrEA může zahrnovat jeden nebo více vzhledů krystalu, např. tabletový, tyčinkový, deskový nebo jehličkovitý. Hemihydrát BrEA, který je v podstatě prostý ostatních forem BrEA, znamená suchý nebo v podstatě suchý (kde tekutina(y) zahrnují méně než 10 hmotn.% celkové hmotnosti) pevný přípravek, ve kterém více než asi 55 hmotn.% BrEA v přípravku je ve formě hemihydrátu BrEA. Tyto přípravky typicky zahrnují alespoň 60 hmotn.% nebo alespoň 70 hmotn.% nebo alespoň 80 hmotn.%, obvykle alespoň 90 hmotn.% nebo alespoň 95 hmotn.% nebo alespoň 98 hmotn.% hemihydrátu BrEA, přičemž zbývající část BrEA je v jiných formách, např. amorfní nebo bezvodé formě. Pevný hemihydrát BrEA bude

typicky obsahovat alespoň 90 hmotn.%, obvykle alespoň 97% nebo 98 hmotn.% sloučeniny a méně než 10 hmotn.%, obvykle méně než 3% nebo 2 hmotn.% vedlejších produktů, které mohou zahrnovat 16 β -izomer BrEA nebo jeden nebo více vedlejších produktů vznikajících při syntéze BrEA. Velmi často nebude množství pevného BrEA, které je ve formě pevného nebo tekutého média, obsahovat detegovatelná množství jiných forem BrEA (platí při použití standardních analytických metod, např. FTIR, DSC nebo XRD), a tudíž hemihydrát může obsahovat 99-100 hmotn.% celkového množství přítomného BrEA.

Další provedení vynálezu zahrnují přípravky, které obsahují podstatné množství hemihydrátu BrEA přítomného v přípravcích, které obsahují jeden nebo více jiných forem BrEA, např. amorfni BrEA nebo bezvodý BrEA, a případně jednu nebo více dalších složek, např. jakoukoliv pomocnou látku popsanou v předloženém vynálezu. Termín „podstatné množství“ hemihydrátu BrEA v těchto přípravcích, jak je používán v předloženém vynálezu, se vztahuje na obsah alespoň 15-20 hmotn.% nebo alespoň 20 hmotn.% hemihydrátu BrEA z celkového přítomného množství BrEA, typicky alespoň 25 hmotn.%, typičtěji alespoň 30 hmotn.%, často alespoň 35 hmotn.% a obvykle alespoň 45 hmotn.%. Tyto přípravky jsou obecně v pevné formě, např. formulace nebo jednotkové dávky, nicméně také zahrnují suspenze, precipitáty, gely a koloidy, které obsahují pevný BrEA. Tyto suspenze nebo precipitáty mohou vznikat např. při precipitaci hemihydrátu BrEA z roztoku, který obsahuje vodu, nebo při adici pevného BrEA do tekuté pomocné látky (látek). Zjevně mohou být přípravky, které obsahují podstatné množství BrEA, v podstatě prosté jiných forem pevného BrEA, jak je uvedeno výše.

Hemihydrát BrEA může být výhodně identifikován podle jedné nebo více z následujících vlastností (1) teploty tání nebo rozkladu (případně vyjádřené v rozmezí $\pm 2^{\circ}\text{C}$), (2) jedné nebo více DSC tranzitních teplot hemihydrátu BrEA (případně vyjádřené v rozmezí $\pm 2^{\circ}\text{C}$), (3) jednoho nebo více IR charakteristických pásů hemihydrátu BrEA, (4) 1, 2, 3, 4, 5, 6 nebo více z píků XRD s nejvyšší intenzitou (jakýkoliv jeden nebo více, které jsou případně vyjádřeny $\pm 0,1^{\circ}$ théta nebo $\pm 0,2^{\circ}$ théta) získané z XRD spektra hemihydrátu BrEA při použití Cu-K α záření (např. získané v podstatě podle způsobu popsaného v *U. S. Pharmacopoeia*, volume 23, 1995, <941>, 1843-1845), (5) přítomností méně než 3% nebo méně než 2 hmotn.% jiných sloučenin, (6) 2,5 hmotn.% obsahem vody suchého hemihydrátu BrEA (např. 2,3-2,7 hmotn.%), přičemž suchý hemihydrát BrEA znamená sloučeninu sušenou filtrací, případně jednou promývanou bezvodým

rozpouštědlem, např. hexanem, znovu filtrovanou a sušenou za vakua při teplotě 60°C dokud není při této teplotě (60°C) pozorován úbytek váhy během 24 hodin (např. obsah vody stanovený metodou Karla Fischera nebo jinou metodou popsanou v *U. S. Pharmacopoeia*, vol. 23, 1995, 1801-1802 nebo 1840-1843 metody <731> nebo <921>), (7) odporové konstanty a orientační struktury matrice získané při rentgenostrukturní analýze jednotlivých krystalů hemihydrátu BrEA (změřené např. podle způsobu popsaného v patentu WO 99/04774 v příkladu 13), (8) popisu tvaru krystalové mřížky pozorované při 100x-150x zvětšení polarizovanou světelnou mikroskopií nebo (9) průměrnou velikostí krystalové mřížky hemihydrátu BrEA a popisu jeho tvaru.

Tudíž např. hemihydrát BrEA může být charakterizován jedním nebo více IR absorpčními pásy, např. píky karbonylové skupiny 1741 cm⁻¹ a 1752 cm⁻¹, a buď svou teplotou tání nebo rozpadu a/nebo 1, 2, 3, 4, 5, 6 nebo více XRD píky (obvykle píky s největší intenzitou) s hodnotami θ (úhel difrakce rentgenového záření) 17,8, 23,8, 24,2, 26,9-27,2, 28,6, 30,1 a 32,2.

Hemihydrát BrEA je vhodné připravit tak, aby složení zahrnovalo pomocnou látku (látky) vhodnou pro humánní farmaceutické použití nebo pro veterinární použití. Tyto přípravky jsou používány k přípravě formulace a jednotkových dávek. Jednotkové dávky typicky zahrnují tablety, kapsle, pastilky nebo sterilní roztoky, včetně sterilních roztoků pro parenterální podání. Jednotkové dávky v pevné formě typicky obsahují 5-1000 mg hemihydrátu BrEA, typicky 20-400 mg, např. 25 mg, 50 mg, 100 mg, 150 mg nebo 250 mg na jednotkovou dávku.

Vynález popisuje způsob přípravy hemihydrátu BrEA zahrnující kontakt vody, 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu a C₁-C₆alkoholu (např., methanol, ethanol, propanol, izopropanol, butanol). Typicky je přítomný pouze jeden C₁-C₆alkohol, např. ethanol, který je bezvodý nebo může obsahovat až 2 hmotn.% vody. V některých provedeních používá způsob podle předloženého vynálezu roztok obsahující 5-25 hmotn.% vody, 30-45 hmotn.% ethanolu a 30-45 hmotn.% preparátu BrEA. Typicky preparáty BrEA jsou v pevné formě obsahující alespoň 80 hmotn.%, obvykle alespoň 90 hmotn.% nebo alespoň 95 hmotn.% BrEA. Roztoky mohou obsahovat 18-22 hmotn.% vody, 37-43 hmotn.% ethanolu a 37-43 hmotn.% preparátu BrEA. Při precipitaci nebo krystalizaci má roztok typicky teplotu 20°C až 45°C, obvykle 0°C až 20°C. Roztok je udržován v tomto teplotním rozmezí po dobu 30 minut až 12 hodin a roztok je případně při krystalizaci pomalu až středně míchán.

Související provedení zahrnuje způsob přípravy hemihydrátu BrEA zahrnující precipitaci BrEA z roztoku obsahujícího alespoň 15-25 hmotn.% vody, 35-45 hmotn.% preparátu BrEA a alespoň 35-45 hmotn.% jednoho nebo více rozpouštědel mísitelných s vodou, typicky C₁-C₆alkoholy (methanol, ethanol, propanol, izopropanol, butanol). Preparát BrEA může případně obsahovat jeden nebo více vedlejších produktů vznikajících při syntéze BrEA. Typicky preparáty nebo dávky hemihydrátu BrEA obsahují méně než 5 hmotn.%, obvykle méně než 3% nebo 2 hmotn.% jiných sloučenin, např. vedlejších produktů vznikajících při syntéze BrEA. Jednotlivé aspekty tohoto způsobu zahrnují uvedení vody do kontaktu s organickým roztokem, který obsahuje BrEA a organické rozpouštědlo, např. C₁-C₆alkohol (např. ethanol) nebo aceton. Přidání vody do těchto roztoků má za následek precipitaci hemihydrátu BrEA. Roztoky, které obsahují krystaly hemihydrátu BrEA nebo jeho precipitát, patří do jednotlivých provedení vynálezu, která jsou používána při přípravě pevného BrEA, jenž je později sušen a skladován, typicky při pokojových teplotách.

Precipitace hemihydrátu BrEA z roztoků obsahujících vodu je dosažena známými způsoby, např. snížením teploty roztoku, použitím nasycených nebo téměř nasycených roztoků BrEA, vakuovým zahuštěním nasyceného nebo téměř nasyceného roztoku BrEA (který je typicky při relativně nízké teplotě, obvykle 15-25°C), zaočkováním nasycenými nebo téměř nasycenými roztoky BrEA s krystaly hemihydrátu BrEA (např. 10-100 mg na 1-10 l roztoku), zahříváním nasyceného nebo téměř nasyceného roztoku BrEA (25-35°C po dobu několika minut a samovolné nebo aktivní ochlazení roztoku) a případně zaočkováním roztoku krystaly hemihydrátu BrEA nebo přidáním tekutiny, např. další vody nebo ethanolu, do nasyceného nebo téměř nasyceného roztoku BrEA a vody s ethanolem, což zapříčiní přesycenost roztoku. BrEA může být také precipitován z jiných rozpouštědel nebo jejich systémů, včetně acetonu a směsi acetonu a vody. Tyto rozpouštědla jsou typicky mísitelná s vodou. K regeneraci pevného hemihydrátu BrEA může být také používána dvou fázová precipitace, např. počáteční precipitací a regenerací pevné fáze a následné ochlazení nebo zaočkování matečného roztoku nebo stáním matečného roztoku, např. jeden, dva nebo více dnů při pokojové teplotě, čímž se získají další krystaly. Dále mohou být také krystaly hemihydrátu BrEA případně rekrytalizovány, v podstatě způsobem popsaným v předloženém vynálezu, k dalšímu zvýšení čistoty finální pevné fáze. Způsoby krystalizace organických sloučenin jsou popsány např. v A. S. Myerson,

Handbook of Industrial Crystallization, 1993, Butterworth-Heinemann, Stoneham, MA, 1-101.

Další související provedení předloženého vynálezu zahrnují produkt, který je připraven způsobem, kdy dochází ke kontaktu roztoku obsahujícího BrEA a organického rozpouštědla s vodou. Typické roztoky jsou popsány výše, např. roztok obsahující 3-5 obj.% vody a alespoň 40 obj.% jedno nebo více rozpouštědel mísitelných s vodou, typicky polární rozpouštědla, např. C₁-C₆alkoholy nebo ketony (např. methanol, ethanol, propanol, izopropanol, butanol, typicky ethanol nebo aceton). Tyto způsoby jsou provedeny jakoukoliv jednou nebo více technik, které jsou popsány v odstavci výše, např. ochlazení nasyceného nebo téměř nasyceného roztoku BrEA a vody s ethanolem a případně zaočkování ochlazeného roztoku hemihydrátem BrEA. Provedení, které s tímto způsobem souvisí, zahrnuje roztoky nebo pevné látky, které obsahují vlhké krystaly hemihydrátu BrEA nebo vlhké filtrované nebo centrifugované koláče hemihydrátu BrEA, které mohou být obdrženy po krystalizaci. Příklady těchto provedení zahrnují přidání vody do roztoku BrEA s alkoholem, např. pomalé přidání 0,5-1,5 objemů nebo 0,8-1,2 objemů vody do 6 objemů roztoku BrEA s ethanolem za vzniku hemihydrátu BrEA.

Další příklady těchto provedení zahrnují přidání vody do roztoku BrEA a rozpouštědla na bázi ketonů, např. pomalé přidání 0,5-1,5 objemů nebo 0,8-1,2 objemů vody do 10 objemů roztoku BrEA a acetonu za vzniku hemihydrátu BrEA.

Další související provedení zahrnuje hemihydrát BrEA, který je rozmělněn na průměrnou velikost částic 0,01-200 μM nebo 0,1-10 μM nebo 0,5-5 μM. Průměrná velikost částic nebo jejich tloušťka rozmělněného hemihydrátu BrEA tudíž musí být relativně malá, např. 0,03-2,0 μM nebo 0,1-1,0 μM nebo trochu větší, např. 0,5-5,0 μM nebo 1-5,0 μM. Rozmělněný hemihydrát BrEA je vhodný pro výrobu přípravků v pevné formě a parenterálních formulací pro humánní nebo veterinární použití. Rozmělněná látka umožňuje rozpuštění hemihydrátu BrEA v rozpouštědlech nebo pomocných látkách a usnadňuje míchání s pevnými látkami nebo pevnými pomocnými látkami.

Ikdyž je možné podávat subjektu hemihydrát BrEA jako čistou sloučeninu, obvykle je ve formě pevné formulace nebo je používán pro přípravu tekuté formulace. Formulace jsou typicky používány k přípravě jednotkových dávek, např. tablet, kapslí nebo pastilek pro perorální, bukální nebo sublingvální podání, které obsahuje 10-1000 mg nebo typicky 25-400 mg hemihydrátu BrEA. Nebo provedení zahrnují produkt určený pro parenterální (např. subkutánní, subdermální, intravenózní, intramuskulární, intraperitoneální) podání

přípraveného způsobem, ve kterém dochází ke kontaktu hemihydrátu BrEA a tekuté pomocné látky, např. jakékoliv jedné, dvou, tří nebo více ze skupiny PEG 100, PEG 200, PEG 300, PEG 400, propylenglykolu, benzylbenzoátu, benzylalkoholu nebo ethanolu, a případně sterilizace roztoku a případně dispenzace roztoku do lékovek nebo ampulí (typicky zakalené sklo), které může být k jedinému nebo mnohačetnému použití a případně skladování přípravku při snížené teplotě (0-12°C nebo 2-10°C). Tyto produkty pro parenterální podání typicky obsahují BrEA v koncentraci 10-170 mg/ml, obvykle 20-100 mg/ml nebo 30-100 mg/ml a případně jednu nebo více solí, pufrů nebo bakteriostatik nebo konzervačních prostředků (např. NaCl, BHA, BHT nebo EDTA).

Další provedení zahrnují produkt připravený způsobem, při kterém dochází ke kontaktu hemihydrátu BrEA, který může být v podstatě prostý jiných forem BrEA, s pomocnou látkou vhodnou pro humánní farmaceutické nebo veterinární použití. Produkt je použitelný při výrobě formulací nebo jednotkových dávkovacích forem, které obsahují hemihydrát.

Formulace připravené z hemihydrátu BrEA nebo obsahující hemihydrát BrEA jsou obvykle skladovány za podmínek, které omezují množství vody vnikající do formulace, např. silikagel v uzavřeném kontaineru, ve kterém je formulace uchovávána. Permeace vody charakterizující obaly byla popsána, např. v Containers-Permeation, chapter, USP 23, 1995, *U. S. Pharmacopeial Convention, Inc.*, Rockville, MD, 1787.

Provedení zahrnují přípravky podle vynálezu, které se vyskytují dočasně při provádění určitého kroku nebo operace způsobu podle vynálezu. Například když je sloučenina obecného vzorce (1), např. BrEA obsahující méně než 3% vody uvedena v kontakt s pomocnou látkou, např. PEG, alkoholem, propylenglykolem nebo benzylbenzoátem, je přípravek před přidáním jedné složky k druhé nehomogenní. Po uvedení jednotlivých složek v kontakt se homogenita směsi zvyšuje a vzájemný poměr složek se přibližuje požadovaným hodnotám. Tak přípravky podle předloženého vynálezu, které obsahují méně než 3% vody, mohou obsahovat 0,0001-99% sloučeniny obecného vzorce (1), např. BrEA, a jednu nebo více pomocných látek. Tyto dočasné přípravky jsou meziprodukty, které nutně vznikají při výrobě přípravku nebo formulace podle předloženého vynálezu a jsou zahrnuty do jednotlivých provedení podle předloženého vynálezu, pokud jsou patentovatelné.

Obecně je sloučenina obecného vzorce (1), jež je obsažena v přípravcích a formulacích podle předloženého vynálezu, zcela rozpuštěna v bezvodé pomocné látce.

Nicméně v některých provedeních, jako jsou dočasné přípravky a některé jiné formulace, je sloučenina obecného vzorce (1) částečně rozpuštěna, zatímco zbývající podíl je v pevné formě, např. suspenze nebo koloidu.

Přípravky a formulace podle předloženého vynálezu, které jsou vhodné pro parenterální podání sloučenin obecného vzorce (1) lidským nebo zvířecím subjektům, typicky zahrnují dvě, tři nebo více pomocných látek. Příklady zahrnují (1) jakékoliv dva, tři nebo čtyři propylenglykoly, PEG200, PEG300, ethanoly a benzybenzoáty a (2) jakékoliv dva, tři nebo čtyři propylenglykoly, PEG100, PEG200, PEG300, PEG400 a benzybenzoáty.

Přípravky a formulace podle předloženého vynálezu obecně obsahují 0,01-10% BrEA, obvykle 1-5%, a 0,01-3% vody, typicky 0,05-3%, obvykle 0,1-1%. Formulace podle předloženého vynálezu jsou obvykle ve formě jednotkových nebo vícejednotkových dávek vhodných pro parenterální podání jednou nebo dvakrát za den nebo jednou za 2-3 dny. Jednotkové dávky obsahují 3-1000 mg BrEA na jednotkovou dávku, typicky 5-500 mg, obvykle 10-200 mg. Při působení na retroviry, např. HIV u lidských subjektů, obsahuje jednotková dávka obvykle 10-250 mg BrEA, obvykle 100-200 mg, v objemu asi 1-6 ml, obvykle 2-4 ml.

Provedení předloženého vynálezu zahrnují produkt vyrobený způsobem, ve kterém dochází ke spojení, míchání nebo k jinému kontaktu BrEA a jedné, dvou nebo více pomocných látek. Tyto produkty jsou vyráběny běžnými způsoby, při kterých dochází ke kontaktu jednotlivých složek. Tyto produkty také případně obsahují ředidlo, desintegrátor a pojivo nebo jiné pomocné látky, které jsou popsány v předloženém vynálezu nebo citovány v uvedených odkazech.

Bylo zjištěno, že BrEA v přítomnosti podstatného množství vody epimerizuje v poloze atomu bromu, což má za následek vznik směsi 16 α - a 16 β -BrEA izomeru. Přípravky a formulace podle předloženého vynálezu obsahující BrEA nebo hemihydrát BrEA mají obvykle obsah vody menší než 3%, typicky menší než 0,3%, obvykle menší než 0,1%. Bylo také zjištěno, že právě tyto přípravky a formulace podle předloženého vynálezu mají dobrou stabilitu, pokud jsou skladovány za pokojové teplotě (5-40°C) v uzavřených obalech v porovnání s kontrolními přípravky a formulacemi obsahujícími více vody. Tyto tekuté podíly jsou také charakterizovány nepředvídatelným snížením precipitace sloučeniny, patrně vyvolaným vodou.

Provedení předloženého vynálezu zahrnují přípravky, které obsahují méně než 3% vody, sloučeninu obecného vzorce (1) a sloučeninu, jež obecně není vhodná pro humánní použití, nicméně je použitelná při výrobě formulací podle předloženého vynálezu pro veterinární použití. Veterinární formulace jsou přípravky použitelné pro účely podání přípravků podle předloženého vynálezu primátům, kočkám, psům, koním, krávám, skotu, králíkům a jiným subjektům a mohou obsahovat pomocné látky přijatelné ve veterinární medicíně a jsou slučitelné se sloučeninami obecného vzorce (1), např. BrEA. Veterinární přípravky nemusí být vždy vhodné pro humánní použití, jelikož obsahují pomocnou látku, např. alkohol jiný než ethanol, např. methanol, propanol nebo butanol. Typicky jsou tyto pomocné látky v relativně nízkých hladinách, např. 1-30%, obvykle 1-5%.

Provedení předloženého vynálezu zahrnují přípravky a formulace, např. jednotkové dávkovací formy a sterilní roztoky, které obsahují (1) 1-100 mg/ml sloučenin(y) obecného vzorce (1), 57,5% propylenglykolu, 25% PEG300, 12,5% ethanolu a 5% benzylbenzoátu; (2) 1-60 mg/ml sloučenin(y) obecného vzorce (1), 70% propylenglykolu, 25% PEG300 a 5% benzylbenzoátu; (3) 1-60 mg/ml sloučenin(y) obecného vzorce (1), 25% PEG300, 35% propylenglykolu, 35% manitolu a 5% benzylbenzoátu; (4) 1-60 mg/ml sloučenin(y) obecného vzorce (1), 57,5% propylenglykolu a směsi obsahující 25% PEG300 a PEG200 (např., PEG300: PEG200 v poměru 1:10 až 10:1), 12,5% ethanolu a 5% benzylbenzoátu; (5) 1-60 mg/ml sloučenin(y) obecného vzorce (1), 75% propylenglykolu, směs obsahující 25% PEG300 a PEG200 (např., a PEG300: PEG200 v poměru 1:10 až 10:1) a 5% benzylbenzoátu; (6) 1-60 mg/ml sloučenin(y) obecného vzorce (1), 25% PEG300 a PEG200 (např., PEG300: PEG200 v poměru 1:10 až 10:1), 35% propylenglykolu, 35% manitolu a 5% benzylbenzoátu; (7) kterákoliv z formulací (1) až (6), ve které sloučenina(y) obecného vzorce (1) má 40-55 mg/ml; (8) kterákoliv z formulací (1) až (6), ve které sloučenina(y) obecného vzorce (1) má 30-100 mg/ml; (9) kterákoliv z formulací (1) až (8), ve které jsou obsaženy 1, 2, 3 nebo 4 sloučeniny obecného vzorce (1); (10) kterákoliv z formulací (1) až (8), ve které jsou obsaženy 1 nebo 2 sloučeniny obecného vzorce (1); (11) kterákoliv z formulací (1) až (8), ve které je obsažena 1 sloučenina obecného vzorce (1); (12) kterákoliv z formulací (1) až (11), ve které sloučenina obecného vzorce (1) obsahuje nezávisle 1, 2, 3 z kterýchkoliv substituentů R^1 - R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} nebo R^{18} nezávisle vybraný ester, thioester, karbonát, karbamát, aminokyselinu nebo peptid 1 nebo 2 nezávisle vybraných sloučenin obecného vzorce (1); (13) kterákoliv z formulací (1) až (12), ve které sloučenina obecného vzorce (1) obsahuje nebo je BrEA nebo hemihydrát BrEA; (14)

kterákoliv z formulací (1) až (13), ve které sloučenina obecného vzorce (1) obsahuje nebo je ester, sulfátester nebo fosfoester BrEA.

Další provedení předloženého vynálezu zahrnují produkt získaný skladováním přípravků nebo formulací podle tohoto vynálezu, např. jednotkové dávkovací formy, jakéhokoliv z výše uvedených provedení (1)-(14) nebo přípravky používané k přípravě preparátů, při teplotě 10-40°C po dobu alespoň 3 dnů, např. skladováním při pokojové teplotě po dobu 1-24 měsíců. Formulace podle předloženého vynálezu jsou typicky skladovány po tuto dobu v hermeticky nebo indukčně uzavřených obalech. Přípravky podle předloženého vynálezu budou typicky skladovány v uzavřených obalech. V popisné části a patentových nárocích jsou uvedeny názorné příklady vhodných preparátů a jednotkových dávkových forem pro tato provedení.

Další provedení zahrnují přípravky a formulace sloučenin podle předloženého vynálezu, ve kterých jeden nebo více ze substituentů R^1 - R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} a R^{18} obsahují aminokyselinu nebo peptid, např., substituenty R^1 , R^2 nebo R^4 obsahují aminokyselinu nebo peptid, substituent R^3 je halogen a substituenty R^5 a R^6 jsou oba $-CH_3$. Peptid v jednom nebo více ze substituentů R^1 - R^6 může zahrnovat vazebný peptid buněčného povrchu, např. úplný protein nebo sekvence z fibronectinu nebo retronectinu, např. KQAGDV.

Ve sloučeninách obecného vzorce (1) je každý substituent R^4 nezávisle vybrán. V některých provedeních je jeden substituent R^4 atom vodíku a druhý je další část. V dalších provedeních jsou oba substituenty R^4 nezávisle vybrané části jiné než atom vodíku, např. C_1 - C_{20} organická část.

Substituenty R^1 - R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} a R^{18} zahrnují části, např. estery, thioestery, karbonáty, aminokyseliny, peptidy a/nebo karbamáty, které jsou chemicky a/nebo enzymaticky hydrolyzovatelné, často za fyziologických podmínek. Tyto části jsou nezávisle vybrané. Typicky tyto části dávají vzniknout $-OH$, $-SH$ nebo $-NH_2$ skupinám v polohách substituentů R^1 - R^6 steroidního jádra. Provedení sloučenin obecného vzorce (1) zahrnují ty, ve kterých (1) jeden ze substituentů R^1 , R^2 a R^4 je hydrolyzovatelná část (např., ester, thioester, karbonát, aminokyselina, peptid nebo karbamát), další dva ze substituentů R^1 , R^2 a R^4 jsou atom vodíku, substituent R^3 není atom vodíku a substituenty R^5 a R^6 jsou oba $-CH_3$, (2) dva ze substituentů R^1 , R^2 a R^4 jsou hydrolyzovatelné části (např. nezávisle vybrané estery, thioestery, karbonáty, aminokyseliny, peptidy a/nebo karbamáty), další ze substituentů R^1 , R^2 a R^4 je atom vodíku, substituent R^3 není atom vodíku a substituenty R^5

a R^6 jsou oba CH_3 , (3) substituenty R^1 , R^2 a R^4 jsou hydrolyzovatelné části, substituent R^3 není atom vodíku a substituenty R^5 a R^6 jsou oba $-\text{CH}_3$. V těchto provedeních je substituent R^3 typicky v β -konfiguraci a substituenty R^1 , R^2 a R^4 - R^6 jsou typicky v α -konfiguraci.

V dalších provedeních jeden nebo více ze substituentů R^1 - R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} a R^{18} , obvykle jeden, obsahuje aminokyselinu nebo peptid, zatímco zbývající substituenty jsou nezávisle vybrány z částí definovaných výše. V těchto provedeních jsou peptidy typicky dimery (dipeptidy) nebo trimery (tripeptidy), např. jeden ze substituentů R^1 , R^2 nebo R^4 obsahuje aminokyselinu, zbývající substituenty R^1 , R^2 nebo R^4 nezávisle obsahují $-\text{OH}$, $=\text{O}$, ester, karbonát nebo karbamát, zatímco substituent R^3 je halogen, hydroxylová skupina nebo ester a substituenty R^5 a R^6 jsou nezávisle atom vodíku, $-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2\text{OH}$ nebo $-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2\text{F}$, $-(\text{CH}_2)_{2-4}-\text{O}-(\text{CH}_2)_{2-4}-\text{CH}_3$, kde index n je 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 nebo 8, často 0, 1 nebo 2, obvykle 0. Typicky jsou za fyziologických podmínek ester, karbonát nebo karbamát hydrolyzovatelné.

Hydrolyzovatelné části typicky obsahují acylové skupiny, estery, ethery, thioethery, amidy, aminokyseliny, peptidy, karbonáty a/nebo karbamáty. Obecně nejsou hydrolyzovatelné části rozhodující a mohou se různit. V některých provedeních tyto části obsahují celkově 4 až 10 atomů uhlíku. Tyto hydrolyzovatelné části v jiných provedení obsahují organickou část, která je výše popsána pro ester, jenž obsahuje 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 nebo 12 atomů uhlíku a 1, 2, 3, 4, 5 nebo 6 heteroatomů, např. kyslíku, dusíku nebo síry. Tyto hydrolyzovatelné části nemusejí obsahovat skupiny, které mají náboj v plazmě, krvi, intracelulární cytoplazmě nebo ve střevech, nebo mohou obsahovat 1, 2, 3 nebo více pozitivních, negativních nebo pozitivních a negativních nábojů za jedné nebo více z těchto podmínek. Náboje mohou být částečné v závislosti na skupině a za podmínek, ve kterých se vyskytují. Tyto hydrolyzovatelné části mohou být 1, 2, 3, 4 nebo vícekrát substituované v polohách atomu vodíku(ů) a/nebo atomu uhlíku(ů), např. $-\text{OH}$, chráněná hydroxylová skupina, $-\text{SH}$, chráněná thiolová skupina, karboxylová skupina, chráněná karboxylová skupina, amin, chráněný amin, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{CO}-$, $-\text{CS}-$, alkoxy, alkylthio skupina, alkenyloxy a arylová skupina, $-\text{OP}(\text{O})(\text{O})-\text{O}-$, $-\text{OS}(\text{O})(\text{O})-\text{O}-$ a/nebo heterocyklická skupina. Tyto substituce jsou nezávisle vybrané.

Sloučeniny obecného vzorce (1), které obsahují hydrolyzovatelnou část(i) mohou zahrnovat jednu nebo více skupin vybraných z $-\text{O}-\text{CHR}^{24}\text{C}(\text{O})\text{OR}^{25}$, $-\text{S}-\text{CHR}^{24}\text{C}(\text{O})\text{OR}^{25}$, $-\text{NH}-\text{CHR}^{24}\text{C}(\text{O})\text{OR}^{25}$, $-\text{O}-\text{CHR}^{24}\text{C}(\text{S})\text{OR}^{25}$, $-\text{S}-\text{CHR}^{24}\text{C}(\text{S})\text{OR}^{25}$, $-\text{NH}-\text{CHR}^{24}\text{C}(\text{S})\text{OR}^{25}$,

$-O-CHR^{24}OC(O)R^{25}$, $-S-CHR^{24}OC(O)R^{25}$, $-NH-CHR^{24}OC(O)R^{25}$, $-O-CHR^{24}C(O)N(R^{25})_2$,
 $-S-CHR^{24}C(O)N(R^{25})_2$, $-NH-CHR^{24}C(O)N(R^{25})_2$, $-O-CHR^{24}OR^{25}$, $-S-CHR^{24}OR^{25}$, $-NH-$
 $CHR^{24}OR^{25}$, $-O-CHR^{24}C(R^{25})_2CH_2OX$, $-S-CHR^{24}C(R^{25})_2CH_2OX$, $-NH-$
 $CHR^{24}C(R^{25})_2CH_2OX$, $-O-CHR^{24}C(R^{25})_2OX$, $-S-CHR^{24}C(R^{25})_2OX$ nebo
 $-NH-CHR^{24}C(R^{25})_2OX$, skupiny, které obsahují jeden nebo více ze substituentů R^1 - R^6 , R^{10} ,
 R^{15} , R^{17} a R^{18} . Pro tyto hydrolyzovatelné části je substituent R^{24} nezávisle atom vodíku,
 $-CH_2-C_6H_5$, $-CH_2CH_2-C_6H_5$, C_{1-8} alkylová, C_{2-8} alkenylová, arylová nebo heterocyklická
skupina, kde každá alkylová, alkenylová, arylová skupina a heterocyklová část je nezávisle
případně substituována 1, 2 nebo 3, obvykle 1, skupinami vybranými z $-O-$, $-S-$, $-NH-$,
halogenu, arylové skupiny, $-OX$, $-SX$, NHX , ketonu ($=O$) nebo $-CN$ nebo C_{1-8} alkylová
skupina je případně substituována 3, 4, 5 nebo 6 halogeny a X je atom vodíku nebo a
chránicí skupina. Názorné příklady substituentu R^{24} zahrnují atom vodíku, $-CH_3$, $-C_2H_5$, $-$
 CH_2-C_{1-5} případně substituovanou alkylovou skupinu, $-CH_2CH_2-C_{1-4}$ případně
substituovanou alkylovou skupinu a $-CH_2CH_2-O-C_{1-4}$ případně substituovanou alkylovou
skupinu. Substituent R^{25} je nezávisle atom vodíku, $-CH_2-C_6H_5$, $-CH_2CH_2-C_6H_5$, C_{1-}
 12 alkylová skupina, C_{2-12} alkenylová skupina, arylová, heterocyklická, $-CH_2$ -heterocyklická
nebo $-CH_2$ -arylová skupina, kde každá alkylová, alkenylová, arylová, heterocyklická,
 $-CH_2$ -heterocyklická nebo $-CH_2$ -arylová skupina je nezávisle případně substituovaná 1
nebo 2, obvykle 1, skupinami vybranými z $-O-$, $-S-$, $-NH-$, halogenu, arylové skupiny, $-$
 OX , $-SX$, $-NHX$, ketonu ($=O$), $-C(O)OX$ nebo $-CN$ nebo C_{1-12} alkylové, C_{2-12} alkenylové
nebo arylové skupiny, jsou případně nezávisle substituované 3, 4, 5 nebo 6 halogeny, kde
 X je atom vodíku nebo chránicí skupina nebo arylová skupina, heterocyklická, $-CH_2$ -
heterocyklická nebo $-CH_2$ -arylová skupina jsou případně nezávisle substituované 1, 2 nebo
3 C_{1-4} alkylovými skupinami nebo 1, 2 nebo 3 C_{1-4} alkoxy skupinami na arylové skupině
nebo v heterocyklické skupině, obvykle na atomech uhlíku kruhu. Názorné příklady
substituentu R^{25} zahrnují atom vodíku, $-CH_3$, $-C_2H_5$, $-C_3H_7$, $-C_4H_9$, $-C_6H_{13}$, $-C_6H_5$, $-$
 C_6H_4OH , $-C_6H_4OCH_3$, $-C_6H_4F$, $-CH_2-C_{1-5}$ případně substituované alkylovou skupinou, $-$
 $CH_2CH_2-C_{1-4}$ případně substituovanou alkylovou skupinou a $-CH_2CH_2-O-C_{1-4}$ případně
substituovanou alkylovou skupinou.

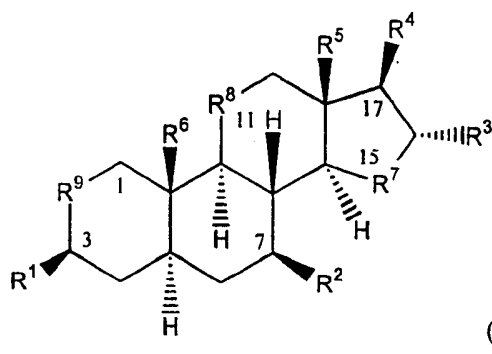
Provedení sloučenin obecného vzorce (1) zahrnují nebo vylučují jakoukoliv
podskupinu sloučenin v rozsahu definice obecného vzorce (1) za předpokladu, že alespoň
jeden sloučenina zbývá. Například podskupina sloučenin obecného vzorce (1), které jsou
obvykle zahrnuty, např. bezvodé formulace podle předloženého vynálezu a v

intermitentním dávkováním podle předloženého vynálezu a způsobech imunitní modulace, jsou sloučeniny obecného vzorce (1), kde substituent R^2 je hydroxylová skupina nebo skupina, která se může hydrolyzovat na hydroxylovou skupinu, v jakékoliv konfiguraci a substituenty R^5 a R^6 jsou methylová skupina v α -konfiguraci. Podskupina sloučenin, která je případně vyloučena ze sloučenin obecného vzorce (1), zahrnuje jednu nebo více sloučenin, které jsou uvedeny v jednom nebo více odkazech nebo publikacích o dosavadním stavu techniky, např. jednu nebo více sloučenin, které jsou uvedeny v jednom nebo více zde citovaných odkazech, zejména ty sloučeniny, které mohou činit kterýkoliv nárok nebo provedení nepatentovatelným z důvodu novosti, zřejmosti a/nebo vynálezecké činnosti.

Příklady konkrétních a obecných typů sloučenin obecného vzorce (1) jsou označeny čísly, jak je uvedeno dále.

Skupina 1

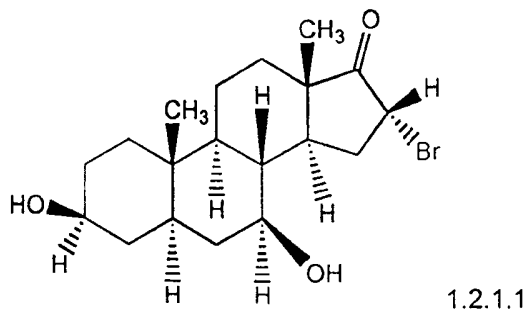
Příkladná provedení zahrnují sloučeniny obecného vzorce (1) nazvané podle označení struktury sloučeniny uvedených dále v tabulkách A a B. Každá sloučenina uvedená v tabulce B je zobrazena jako sloučenina mající obecný vzorec (B)



ve kterém jsou substituent R^5 a R^6 oba $-\text{CH}_3$, v polohách 1-2-, 4-5- nebo 5-6- není dvojná vazba, jeden substituent R^4 je atom vodíku, všechny substituenty R^7 , R^8 a R^9 jsou $-\text{CH}_2-$ a substituenty R^1 , R^2 , R^3 a R^4 jsou substituenty uvedené v tabulce A. Sloučeniny nazvané podle tabulek A a B se označují jako sloučeniny „skupiny 1“.

Sloučeniny uvedené v tabulce B jsou označeny číslem přiděleným substituentům R^1 , R^2 , R^3 a R^4 podle konvence $R^1.R^2.R^3.R^4$ na základě očíslovaných chemických substituentů uvedených v tabulce A. Každé číslo v tabulce A určuje odlišnou strukturu pro každý ze substituentů R^1 , R^2 , R^3 nebo R^4 . Pokud je substituent R^1 , R^2 , R^3 nebo R^4

divalentní část, např. =O, tak atom vodíku v odpovídající poloze chybí. Tudíž sloučenina skupiny 1 označená 1.2.1.1 má strukturu obecného vzorce (B) s β -hydroxylovou skupinou vázanou na atomy uhlíku v polohách 3 a 7 (variabilní substituenty R^1 a R^2) α -brom vázaný na uhlíku 16 (variabilní substituent R^3) a atom kyslíku vázaný dvojnou vazbou (=O) na uhlíku 17 (variabilní substituent R^4), tzn. 1.2.1.1 má strukturu uvedenou níže



Tabulka A

R^1	R^2
1 -OH	1 -H
2 =O	2 -OH
3 -SH	3 =O
4 =S	4 -CH ₃
5 -O-CH ₃	5 -OCH ₃
6 -O-S(O)(O)-O ⁻ Na ⁺	6 -OC ₂ H ₅
7 -O-S(O)(O)-OC ₂ H ₅	7 -OCH ₂ CH ₂ CH ₃
8 -CH ₃	8 -OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃
9 -H	9 -Cl
10 -OC(O)C(CH ₃) ₃	10 -Br
R^3	R^4
1 -Br	1 =O
2 -Cl	2 -OH
3 -I	3 -H
4 -F	4 -F
5 -H	5 -Cl
6 -OH	6 -Br
7 =O	7 -I
8 -O-C(O)-CH ₃	8 -O-C(O)-CH ₃
9 -O-C(O)-CH ₂ CH ₃	9 -O-C(O)-CH ₂ CH ₃
10 -O-C(O)-CH ₂ CH ₂ CH ₃	10 -O-C(O)-CH ₂ CH ₂ CH ₃

Tabulka B

1.1.1.1, 1.1.1.2, 1.1.1.3, 1.1.1.4, 1.1.1.5, 1.1.1.6, 1.1.1.7, 1.1.1.8, 1.1.1.9, 1.1.1.10, 1.1.2.1,
 1.1.2.2, 1.1.2.3, 1.1.2.4, 1.1.2.5, 1.1.2.6, 1.1.2.7, 1.1.2.8, 1.1.2.9, 1.1.2.10, 1.1.3.1, 1.1.3.2,
 1.1.3.3, 1.1.3.4, 1.1.3.5, 1.1.3.6, 1.1.3.7, 1.1.3.8, 1.1.3.9, 1.1.3.10, 1.1.4.1, 1.1.4.2, 1.1.4.3,
 1.1.4.4, 1.1.4.5, 1.1.4.6, 1.1.4.7, 1.1.4.8, 1.1.4.9, 1.1.4.10, 1.1.5.1, 1.1.5.2, 1.1.5.3, 1.1.5.4,
 1.1.5.5, 1.1.5.6, 1.1.5.7, 1.1.5.8, 1.1.5.9, 1.1.5.10, 1.1.6.1, 1.1.6.2, 1.1.6.3, 1.1.6.4, 1.1.6.5,
 1.1.6.6, 1.1.6.7, 1.1.6.8, 1.1.6.9, 1.1.6.10, 1.1.7.1, 1.1.7.2, 1.1.7.3, 1.1.7.4, 1.1.7.5, 1.1.7.6,
 1.1.7.7, 1.1.7.8, 1.1.7.9, 1.1.7.10, 1.1.8.1, 1.1.8.2, 1.1.8.3, 1.1.8.4, 1.1.8.5, 1.1.8.6, 1.1.8.7,
 1.1.8.8, 1.1.8.9, 1.1.8.10, 1.1.9.1, 1.1.9.2, 1.1.9.3, 1.1.9.4, 1.1.9.5, 1.1.9.6, 1.1.9.7, 1.1.9.8,
 1.1.9.9, 1.1.9.10, 1.1.10.1, 1.1.10.2, 1.1.10.3, 1.1.10.4, 1.1.10.5, 1.1.10.6, 1.1.10.7,
 1.1.10.8, 1.1.10.9, 1.1.10.10, 1.2.1.1, 1.2.1.2, 1.2.1.3, 1.2.1.4, 1.2.1.5, 1.2.1.6, 1.2.1.7,
 1.2.1.8, 1.2.1.9, 1.2.1.10, 1.2.2.1, 1.2.2.2, 1.2.2.3, 1.2.2.4, 1.2.2.5, 1.2.2.6, 1.2.2.7, 1.2.2.8,
 1.2.2.9, 1.2.2.10, 1.2.3.1, 1.2.3.2, 1.2.3.3, 1.2.3.4, 1.2.3.5, 1.2.3.6, 1.2.3.7, 1.2.3.8, 1.2.3.9,
 1.2.3.10, 1.2.4.1, 1.2.4.2, 1.2.4.3, 1.2.4.4, 1.2.4.5, 1.2.4.6, 1.2.4.7, 1.2.4.8, 1.2.4.9, 1.2.4.10,
 1.2.5.1, 1.2.5.2, 1.2.5.3, 1.2.5.4, 1.2.5.5, 1.2.5.6, 1.2.5.7, 1.2.5.8, 1.2.5.9, 1.2.5.10, 1.2.6.1,
 1.2.6.2, 1.2.6.3, 1.2.6.4, 1.2.6.5, 1.2.6.6, 1.2.6.7, 1.2.6.8, 1.2.6.9, 1.2.6.10, 1.2.7.1, 1.2.7.2,
 1.2.7.3, 1.2.7.4, 1.2.7.5, 1.2.7.6, 1.2.7.7, 1.2.7.8, 1.2.7.9, 1.2.7.10, 1.2.8.1, 1.2.8.2, 1.2.8.3,
 1.2.8.4, 1.2.8.5, 1.2.8.6, 1.2.8.7, 1.2.8.8, 1.2.8.9, 1.2.8.10, 1.2.9.1, 1.2.9.2, 1.2.9.3, 1.2.9.4,
 1.2.9.5, 1.2.9.6, 1.2.9.7, 1.2.9.8, 1.2.9.9, 1.2.9.10, 1.2.10.1, 1.2.10.2, 1.2.10.3, 1.2.10.4,
 1.2.10.5, 1.2.10.6, 1.2.10.7, 1.2.10.8, 1.2.10.9, 1.2.10.10, 1.3.1.1, 1.3.1.2, 1.3.1.3, 1.3.1.4,
 1.3.1.5, 1.3.1.6, 1.3.1.7, 1.3.1.8, 1.3.1.9, 1.3.1.10, 1.3.2.1, 1.3.2.2, 1.3.2.3, 1.3.2.4, 1.3.2.5,
 1.3.2.6, 1.3.2.7, 1.3.2.8, 1.3.2.9, 1.3.2.10, 1.3.3.1, 1.3.3.2, 1.3.3.3, 1.3.3.4, 1.3.3.5, 1.3.3.6,
 1.3.3.7, 1.3.3.8, 1.3.3.9, 1.3.3.10, 1.3.4.1, 1.3.4.2, 1.3.4.3, 1.3.4.4, 1.3.4.5, 1.3.4.6, 1.3.4.7,
 1.3.4.8, 1.3.4.9, 1.3.4.10, 1.3.5.1, 1.3.5.2, 1.3.5.3, 1.3.5.4, 1.3.5.5, 1.3.5.6, 1.3.5.7, 1.3.5.8,
 1.3.5.9, 1.3.5.10, 1.3.6.1, 1.3.6.2, 1.3.6.3, 1.3.6.4, 1.3.6.5, 1.3.6.6, 1.3.6.7, 1.3.6.8, 1.3.6.9,
 1.3.6.10, 1.3.7.1, 1.3.7.2, 1.3.7.3, 1.3.7.4, 1.3.7.5, 1.3.7.6, 1.3.7.7, 1.3.7.8, 1.3.7.9, 1.3.7.10,
 1.3.8.1, 1.3.8.2, 1.3.8.3, 1.3.8.4, 1.3.8.5, 1.3.8.6, 1.3.8.7, 1.3.8.8, 1.3.8.9, 1.3.8.10, 1.3.9.1,
 1.3.9.2, 1.3.9.3, 1.3.9.4, 1.3.9.5, 1.3.9.6, 1.3.9.7, 1.3.9.8, 1.3.9.9, 1.3.9.10, 1.3.10.1,
 1.3.10.2, 1.3.10.3, 1.3.10.4, 1.3.10.5, 1.3.10.6, 1.3.10.7, 1.3.10.8, 1.3.10.9, 1.3.10.10,
 1.4.1.1, 1.4.1.2, 1.4.1.3, 1.4.1.4, 1.4.1.5, 1.4.1.6, 1.4.1.7, 1.4.1.8, 1.4.1.9, 1.4.1.10, 1.4.2.1,
 1.4.2.2, 1.4.2.3, 1.4.2.4, 1.4.2.5, 1.4.2.6, 1.4.2.7, 1.4.2.8, 1.4.2.9, 1.4.2.10, 1.4.3.1, 1.4.3.2,
 1.4.3.3, 1.4.3.4, 1.4.3.5, 1.4.3.6, 1.4.3.7, 1.4.3.8, 1.4.3.9, 1.4.3.10, 1.4.4.1, 1.4.4.2, 1.4.4.3,

[illegible]

1.7.9.9, 1.7.9.10, 1.7.10.1, 1.7.10.2, 1.7.10.3, 1.7.10.4, 1.7.10.5, 1.7.10.6, 1.7.10.7, 1.7.10.8, 1.7.10.9, 1.7.10.10, 1.8.1.1, 1.8.1.2, 1.8.1.3, 1.8.1.4, 1.8.1.5, 1.8.1.6, 1.8.1.7, 1.8.1.8, 1.8.1.9, 1.8.1.10, 1.8.2.1, 1.8.2.2, 1.8.2.3, 1.8.2.4, 1.8.2.5, 1.8.2.6, 1.8.2.7, 1.8.2.8, 1.8.2.9, 1.8.2.10, 1.8.3.1, 1.8.3.2, 1.8.3.3, 1.8.3.4, 1.8.3.5, 1.8.3.6, 1.8.3.7, 1.8.3.8, 1.8.3.9, 1.8.3.10, 1.8.4.1, 1.8.4.2, 1.8.4.3, 1.8.4.4, 1.8.4.5, 1.8.4.6, 1.8.4.7, 1.8.4.8, 1.8.4.9, 1.8.4.10, 1.8.5.1, 1.8.5.2, 1.8.5.3, 1.8.5.4, 1.8.5.5, 1.8.5.6, 1.8.5.7, 1.8.5.8, 1.8.5.9, 1.8.5.10, 1.8.6.1, 1.8.6.2, 1.8.6.3, 1.8.6.4, 1.8.6.5, 1.8.6.6, 1.8.6.7, 1.8.6.8, 1.8.6.9, 1.8.6.10, 1.8.7.1, 1.8.7.2, 1.8.7.3, 1.8.7.4, 1.8.7.5, 1.8.7.6, 1.8.7.7, 1.8.7.8, 1.8.7.9, 1.8.7.10, 1.8.8.1, 1.8.8.2, 1.8.8.3, 1.8.8.4, 1.8.8.5, 1.8.8.6, 1.8.8.7, 1.8.8.8, 1.8.8.9, 1.8.8.10, 1.8.9.1, 1.8.9.2, 1.8.9.3, 1.8.9.4, 1.8.9.5, 1.8.9.6, 1.8.9.7, 1.8.9.8, 1.8.9.9, 1.8.9.10, 1.8.10.1, 1.8.10.2, 1.8.10.3, 1.8.10.4, 1.8.10.5, 1.8.10.6, 1.8.10.7, 1.8.10.8, 1.8.10.9, 1.8.10.10, 1.9.1.1, 1.9.1.2, 1.9.1.3, 1.9.1.4, 1.9.1.5, 1.9.1.6, 1.9.1.7, 1.9.1.8, 1.9.1.9, 1.9.1.10, 1.9.2.1, 1.9.2.2, 1.9.2.3, 1.9.2.4, 1.9.2.5, 1.9.2.6, 1.9.2.7, 1.9.2.8, 1.9.2.9, 1.9.2.10, 1.9.3.1, 1.9.3.2, 1.9.3.3, 1.9.3.4, 1.9.3.5, 1.9.3.6, 1.9.3.7, 1.9.3.8, 1.9.3.9, 1.9.3.10, 1.9.4.1, 1.9.4.2, 1.9.4.3, 1.9.4.4, 1.9.4.5, 1.9.4.6, 1.9.4.7, 1.9.4.8, 1.9.4.9, 1.9.4.10, 1.9.5.1, 1.9.5.2, 1.9.5.3, 1.9.5.4, 1.9.5.5, 1.9.5.6, 1.9.5.7, 1.9.5.8, 1.9.5.9, 1.9.5.10, 1.9.6.1, 1.9.6.2, 1.9.6.3, 1.9.6.4, 1.9.6.5, 1.9.6.6, 1.9.6.7, 1.9.6.8, 1.9.6.9, 1.9.6.10, 1.9.7.1, 1.9.7.2, 1.9.7.3, 1.9.7.4, 1.9.7.5, 1.9.7.6, 1.9.7.7, 1.9.7.8, 1.9.7.9, 1.9.7.10, 1.9.8.1, 1.9.8.2, 1.9.8.3, 1.9.8.4, 1.9.8.5, 1.9.8.6, 1.9.8.7, 1.9.8.8, 1.9.8.9, 1.9.8.10, 1.9.9.1, 1.9.9.2, 1.9.9.3, 1.9.9.4, 1.9.9.5, 1.9.9.6, 1.9.9.7, 1.9.9.8, 1.9.9.9, 1.9.9.10, 1.9.10.1, 1.9.10.2, 1.9.10.3, 1.9.10.4, 1.9.10.5, 1.9.10.6, 1.9.10.7, 1.9.10.8, 1.9.10.9, 1.9.10.10, 1.10.1.1, 1.10.1.2, 1.10.1.3, 1.10.1.4, 1.10.1.5, 1.10.1.6, 1.10.1.7, 1.10.1.8, 1.10.1.9, 1.10.1.10, 1.10.2.1, 1.10.2.2, 1.10.2.3, 1.10.2.4, 1.10.2.5, 1.10.2.6, 1.10.2.7, 1.10.2.8, 1.10.2.9, 1.10.2.10, 1.10.3.1, 1.10.3.2, 1.10.3.3, 1.10.3.4, 1.10.3.5, 1.10.3.6, 1.10.3.7, 1.10.3.8, 1.10.3.9, 1.10.3.10, 1.10.4.1, 1.10.4.2, 1.10.4.3, 1.10.4.4, 1.10.4.5, 1.10.4.6, 1.10.4.7, 1.10.4.8, 1.10.4.9, 1.10.4.10, 1.10.5.1, 1.10.5.2, 1.10.5.3, 1.10.5.4, 1.10.5.5, 1.10.5.6, 1.10.5.7, 1.10.5.8, 1.10.5.9, 1.10.5.10, 1.10.6.1, 1.10.6.2, 1.10.6.3, 1.10.6.4, 1.10.6.5, 1.10.6.6, 1.10.6.7, 1.10.6.8, 1.10.6.9, 1.10.6.10, 1.10.7.1, 1.10.7.2, 1.10.7.3, 1.10.7.4, 1.10.7.5, 1.10.7.6, 1.10.7.7, 1.10.7.8, 1.10.7.9, 1.10.7.10, 1.10.8.1, 1.10.8.2, 1.10.8.3, 1.10.8.4, 1.10.8.5, 1.10.8.6, 1.10.8.7, 1.10.8.8, 1.10.8.9, 1.10.8.10, 1.10.9.1, 1.10.9.2, 1.10.9.3, 1.10.9.4, 1.10.9.5, 1.10.9.6, 1.10.9.7, 1.10.9.8, 1.10.9.9, 1.10.9.10, 1.10.10.1, 1.10.10.2, 1.10.10.3, 1.10.10.4, 1.10.10.5, 1.10.10.6, 1.10.10.7, 1.10.10.8, 1.10.10.9, 1.10.10.10, 2.1.1.1, 2.1.1.2, 2.1.1.3, 2.1.1.4, 2.1.1.5, 2.1.1.6, 2.1.1.7, 2.1.1.8, 2.1.1.9, 2.1.1.10, 2.1.2.1, 2.1.2.2, 2.1.2.3, 2.1.2.4, 2.1.2.5, 2.1.2.6, 2.1.2.7, 2.1.2.8, 2.1.2.9,

2.1.2.10, 2.1.3.1, 2.1.3.2, 2.1.3.3, 2.1.3.4, 2.1.3.5, 2.1.3.6, 2.1.3.7, 2.1.3.8, 2.1.3.9, 2.1.3.10,
 2.1.4.1, 2.1.4.2, 2.1.4.3, 2.1.4.4, 2.1.4.5, 2.1.4.6, 2.1.4.7, 2.1.4.8, 2.1.4.9, 2.1.4.10, 2.1.5.1,
 2.1.5.2, 2.1.5.3, 2.1.5.4, 2.1.5.5, 2.1.5.6, 2.1.5.7, 2.1.5.8, 2.1.5.9, 2.1.5.10, 2.1.6.1, 2.1.6.2,
 2.1.6.3, 2.1.6.4, 2.1.6.5, 2.1.6.6, 2.1.6.7, 2.1.6.8, 2.1.6.9, 2.1.6.10, 2.1.7.1, 2.1.7.2, 2.1.7.3,
 2.1.7.4, 2.1.7.5, 2.1.7.6, 2.1.7.7, 2.1.7.8, 2.1.7.9, 2.1.7.10, 2.1.8.1, 2.1.8.2, 2.1.8.3, 2.1.8.4,
 2.1.8.5, 2.1.8.6, 2.1.8.7, 2.1.8.8, 2.1.8.9, 2.1.8.10, 2.1.9.1, 2.1.9.2, 2.1.9.3, 2.1.9.4, 2.1.9.5,
 2.1.9.6, 2.1.9.7, 2.1.9.8, 2.1.9.9, 2.1.9.10, 2.1.10.1, 2.1.10.2, 2.1.10.3, 2.1.10.4, 2.1.10.5,
 2.1.10.6, 2.1.10.7, 2.1.10.8, 2.1.10.9, 2.1.10.10, 2.2.1.1, 2.2.1.2, 2.2.1.3, 2.2.1.4, 2.2.1.5,
 2.2.1.6, 2.2.1.7, 2.2.1.8, 2.2.1.9, 2.2.1.10, 2.2.2.1, 2.2.2.2, 2.2.2.3, 2.2.2.4, 2.2.2.5, 2.2.2.6,
 2.2.2.7, 2.2.2.8, 2.2.2.9, 2.2.2.10, 2.2.3.1, 2.2.3.2, 2.2.3.3, 2.2.3.4, 2.2.3.5, 2.2.3.6, 2.2.3.7,
 2.2.3.8, 2.2.3.9, 2.2.3.10, 2.2.4.1, 2.2.4.2, 2.2.4.3, 2.2.4.4, 2.2.4.5, 2.2.4.6, 2.2.4.7, 2.2.4.8,
 2.2.4.9, 2.2.4.10, 2.2.5.1, 2.2.5.2, 2.2.5.3, 2.2.5.4, 2.2.5.5, 2.2.5.6, 2.2.5.7, 2.2.5.8, 2.2.5.9,
 2.2.5.10, 2.2.6.1, 2.2.6.2, 2.2.6.3, 2.2.6.4, 2.2.6.5, 2.2.6.6, 2.2.6.7, 2.2.6.8, 2.2.6.9, 2.2.6.10,
 2.2.7.1, 2.2.7.2, 2.2.7.3, 2.2.7.4, 2.2.7.5, 2.2.7.6, 2.2.7.7, 2.2.7.8, 2.2.7.9, 2.2.7.10, 2.2.8.1,
 2.2.8.2, 2.2.8.3, 2.2.8.4, 2.2.8.5, 2.2.8.6, 2.2.8.7, 2.2.8.8, 2.2.8.9, 2.2.8.10, 2.2.9.1, 2.2.9.2,
 2.2.9.3, 2.2.9.4, 2.2.9.5, 2.2.9.6, 2.2.9.7, 2.2.9.8, 2.2.9.9, 2.2.9.10, 2.2.10.1, 2.2.10.2,
 2.2.10.3, 2.2.10.4, 2.2.10.5, 2.2.10.6, 2.2.10.7, 2.2.10.8, 2.2.10.9, 2.2.10.10, 2.3.1.1,
 2.3.1.2, 2.3.1.3, 2.3.1.4, 2.3.1.5, 2.3.1.6, 2.3.1.7, 2.3.1.8, 2.3.1.9, 2.3.1.10, 2.3.2.1, 2.3.2.2,
 2.3.2.3, 2.3.2.4, 2.3.2.5, 2.3.2.6, 2.3.2.7, 2.3.2.8, 2.3.2.9, 2.3.2.10, 2.3.3.1, 2.3.3.2, 2.3.3.3,
 2.3.3.4, 2.3.3.5, 2.3.3.6, 2.3.3.7, 2.3.3.8, 2.3.3.9, 2.3.3.10, 2.3.4.1, 2.3.4.2, 2.3.4.3, 2.3.4.4,
 2.3.4.5, 2.3.4.6, 2.3.4.7, 2.3.4.8, 2.3.4.9, 2.3.4.10, 2.3.5.1, 2.3.5.2, 2.3.5.3, 2.3.5.4, 2.3.5.5,
 2.3.5.6, 2.3.5.7, 2.3.5.8, 2.3.5.9, 2.3.5.10, 2.3.6.1, 2.3.6.2, 2.3.6.3, 2.3.6.4, 2.3.6.5, 2.3.6.6,
 2.3.6.7, 2.3.6.8, 2.3.6.9, 2.3.6.10, 2.3.7.1, 2.3.7.2, 2.3.7.3, 2.3.7.4, 2.3.7.5, 2.3.7.6, 2.3.7.7,
 2.3.7.8, 2.3.7.9, 2.3.7.10, 2.3.8.1, 2.3.8.2, 2.3.8.3, 2.3.8.4, 2.3.8.5, 2.3.8.6, 2.3.8.7, 2.3.8.8,
 2.3.8.9, 2.3.8.10, 2.3.9.1, 2.3.9.2, 2.3.9.3, 2.3.9.4, 2.3.9.5, 2.3.9.6, 2.3.9.7, 2.3.9.8, 2.3.9.9,
 2.3.9.10, 2.3.10.1, 2.3.10.2, 2.3.10.3, 2.3.10.4, 2.3.10.5, 2.3.10.6, 2.3.10.7, 2.3.10.8,
 2.3.10.9, 2.3.10.10, 2.4.1.1, 2.4.1.2, 2.4.1.3, 2.4.1.4, 2.4.1.5, 2.4.1.6, 2.4.1.7, 2.4.1.8,
 2.4.1.9, 2.4.1.10, 2.4.2.1, 2.4.2.2, 2.4.2.3, 2.4.2.4, 2.4.2.5, 2.4.2.6, 2.4.2.7, 2.4.2.8, 2.4.2.9,
 2.4.2.10, 2.4.3.1, 2.4.3.2, 2.4.3.3, 2.4.3.4, 2.4.3.5, 2.4.3.6, 2.4.3.7, 2.4.3.8, 2.4.3.9, 2.4.3.10,
 2.4.4.1, 2.4.4.2, 2.4.4.3, 2.4.4.4, 2.4.4.5, 2.4.4.6, 2.4.4.7, 2.4.4.8, 2.4.4.9, 2.4.4.10, 2.4.5.1,
 2.4.5.2, 2.4.5.3, 2.4.5.4, 2.4.5.5, 2.4.5.6, 2.4.5.7, 2.4.5.8, 2.4.5.9, 2.4.5.10, 2.4.6.1, 2.4.6.2,
 2.4.6.3, 2.4.6.4, 2.4.6.5, 2.4.6.6, 2.4.6.7, 2.4.6.8, 2.4.6.9, 2.4.6.10, 2.4.7.1, 2.4.7.2, 2.4.7.3,
 2.4.7.4, 2.4.7.5, 2.4.7.6, 2.4.7.7, 2.4.7.8, 2.4.7.9, 2.4.7.10, 2.4.8.1, 2.4.8.2, 2.4.8.3, 2.4.8.4,

[illegible]

2.8.3.8, 2.8.3.9, 2.8.3.10, 2.8.4.1, 2.8.4.2, 2.8.4.3, 2.8.4.4, 2.8.4.5, 2.8.4.6, 2.8.4.7, 2.8.4.8,
 2.8.4.9, 2.8.4.10, 2.8.5.1, 2.8.5.2, 2.8.5.3, 2.8.5.4, 2.8.5.5, 2.8.5.6, 2.8.5.7, 2.8.5.8, 2.8.5.9,
 2.8.5.10, 2.8.6.1, 2.8.6.2, 2.8.6.3, 2.8.6.4, 2.8.6.5, 2.8.6.6, 2.8.6.7, 2.8.6.8, 2.8.6.9, 2.8.6.10,
 2.8.7.1, 2.8.7.2, 2.8.7.3, 2.8.7.4, 2.8.7.5, 2.8.7.6, 2.8.7.7, 2.8.7.8, 2.8.7.9, 2.8.7.10, 2.8.8.1,
 2.8.8.2, 2.8.8.3, 2.8.8.4, 2.8.8.5, 2.8.8.6, 2.8.8.7, 2.8.8.8, 2.8.8.9, 2.8.8.10, 2.8.9.1, 2.8.9.2,
 2.8.9.3, 2.8.9.4, 2.8.9.5, 2.8.9.6, 2.8.9.7, 2.8.9.8, 2.8.9.9, 2.8.9.10, 2.8.10.1, 2.8.10.2,
 2.8.10.3, 2.8.10.4, 2.8.10.5, 2.8.10.6, 2.8.10.7, 2.8.10.8, 2.8.10.9, 2.8.10.10, 2.9.1.1,
 2.9.1.2, 2.9.1.3, 2.9.1.4, 2.9.1.5, 2.9.1.6, 2.9.1.7, 2.9.1.8, 2.9.1.9, 2.9.1.10, 2.9.2.1, 2.9.2.2,
 2.9.2.3, 2.9.2.4, 2.9.2.5, 2.9.2.6, 2.9.2.7, 2.9.2.8, 2.9.2.9, 2.9.2.10, 2.9.3.1, 2.9.3.2, 2.9.3.3,
 2.9.3.4, 2.9.3.5, 2.9.3.6, 2.9.3.7, 2.9.3.8, 2.9.3.9, 2.9.3.10, 2.9.4.1, 2.9.4.2, 2.9.4.3, 2.9.4.4,
 2.9.4.5, 2.9.4.6, 2.9.4.7, 2.9.4.8, 2.9.4.9, 2.9.4.10, 2.9.5.1, 2.9.5.2, 2.9.5.3, 2.9.5.4, 2.9.5.5,
 2.9.5.6, 2.9.5.7, 2.9.5.8, 2.9.5.9, 2.9.5.10, 2.9.6.1, 2.9.6.2, 2.9.6.3, 2.9.6.4, 2.9.6.5, 2.9.6.6,
 2.9.6.7, 2.9.6.8, 2.9.6.9, 2.9.6.10, 2.9.7.1, 2.9.7.2, 2.9.7.3, 2.9.7.4, 2.9.7.5, 2.9.7.6, 2.9.7.7,
 2.9.7.8, 2.9.7.9, 2.9.7.10, 2.9.8.1, 2.9.8.2, 2.9.8.3, 2.9.8.4, 2.9.8.5, 2.9.8.6, 2.9.8.7, 2.9.8.8,
 2.9.8.9, 2.9.8.10, 2.9.9.1, 2.9.9.2, 2.9.9.3, 2.9.9.4, 2.9.9.5, 2.9.9.6, 2.9.9.7, 2.9.9.8, 2.9.9.9,
 2.9.9.10, 2.9.10.1, 2.9.10.2, 2.9.10.3, 2.9.10.4, 2.9.10.5, 2.9.10.6, 2.9.10.7, 2.9.10.8,
 2.9.10.9, 2.9.10.10, 2.10.1.1, 2.10.1.2, 2.10.1.3, 2.10.1.4, 2.10.1.5, 2.10.1.6, 2.10.1.7,
 2.10.1.8, 2.10.1.9, 2.10.1.10, 2.10.2.1, 2.10.2.2, 2.10.2.3, 2.10.2.4, 2.10.2.5, 2.10.2.6,
 2.10.2.7, 2.10.2.8, 2.10.2.9, 2.10.2.10, 2.10.3.1, 2.10.3.2, 2.10.3.3, 2.10.3.4, 2.10.3.5,
 2.10.3.6, 2.10.3.7, 2.10.3.8, 2.10.3.9, 2.10.3.10, 2.10.4.1, 2.10.4.2, 2.10.4.3, 2.10.4.4,
 2.10.4.5, 2.10.4.6, 2.10.4.7, 2.10.4.8, 2.10.4.9, 2.10.4.10, 2.10.5.1, 2.10.5.2, 2.10.5.3,
 2.10.5.4, 2.10.5.5, 2.10.5.6, 2.10.5.7, 2.10.5.8, 2.10.5.9, 2.10.5.10, 2.10.6.1, 2.10.6.2,
 2.10.6.3, 2.10.6.4, 2.10.6.5, 2.10.6.6, 2.10.6.7, 2.10.6.8, 2.10.6.9, 2.10.6.10, 2.10.7.1,
 2.10.7.2, 2.10.7.3, 2.10.7.4, 2.10.7.5, 2.10.7.6, 2.10.7.7, 2.10.7.8, 2.10.7.9, 2.10.7.10,
 2.10.8.1, 2.10.8.2, 2.10.8.3, 2.10.8.4, 2.10.8.5, 2.10.8.6, 2.10.8.7, 2.10.8.8, 2.10.8.9,
 2.10.8.10, 2.10.9.1, 2.10.9.2, 2.10.9.3, 2.10.9.4, 2.10.9.5, 2.10.9.6, 2.10.9.7, 2.10.9.8,
 2.10.9.9, 2.10.9.10, 2.10.10.1, 2.10.10.2, 2.10.10.3, 2.10.10.4, 2.10.10.5, 2.10.10.6,
 2.10.10.7, 2.10.10.8, 2.10.10.9, 2.10.10.10, 3.1.1.1, 3.1.1.2, 3.1.1.3, 3.1.1.4, 3.1.1.5,
 3.1.1.6, 3.1.1.7, 3.1.1.8, 3.1.1.9, 3.1.1.10, 3.1.2.1, 3.1.2.2, 3.1.2.3, 3.1.2.4, 3.1.2.5, 3.1.2.6,
 3.1.2.7, 3.1.2.8, 3.1.2.9, 3.1.2.10, 3.1.3.1, 3.1.3.2, 3.1.3.3, 3.1.3.4, 3.1.3.5, 3.1.3.6, 3.1.3.7,
 3.1.3.8, 3.1.3.9, 3.1.3.10, 3.1.4.1, 3.1.4.1, 3.1.4.1, 3.1.4.1, 3.1.4.1, 3.1.4.1, 3.1.4.1,
 3.1.4.1, 3.1.4.1, 3.1.5.1, 3.1.5.1, 3.1.5.1, 3.1.5.1, 3.1.5.1, 3.1.5.1, 3.1.5.1, 3.1.5.1,
 3.1.5.1, 3.1.6.1, 3.1.6.1, 3.1.6.1, 3.1.6.1, 3.1.6.1, 3.1.6.1, 3.1.6.1, 3.1.6.1, 3.1.6.1,

[illegible]

[illegible]

3.8.8.1, 3.8.8.2, 3.8.8.3, 3.8.8.4, 3.8.8.5, 3.8.8.6, 3.8.8.7, 3.8.8.8, 3.8.8.9, 3.8.8.10, 3.8.9.1,
 3.8.9.2, 3.8.9.3, 3.8.9.4, 3.8.9.5, 3.8.9.6, 3.8.9.7, 3.8.9.8, 3.8.9.9, 3.8.9.10, 3.8.10.1,
 3.8.10.2, 3.8.10.3, 3.8.10.4, 3.8.10.5, 3.8.10.6, 3.8.10.7, 3.8.10.8, 3.8.10.9, 3.8.10.10,
 3.9.1.1, 3.9.1.2, 3.9.1.3, 3.9.1.4, 3.9.1.5, 3.9.1.6, 3.9.1.7, 3.9.1.8, 3.9.1.9, 3.9.1.10, 3.9.2.1,
 3.9.2.2, 3.9.2.3, 3.9.2.4, 3.9.2.5, 3.9.2.6, 3.9.2.7, 3.9.2.8, 3.9.2.9, 3.9.2.10, 3.9.3.1, 3.9.3.2,
 3.9.3.3, 3.9.3.4, 3.9.3.5, 3.9.3.6, 3.9.3.7, 3.9.3.8, 3.9.3.9, 3.9.3.10, 3.9.4.1, 3.9.4.2, 3.9.4.3,
 3.9.4.4, 3.9.4.5, 3.9.4.6, 3.9.4.7, 3.9.4.8, 3.9.4.9, 3.9.4.10, 3.9.5.1, 3.9.5.2, 3.9.5.3, 3.9.5.4,
 3.9.5.5, 3.9.5.6, 3.9.5.7, 3.9.5.8, 3.9.5.9, 3.9.5.10, 3.9.6.1, 3.9.6.2, 3.9.6.3, 3.9.6.4, 3.9.6.5,
 3.9.6.6, 3.9.6.7, 3.9.6.8, 3.9.6.9, 3.9.6.10, 3.9.7.1, 3.9.7.2, 3.9.7.3, 3.9.7.4, 3.9.7.5, 3.9.7.6,
 3.9.7.7, 3.9.7.8, 3.9.7.9, 3.9.7.10, 3.9.8.1, 3.9.8.2, 3.9.8.3, 3.9.8.4, 3.9.8.5, 3.9.8.6, 3.9.8.7,
 3.9.8.8, 3.9.8.9, 3.9.8.10, 3.9.9.1, 3.9.9.2, 3.9.9.3, 3.9.9.4, 3.9.9.5, 3.9.9.6, 3.9.9.7, 3.9.9.8,
 3.9.9.9, 3.9.9.10, 3.9.10.1, 3.9.10.2, 3.9.10.3, 3.9.10.4, 3.9.10.5, 3.9.10.6, 3.9.10.7,
 3.9.10.8, 3.9.10.9, 3.9.10.10, 3.10.1.1, 3.10.1.2, 3.10.1.3, 3.10.1.4, 3.10.1.5, 3.10.1.6,
 3.10.1.7, 3.10.1.8, 3.10.1.9, 3.10.1.10, 3.10.2.1, 3.10.2.2, 3.10.2.3, 3.10.2.4, 3.10.2.5,
 3.10.2.6, 3.10.2.7, 3.10.2.8, 3.10.2.9, 3.10.2.10, 3.10.3.1, 3.10.3.2, 3.10.3.3, 3.10.3.4,
 3.10.3.5, 3.10.3.6, 3.10.3.7, 3.10.3.8, 3.10.3.9, 3.10.3.10, 3.10.4.1, 3.10.4.2, 3.10.4.3,
 3.10.4.4, 3.10.4.5, 3.10.4.6, 3.10.4.7, 3.10.4.8, 3.10.4.9, 3.10.4.10, 3.10.5.1, 3.10.5.2,
 3.10.5.3, 3.10.5.4, 3.10.5.5, 3.10.5.6, 3.10.5.7, 3.10.5.8, 3.10.5.9, 3.10.5.10, 3.10.6.1,
 3.10.6.2, 3.10.6.3, 3.10.6.4, 3.10.6.5, 3.10.6.6, 3.10.6.7, 3.10.6.8, 3.10.6.9, 3.10.6.10,
 3.10.7.1, 3.10.7.2, 3.10.7.3, 3.10.7.4, 3.10.7.5, 3.10.7.6, 3.10.7.7, 3.10.7.8, 3.10.7.9,
 3.10.7.10, 3.10.8.1, 3.10.8.2, 3.10.8.3, 3.10.8.4, 3.10.8.5, 3.10.8.6, 3.10.8.7, 3.10.8.8,
 3.10.8.9, 3.10.8.10, 3.10.9.1, 3.10.9.2, 3.10.9.3, 3.10.9.4, 3.10.9.5, 3.10.9.6, 3.10.9.7,
 3.10.9.8, 3.10.9.9, 3.10.9.10, 3.10.10.1, 3.10.10.2, 3.10.10.3, 3.10.10.4, 3.10.10.5,
 3.10.10.6, 3.10.10.7, 3.10.10.8, 3.10.10.9, 3.10.10.10, 4.1.1.1, 4.1.1.2, 4.1.1.3, 4.1.1.4,
 4.1.1.5, 4.1.1.6, 4.1.1.7, 4.1.1.8, 4.1.1.9, 4.1.1.10, 4.1.2.1, 4.1.2.2, 4.1.2.3, 4.1.2.4, 4.1.2.5,
 4.1.2.6, 4.1.2.7, 4.1.2.8, 4.1.2.9, 4.1.2.10, 4.1.3.1, 4.1.3.2, 4.1.3.3, 4.1.3.4, 4.1.3.5, 4.1.3.6,
 4.1.3.7, 4.1.3.8, 4.1.3.9, 4.1.3.10, 4.1.4.1, 4.1.4.2, 4.1.4.3, 4.1.4.4, 4.1.4.5, 4.1.4.6, 4.1.4.7,
 4.1.4.8, 4.1.4.9, 4.1.4.10, 4.1.5.1, 4.1.5.2, 4.1.5.3, 4.1.5.4, 4.1.5.5, 4.1.5.6, 4.1.5.7, 4.1.5.8,
 4.1.5.9, 4.1.5.10, 4.1.6.1, 4.1.6.2, 4.1.6.3, 4.1.6.4, 4.1.6.5, 4.1.6.6, 4.1.6.7, 4.1.6.8, 4.1.6.9,
 4.1.6.10, 4.1.7.1, 4.1.7.2, 4.1.7.3, 4.1.7.4, 4.1.7.5, 4.1.7.6, 4.1.7.7, 4.1.7.8, 4.1.7.9, 4.1.7.10,
 4.1.8.1, 4.1.8.2, 4.1.8.3, 4.1.8.4, 4.1.8.5, 4.1.8.6, 4.1.8.7, 4.1.8.8, 4.1.8.9, 4.1.8.10, 4.1.9.1,
 4.1.9.2, 4.1.9.3, 4.1.9.4, 4.1.9.5, 4.1.9.6, 4.1.9.7, 4.1.9.8, 4.1.9.9, 4.1.9.10, 4.1.10.1,
 4.1.10.2, 4.1.10.3, 4.1.10.4, 4.1.10.5, 4.1.10.6, 4.1.10.7, 4.1.10.8, 4.1.10.9, 4.1.10.10,

57

4.5.6.6, 4.5.6.7, 4.5.6.8, 4.5.6.9, 4.5.6.10, 4.5.7.1, 4.5.7.2, 4.5.7.3, 4.5.7.4, 4.5.7.5, 4.5.7.6, 4.5.7.7, 4.5.7.8, 4.5.7.9, 4.5.7.10, 4.5.8.1, 4.5.8.2, 4.5.8.3, 4.5.8.4, 4.5.8.5, 4.5.8.6, 4.5.8.7, 4.5.8.8, 4.5.8.9, 4.5.8.10, 4.5.9.1, 4.5.9.2, 4.5.9.3, 4.5.9.4, 4.5.9.5, 4.5.9.6, 4.5.9.7, 4.5.9.8, 4.5.9.9, 4.5.9.10, 4.5.10.1, 4.5.10.2, 4.5.10.3, 4.5.10.4, 4.5.10.5, 4.5.10.6, 4.5.10.7, 4.5.10.8, 4.5.10.9, 4.5.10.10, 4.6.1.1, 4.6.1.2, 4.6.1.3, 4.6.1.4, 4.6.1.5, 4.6.1.6, 4.6.1.7, 4.6.1.8, 4.6.1.9, 4.6.1.10, 4.6.2.1, 4.6.2.2, 4.6.2.3, 4.6.2.4, 4.6.2.5, 4.6.2.6, 4.6.2.7, 4.6.2.8, 4.6.2.9, 4.6.2.10, 4.6.3.1, 4.6.3.2, 4.6.3.3, 4.6.3.4, 4.6.3.5, 4.6.3.6, 4.6.3.7, 4.6.3.8, 4.6.3.9, 4.6.3.10, 4.6.4.1, 4.6.4.2, 4.6.4.3, 4.6.4.4, 4.6.4.5, 4.6.4.6, 4.6.4.7, 4.6.4.8, 4.6.4.9, 4.6.4.10, 4.6.5.1, 4.6.5.2, 4.6.5.3, 4.6.5.4, 4.6.5.5, 4.6.5.6, 4.6.5.7, 4.6.5.8, 4.6.5.9, 4.6.5.10, 4.6.6.1, 4.6.6.2, 4.6.6.3, 4.6.6.4, 4.6.6.5, 4.6.6.6, 4.6.6.7, 4.6.6.8, 4.6.6.9, 4.6.6.10, 4.6.7.1, 4.6.7.2, 4.6.7.3, 4.6.7.4, 4.6.7.5, 4.6.7.6, 4.6.7.7, 4.6.7.8, 4.6.7.9, 4.6.7.10, 4.6.8.1, 4.6.8.2, 4.6.8.3, 4.6.8.4, 4.6.8.5, 4.6.8.6, 4.6.8.7, 4.6.8.8, 4.6.8.9, 4.6.8.10, 4.6.9.1, 4.6.9.2, 4.6.9.3, 4.6.9.4, 4.6.9.5, 4.6.9.6, 4.6.9.7, 4.6.9.8, 4.6.9.9, 4.6.9.10, 4.6.10.1, 4.6.10.2, 4.6.10.3, 4.6.10.4, 4.6.10.5, 4.6.10.6, 4.6.10.7, 4.6.10.8, 4.6.10.9, 4.6.10.10, 4.7.1.1, 4.7.1.2, 4.7.1.3, 4.7.1.4, 4.7.1.5, 4.7.1.6, 4.7.1.7, 4.7.1.8, 4.7.1.9, 4.7.1.10, 4.7.2.1, 4.7.2.2, 4.7.2.3, 4.7.2.4, 4.7.2.5, 4.7.2.6, 4.7.2.7, 4.7.2.8, 4.7.2.9, 4.7.2.10, 4.7.3.1, 4.7.3.2, 4.7.3.3, 4.7.3.4, 4.7.3.5, 4.7.3.6, 4.7.3.7, 4.7.3.8, 4.7.3.9, 4.7.3.10, 4.7.4.1, 4.7.4.2, 4.7.4.3, 4.7.4.4, 4.7.4.5, 4.7.4.6, 4.7.4.7, 4.7.4.8, 4.7.4.9, 4.7.4.10, 4.7.5.1, 4.7.5.2, 4.7.5.3, 4.7.5.4, 4.7.5.5, 4.7.5.6, 4.7.5.7, 4.7.5.8, 4.7.5.9, 4.7.5.10, 4.7.6.1, 4.7.6.2, 4.7.6.3, 4.7.6.4, 4.7.6.5, 4.7.6.6, 4.7.6.7, 4.7.6.8, 4.7.6.9, 4.7.6.10, 4.7.7.1, 4.7.7.2, 4.7.7.3, 4.7.7.4, 4.7.7.5, 4.7.7.6, 4.7.7.7, 4.7.7.8, 4.7.7.9, 4.7.7.10, 4.7.8.1, 4.7.8.2, 4.7.8.3, 4.7.8.4, 4.7.8.5, 4.7.8.6, 4.7.8.7, 4.7.8.8, 4.7.8.9, 4.7.8.10, 4.7.9.1, 4.7.9.2, 4.7.9.3, 4.7.9.4, 4.7.9.5, 4.7.9.6, 4.7.9.7, 4.7.9.8, 4.7.9.9, 4.7.9.10, 4.7.10.1, 4.7.10.2, 4.7.10.3, 4.7.10.4, 4.7.10.5, 4.7.10.6, 4.7.10.7, 4.7.10.8, 4.7.10.9, 4.7.10.10, 4.8.1.1, 4.8.1.2, 4.8.1.3, 4.8.1.4, 4.8.1.5, 4.8.1.6, 4.8.1.7, 4.8.1.8, 4.8.1.9, 4.8.1.10, 4.8.2.1, 4.8.2.2, 4.8.2.3, 4.8.2.4, 4.8.2.5, 4.8.2.6, 4.8.2.7, 4.8.2.8, 4.8.2.9, 4.8.2.10, 4.8.3.1, 4.8.3.2, 4.8.3.3, 4.8.3.4, 4.8.3.5, 4.8.3.6, 4.8.3.7, 4.8.3.8, 4.8.3.9, 4.8.3.10, 4.8.4.1, 4.8.4.2, 4.8.4.3, 4.8.4.4, 4.8.4.5, 4.8.4.6, 4.8.4.7, 4.8.4.8, 4.8.4.9, 4.8.4.10, 4.8.5.1, 4.8.5.2, 4.8.5.3, 4.8.5.4, 4.8.5.5, 4.8.5.6, 4.8.5.7, 4.8.5.8, 4.8.5.9, 4.8.5.10, 4.8.6.1, 4.8.6.2, 4.8.6.3, 4.8.6.4, 4.8.6.5, 4.8.6.6, 4.8.6.7, 4.8.6.8, 4.8.6.9, 4.8.6.10, 4.8.7.1, 4.8.7.2, 4.8.7.3, 4.8.7.4, 4.8.7.5, 4.8.7.6, 4.8.7.7, 4.8.7.8, 4.8.7.9, 4.8.7.10, 4.8.8.1, 4.8.8.2, 4.8.8.3, 4.8.8.4, 4.8.8.5, 4.8.8.6, 4.8.8.7, 4.8.8.8, 4.8.8.9, 4.8.8.10, 4.8.9.1, 4.8.9.2, 4.8.9.3, 4.8.9.4, 4.8.9.5, 4.8.9.6, 4.8.9.7, 4.8.9.8, 4.8.9.9, 4.8.9.10, 4.8.10.1, 4.8.10.2, 4.8.10.3, 4.8.10.4, 4.8.10.5, 4.8.10.6, 4.8.10.7, 4.8.10.8, 4.8.10.9, 4.8.10.10, 4.9.1.1, 4.9.1.2, 4.9.1.3, 4.9.1.4, 4.9.1.5, 4.9.1.6, 4.9.1.7,

4.9.1.8, 4.9.1.9, 4.9.1.10, 4.9.2.1, 4.9.2.2, 4.9.2.3, 4.9.2.4, 4.9.2.5, 4.9.2.6, 4.9.2.7, 4.9.2.8, 4.9.2.9, 4.9.2.10, 4.9.3.1, 4.9.3.2, 4.9.3.3, 4.9.3.4, 4.9.3.5, 4.9.3.6, 4.9.3.7, 4.9.3.8, 4.9.3.9, 4.9.3.10, 4.9.4.1, 4.9.4.2, 4.9.4.3, 4.9.4.4, 4.9.4.5, 4.9.4.6, 4.9.4.7, 4.9.4.8, 4.9.4.9, 4.9.4.10, 4.9.5.1, 4.9.5.2, 4.9.5.3, 4.9.5.4, 4.9.5.5, 4.9.5.6, 4.9.5.7, 4.9.5.8, 4.9.5.9, 4.9.5.10, 4.9.6.1, 4.9.6.2, 4.9.6.3, 4.9.6.4, 4.9.6.5, 4.9.6.6, 4.9.6.7, 4.9.6.8, 4.9.6.9, 4.9.6.10, 4.9.7.1, 4.9.7.2, 4.9.7.3, 4.9.7.4, 4.9.7.5, 4.9.7.6, 4.9.7.7, 4.9.7.8, 4.9.7.9, 4.9.7.10, 4.9.8.1, 4.9.8.2, 4.9.8.3, 4.9.8.4, 4.9.8.5, 4.9.8.6, 4.9.8.7, 4.9.8.8, 4.9.8.9, 4.9.8.10, 4.9.9.1, 4.9.9.2, 4.9.9.3, 4.9.9.4, 4.9.9.5, 4.9.9.6, 4.9.9.7, 4.9.9.8, 4.9.9.9, 4.9.9.10, 4.9.10.1, 4.9.10.2, 4.9.10.3, 4.9.10.4, 4.9.10.5, 4.9.10.6, 4.9.10.7, 4.9.10.8, 4.9.10.9, 4.9.10.10, 4.10.1.1, 4.10.1.2, 4.10.1.3, 4.10.1.4, 4.10.1.5, 4.10.1.6, 4.10.1.7, 4.10.1.8, 4.10.1.9, 4.10.1.10, 4.10.2.1, 4.10.2.2, 4.10.2.3, 4.10.2.4, 4.10.2.5, 4.10.2.6, 4.10.2.7, 4.10.2.8, 4.10.2.9, 4.10.2.10, 4.10.3.1, 4.10.3.2, 4.10.3.3, 4.10.3.4, 4.10.3.5, 4.10.3.6, 4.10.3.7, 4.10.3.8, 4.10.3.9, 4.10.3.10, 4.10.4.1, 4.10.4.2, 4.10.4.3, 4.10.4.4, 4.10.4.5, 4.10.4.6, 4.10.4.7, 4.10.4.8, 4.10.4.9, 4.10.4.10, 4.10.5.1, 4.10.5.2, 4.10.5.3, 4.10.5.4, 4.10.5.5, 4.10.5.6, 4.10.5.7, 4.10.5.8, 4.10.5.9, 4.10.5.10, 4.10.6.1, 4.10.6.2, 4.10.6.3, 4.10.6.4, 4.10.6.5, 4.10.6.6, 4.10.6.7, 4.10.6.8, 4.10.6.9, 4.10.6.10, 4.10.7.1, 4.10.7.2, 4.10.7.3, 4.10.7.4, 4.10.7.5, 4.10.7.6, 4.10.7.7, 4.10.7.8, 4.10.7.9, 4.10.7.10, 4.10.8.1, 4.10.8.2, 4.10.8.3, 4.10.8.4, 4.10.8.5, 4.10.8.6, 4.10.8.7, 4.10.8.8, 4.10.8.9, 4.10.8.10, 4.10.9.1, 4.10.9.2, 4.10.9.3, 4.10.9.4, 4.10.9.5, 4.10.9.6, 4.10.9.7, 4.10.9.8, 4.10.9.9, 4.10.9.10, 4.10.10.1, 4.10.10.2, 4.10.10.3, 4.10.10.4, 4.10.10.5, 4.10.10.6, 4.10.10.7, 4.10.10.8, 4.10.10.9, 4.10.10.10, 5.1.1.1, 5.1.1.2, 5.1.1.3, 5.1.1.4, 5.1.1.5, 5.1.1.6, 5.1.1.7, 5.1.1.8, 5.1.1.9, 5.1.1.10, 5.1.2.1, 5.1.2.2, 5.1.2.3, 5.1.2.4, 5.1.2.5, 5.1.2.6, 5.1.2.7, 5.1.2.8, 5.1.2.9, 5.1.2.10, 5.1.3.1, 5.1.3.2, 5.1.3.3, 5.1.3.4, 5.1.3.5, 5.1.3.6, 5.1.3.7, 5.1.3.8, 5.1.3.9, 5.1.3.10, 5.1.4.1, 5.1.4.2, 5.1.4.3, 5.1.4.4, 5.1.4.5, 5.1.4.6, 5.1.4.7, 5.1.4.8, 5.1.4.9, 5.1.4.10, 5.1.5.1, 5.1.5.2, 5.1.5.3, 5.1.5.4, 5.1.5.5, 5.1.5.6, 5.1.5.7, 5.1.5.8, 5.1.5.9, 5.1.5.10, 5.1.6.1, 5.1.6.2, 5.1.6.3, 5.1.6.4, 5.1.6.5, 5.1.6.6, 5.1.6.7, 5.1.6.8, 5.1.6.9, 5.1.6.10, 5.1.7.1, 5.1.7.2, 5.1.7.3, 5.1.7.4, 5.1.7.5, 5.1.7.6, 5.1.7.7, 5.1.7.8, 5.1.7.9, 5.1.7.10, 5.1.8.1, 5.1.8.2, 5.1.8.3, 5.1.8.4, 5.1.8.5, 5.1.8.6, 5.1.8.7, 5.1.8.8, 5.1.8.9, 5.1.8.10, 5.1.9.1, 5.1.9.2, 5.1.9.3, 5.1.9.4, 5.1.9.5, 5.1.9.6, 5.1.9.7, 5.1.9.8, 5.1.9.9, 5.1.9.10, 5.1.10.1, 5.1.10.2, 5.1.10.3, 5.1.10.4, 5.1.10.5, 5.1.10.6, 5.1.10.7, 5.1.10.8, 5.1.10.9, 5.1.10.10, 5.2.1.1, 5.2.1.2, 5.2.1.3, 5.2.1.4, 5.2.1.5, 5.2.1.6, 5.2.1.7, 5.2.1.8, 5.2.1.9, 5.2.1.10, 5.2.2.1, 5.2.2.2, 5.2.2.3, 5.2.2.4, 5.2.2.5, 5.2.2.6, 5.2.2.7, 5.2.2.8, 5.2.2.9, 5.2.2.10, 5.2.3.1, 5.2.3.2, 5.2.3.3, 5.2.3.4, 5.2.3.5, 5.2.3.6, 5.2.3.7, 5.2.3.8, 5.2.3.9, 5.2.3.10, 5.2.4.1, 5.2.4.2, 5.2.4.3, 5.2.4.4, 5.2.4.5, 5.2.4.6, 5.2.4.7, 5.2.4.8, 5.2.4.9, 5.2.4.10, 5.2.5.1, 5.2.5.2,

5.2.5.3, 5.2.5.4, 5.2.5.5, 5.2.5.6, 5.2.5.7, 5.2.5.8, 5.2.5.9, 5.2.5.10, 5.2.6.1, 5.2.6.2, 5.2.6.3, 5.2.6.4, 5.2.6.5, 5.2.6.6, 5.2.6.7, 5.2.6.8, 5.2.6.9, 5.2.6.10, 5.2.7.1, 5.2.7.2, 5.2.7.3, 5.2.7.4, 5.2.7.5, 5.2.7.6, 5.2.7.7, 5.2.7.8, 5.2.7.9, 5.2.7.10, 5.2.8.1, 5.2.8.2, 5.2.8.3, 5.2.8.4, 5.2.8.5, 5.2.8.6, 5.2.8.7, 5.2.8.8, 5.2.8.9, 5.2.8.10, 5.2.9.1, 5.2.9.2, 5.2.9.3, 5.2.9.4, 5.2.9.5, 5.2.9.6, 5.2.9.7, 5.2.9.8, 5.2.9.9, 5.2.9.10, 5.2.10.1, 5.2.10.2, 5.2.10.3, 5.2.10.4, 5.2.10.5, 5.2.10.6, 5.2.10.7, 5.2.10.8, 5.2.10.9, 5.2.10.10, 5.3.1.1, 5.3.1.2, 5.3.1.3, 5.3.1.4, 5.3.1.5, 5.3.1.6, 5.3.1.7, 5.3.1.8, 5.3.1.9, 5.3.1.10, 5.3.2.1, 5.3.2.2, 5.3.2.3, 5.3.2.4, 5.3.2.5, 5.3.2.6, 5.3.2.7, 5.3.2.8, 5.3.2.9, 5.3.2.10, 5.3.3.1, 5.3.3.2, 5.3.3.3, 5.3.3.4, 5.3.3.5, 5.3.3.6, 5.3.3.7, 5.3.3.8, 5.3.3.9, 5.3.3.10, 5.3.4.1, 5.3.4.2, 5.3.4.3, 5.3.4.4, 5.3.4.5, 5.3.4.6, 5.3.4.7, 5.3.4.8, 5.3.4.9, 5.3.4.10, 5.3.5.1, 5.3.5.2, 5.3.5.3, 5.3.5.4, 5.3.5.5, 5.3.5.6, 5.3.5.7, 5.3.5.8, 5.3.5.9, 5.3.5.10, 5.3.6.1, 5.3.6.2, 5.3.6.3, 5.3.6.4, 5.3.6.5, 5.3.6.6, 5.3.6.7, 5.3.6.8, 5.3.6.9, 5.3.6.10, 5.3.7.1, 5.3.7.2, 5.3.7.3, 5.3.7.4, 5.3.7.5, 5.3.7.6, 5.3.7.7, 5.3.7.8, 5.3.7.9, 5.3.7.10, 5.3.8.1, 5.3.8.2, 5.3.8.3, 5.3.8.4, 5.3.8.5, 5.3.8.6, 5.3.8.7, 5.3.8.8, 5.3.8.9, 5.3.8.10, 5.3.9.1, 5.3.9.2, 5.3.9.3, 5.3.9.4, 5.3.9.5, 5.3.9.6, 5.3.9.7, 5.3.9.8, 5.3.9.9, 5.3.9.10, 5.3.10.1, 5.3.10.2, 5.3.10.3, 5.3.10.4, 5.3.10.5, 5.3.10.6, 5.3.10.7, 5.3.10.8, 5.3.10.9, 5.3.10.10, 5.4.1.1, 5.4.1.2, 5.4.1.3, 5.4.1.4, 5.4.1.5, 5.4.1.6, 5.4.1.7, 5.4.1.8, 5.4.1.9, 5.4.1.10, 5.4.2.1, 5.4.2.2, 5.4.2.3, 5.4.2.4, 5.4.2.5, 5.4.2.6, 5.4.2.7, 5.4.2.8, 5.4.2.9, 5.4.2.10, 5.4.3.1, 5.4.3.2, 5.4.3.3, 5.4.3.4, 5.4.3.5, 5.4.3.6, 5.4.3.7, 5.4.3.8, 5.4.3.9, 5.4.3.10, 5.4.4.1, 5.4.4.2, 5.4.4.3, 5.4.4.4, 5.4.4.5, 5.4.4.6, 5.4.4.7, 5.4.4.8, 5.4.4.9, 5.4.4.10, 5.4.5.1, 5.4.5.2, 5.4.5.3, 5.4.5.4, 5.4.5.5, 5.4.5.6, 5.4.5.7, 5.4.5.8, 5.4.5.9, 5.4.5.10, 5.4.6.1, 5.4.6.2, 5.4.6.3, 5.4.6.4, 5.4.6.5, 5.4.6.6, 5.4.6.7, 5.4.6.8, 5.4.6.9, 5.4.6.10, 5.4.7.1, 5.4.7.2, 5.4.7.3, 5.4.7.4, 5.4.7.5, 5.4.7.6, 5.4.7.7, 5.4.7.8, 5.4.7.9, 5.4.7.10, 5.4.8.1, 5.4.8.2, 5.4.8.3, 5.4.8.4, 5.4.8.5, 5.4.8.6, 5.4.8.7, 5.4.8.8, 5.4.8.9, 5.4.8.10, 5.4.9.1, 5.4.9.2, 5.4.9.3, 5.4.9.4, 5.4.9.5, 5.4.9.6, 5.4.9.7, 5.4.9.8, 5.4.9.9, 5.4.9.10, 5.4.10.1, 5.4.10.2, 5.4.10.3, 5.4.10.4, 5.4.10.5, 5.4.10.6, 5.4.10.7, 5.4.10.8, 5.4.10.9, 5.4.10.10, 5.5.1.1, 5.5.1.2, 5.5.1.3, 5.5.1.4, 5.5.1.5, 5.5.1.6, 5.5.1.7, 5.5.1.8, 5.5.1.9, 5.5.1.10, 5.5.2.1, 5.5.2.2, 5.5.2.3, 5.5.2.4, 5.5.2.5, 5.5.2.6, 5.5.2.7, 5.5.2.8, 5.5.2.9, 5.5.2.10, 5.5.3.1, 5.5.3.2, 5.5.3.3, 5.5.3.4, 5.5.3.5, 5.5.3.6, 5.5.3.7, 5.5.3.8, 5.5.3.9, 5.5.3.10, 5.5.4.1, 5.5.4.2, 5.5.4.3, 5.5.4.4, 5.5.4.5, 5.5.4.6, 5.5.4.7, 5.5.4.8, 5.5.4.9, 5.5.4.10, 5.5.5.1, 5.5.5.2, 5.5.5.3, 5.5.5.4, 5.5.5.5, 5.5.5.6, 5.5.5.7, 5.5.5.8, 5.5.5.9, 5.5.5.10, 5.5.6.1, 5.5.6.2, 5.5.6.3, 5.5.6.4, 5.5.6.5, 5.5.6.6, 5.5.6.7, 5.5.6.8, 5.5.6.9, 5.5.6.10, 5.5.7.1, 5.5.7.2, 5.5.7.3, 5.5.7.4, 5.5.7.5, 5.5.7.6, 5.5.7.7, 5.5.7.8, 5.5.7.9, 5.5.7.10, 5.5.8.1, 5.5.8.2, 5.5.8.3, 5.5.8.4, 5.5.8.5, 5.5.8.6, 5.5.8.7, 5.5.8.8, 5.5.8.9, 5.5.8.10, 5.5.9.1, 5.5.9.2, 5.5.9.3, 5.5.9.4, 5.5.9.5, 5.5.9.6, 5.5.9.7, 5.5.9.8, 5.5.9.9, 5.5.9.10, 5.5.10.1, 5.5.10.2, 5.5.10.3, 5.5.10.4, 5.5.10.5, 5.5.10.6, 5.5.10.7,

5.5.10.8, 5.5.10.9, 5.5.10.10, 5.6.1.1, 5.6.1.2, 5.6.1.3, 5.6.1.4, 5.6.1.5, 5.6.1.6, 5.6.1.7,
 5.6.1.8, 5.6.1.9, 5.6.1.10, 5.6.2.1, 5.6.2.2, 5.6.2.3, 5.6.2.4, 5.6.2.5, 5.6.2.6, 5.6.2.7, 5.6.2.8,
 5.6.2.9, 5.6.2.10, 5.6.3.1, 5.6.3.2, 5.6.3.3, 5.6.3.4, 5.6.3.5, 5.6.3.6, 5.6.3.7, 5.6.3.8, 5.6.3.9,
 5.6.3.10, 5.6.4.1, 5.6.4.2, 5.6.4.3, 5.6.4.4, 5.6.4.5, 5.6.4.6, 5.6.4.7, 5.6.4.8, 5.6.4.9, 5.6.4.10,
 5.6.5.1, 5.6.5.2, 5.6.5.3, 5.6.5.4, 5.6.5.5, 5.6.5.6, 5.6.5.7, 5.6.5.8, 5.6.5.9, 5.6.5.10, 5.6.6.1,
 5.6.6.2, 5.6.6.3, 5.6.6.4, 5.6.6.5, 5.6.6.6, 5.6.6.7, 5.6.6.8, 5.6.6.9, 5.6.6.10, 5.6.7.1, 5.6.7.2,
 5.6.7.3, 5.6.7.4, 5.6.7.5, 5.6.7.6, 5.6.7.7, 5.6.7.8, 5.6.7.9, 5.6.7.10, 5.6.8.1, 5.6.8.2, 5.6.8.3,
 5.6.8.4, 5.6.8.5, 5.6.8.6, 5.6.8.7, 5.6.8.8, 5.6.8.9, 5.6.8.10, 5.6.9.1, 5.6.9.2, 5.6.9.3, 5.6.9.4,
 5.6.9.5, 5.6.9.6, 5.6.9.7, 5.6.9.8, 5.6.9.9, 5.6.9.10, 5.6.10.1, 5.6.10.2, 5.6.10.3, 5.6.10.4,
 5.6.10.5, 5.6.10.6, 5.6.10.7, 5.6.10.8, 5.6.10.9, 5.6.10.10, 5.7.1.1, 5.7.1.2, 5.7.1.3, 5.7.1.4,
 5.7.1.5, 5.7.1.6, 5.7.1.7, 5.7.1.8, 5.7.1.9, 5.7.1.10, 5.7.2.1, 5.7.2.2, 5.7.2.3, 5.7.2.4, 5.7.2.5,
 5.7.2.6, 5.7.2.7, 5.7.2.8, 5.7.2.9, 5.7.2.10, 5.7.3.1, 5.7.3.2, 5.7.3.3, 5.7.3.4, 5.7.3.5, 5.7.3.6,
 5.7.3.7, 5.7.3.8, 5.7.3.9, 5.7.3.10, 5.7.4.1, 5.7.4.2, 5.7.4.3, 5.7.4.4, 5.7.4.5, 5.7.4.6, 5.7.4.7,
 5.7.4.8, 5.7.4.9, 5.7.4.10, 5.7.5.1, 5.7.5.2, 5.7.5.3, 5.7.5.4, 5.7.5.5, 5.7.5.6, 5.7.5.7, 5.7.5.8,
 5.7.5.9, 5.7.5.10, 5.7.6.1, 5.7.6.2, 5.7.6.3, 5.7.6.4, 5.7.6.5, 5.7.6.6, 5.7.6.7, 5.7.6.8, 5.7.6.9,
 5.7.6.10, 5.7.7.1, 5.7.7.2, 5.7.7.3, 5.7.7.4, 5.7.7.5, 5.7.7.6, 5.7.7.7, 5.7.7.8, 5.7.7.9, 5.7.7.10,
 5.7.8.1, 5.7.8.2, 5.7.8.3, 5.7.8.4, 5.7.8.5, 5.7.8.6, 5.7.8.7, 5.7.8.8, 5.7.8.9, 5.7.8.10, 5.7.9.1,
 5.7.9.2, 5.7.9.3, 5.7.9.4, 5.7.9.5, 5.7.9.6, 5.7.9.7, 5.7.9.8, 5.7.9.9, 5.7.9.10, 5.7.10.1,
 5.7.10.2, 5.7.10.3, 5.7.10.4, 5.7.10.5, 5.7.10.6, 5.7.10.7, 5.7.10.8, 5.7.10.9, 5.7.10.10,
 5.8.1.1, 5.8.1.2, 5.8.1.3, 5.8.1.4, 5.8.1.5, 5.8.1.6, 5.8.1.7, 5.8.1.8, 5.8.1.9, 5.8.1.10, 5.8.2.1,
 5.8.2.2, 5.8.2.3, 5.8.2.4, 5.8.2.5, 5.8.2.6, 5.8.2.7, 5.8.2.8, 5.8.2.9, 5.8.2.10, 5.8.3.1, 5.8.3.2,
 5.8.3.3, 5.8.3.4, 5.8.3.5, 5.8.3.6, 5.8.3.7, 5.8.3.8, 5.8.3.9, 5.8.3.10, 5.8.4.1, 5.8.4.2, 5.8.4.3,
 5.8.4.4, 5.8.4.5, 5.8.4.6, 5.8.4.7, 5.8.4.8, 5.8.4.9, 5.8.4.10, 5.8.5.1, 5.8.5.2, 5.8.5.3, 5.8.5.4,
 5.8.5.5, 5.8.5.6, 5.8.5.7, 5.8.5.8, 5.8.5.9, 5.8.5.10, 5.8.6.1, 5.8.6.2, 5.8.6.3, 5.8.6.4, 5.8.6.5,
 5.8.6.6, 5.8.6.7, 5.8.6.8, 5.8.6.9, 5.8.6.10, 5.8.7.1, 5.8.7.2, 5.8.7.3, 5.8.7.4, 5.8.7.5, 5.8.7.6,
 5.8.7.7, 5.8.7.8, 5.8.7.9, 5.8.7.10, 5.8.8.1, 5.8.8.2, 5.8.8.3, 5.8.8.4, 5.8.8.5, 5.8.8.6, 5.8.8.7,
 5.8.8.8, 5.8.8.9, 5.8.8.10, 5.8.9.1, 5.8.9.2, 5.8.9.3, 5.8.9.4, 5.8.9.5, 5.8.9.6, 5.8.9.7, 5.8.9.8,
 5.8.9.9, 5.8.9.10, 5.8.10.1, 5.8.10.2, 5.8.10.3, 5.8.10.4, 5.8.10.5, 5.8.10.6, 5.8.10.7,
 5.8.10.8, 5.8.10.9, 5.8.10.10, 5.9.1.1, 5.9.1.2, 5.9.1.3, 5.9.1.4, 5.9.1.5, 5.9.1.6, 5.9.1.7,
 5.9.1.8, 5.9.1.9, 5.9.1.10, 5.9.2.1, 5.9.2.2, 5.9.2.3, 5.9.2.4, 5.9.2.5, 5.9.2.6, 5.9.2.7, 5.9.2.8,
 5.9.2.9, 5.9.2.10, 5.9.3.1, 5.9.3.2, 5.9.3.3, 5.9.3.4, 5.9.3.5, 5.9.3.6, 5.9.3.7, 5.9.3.8, 5.9.3.9,
 5.9.3.10, 5.9.4.1, 5.9.4.2, 5.9.4.3, 5.9.4.4, 5.9.4.5, 5.9.4.6, 5.9.4.7, 5.9.4.8, 5.9.4.9, 5.9.4.10,
 5.9.5.1, 5.9.5.2, 5.9.5.3, 5.9.5.4, 5.9.5.5, 5.9.5.6, 5.9.5.7, 5.9.5.8, 5.9.5.9, 5.9.5.10, 5.9.6.1,

5.9.6.2, 5.9.6.3, 5.9.6.4, 5.9.6.5, 5.9.6.6, 5.9.6.7, 5.9.6.8, 5.9.6.9, 5.9.6.10, 5.9.7.1, 5.9.7.2, 5.9.7.3, 5.9.7.4, 5.9.7.5, 5.9.7.6, 5.9.7.7, 5.9.7.8, 5.9.7.9, 5.9.7.10, 5.9.8.1, 5.9.8.2, 5.9.8.3, 5.9.8.4, 5.9.8.5, 5.9.8.6, 5.9.8.7, 5.9.8.8, 5.9.8.9, 5.9.8.10, 5.9.9.1, 5.9.9.2, 5.9.9.3, 5.9.9.4, 5.9.9.5, 5.9.9.6, 5.9.9.7, 5.9.9.8, 5.9.9.9, 5.9.9.10, 5.9.10.1, 5.9.10.2, 5.9.10.3, 5.9.10.4, 5.9.10.5, 5.9.10.6, 5.9.10.7, 5.9.10.8, 5.9.10.9, 5.9.10.10, 5.10.1.1, 5.10.1.2, 5.10.1.3, 5.10.1.4, 5.10.1.5, 5.10.1.6, 5.10.1.7, 5.10.1.8, 5.10.1.9, 5.10.1.10, 5.10.2.1, 5.10.2.2, 5.10.2.3, 5.10.2.4, 5.10.2.5, 5.10.2.6, 5.10.2.7, 5.10.2.8, 5.10.2.9, 5.10.2.10, 5.10.3.1, 5.10.3.2, 5.10.3.3, 5.10.3.4, 5.10.3.5, 5.10.3.6, 5.10.3.7, 5.10.3.8, 5.10.3.9, 5.10.3.10, 5.10.4.1, 5.10.4.2, 5.10.4.3, 5.10.4.4, 5.10.4.5, 5.10.4.6, 5.10.4.7, 5.10.4.8, 5.10.4.9, 5.10.4.10, 5.10.5.1, 5.10.5.2, 5.10.5.3, 5.10.5.4, 5.10.5.5, 5.10.5.6, 5.10.5.7, 5.10.5.8, 5.10.5.9, 5.10.5.10, 5.10.6.1, 5.10.6.2, 5.10.6.3, 5.10.6.4, 5.10.6.5, 5.10.6.6, 5.10.6.7, 5.10.6.8, 5.10.6.9, 5.10.6.10, 5.10.7.1, 5.10.7.2, 5.10.7.3, 5.10.7.4, 5.10.7.5, 5.10.7.6, 5.10.7.7, 5.10.7.8, 5.10.7.9, 5.10.7.10, 5.10.8.1, 5.10.8.2, 5.10.8.3, 5.10.8.4, 5.10.8.5, 5.10.8.6, 5.10.8.7, 5.10.8.8, 5.10.8.9, 5.10.8.10, 5.10.9.1, 5.10.9.2, 5.10.9.3, 5.10.9.4, 5.10.9.5, 5.10.9.6, 5.10.9.7, 5.10.9.8, 5.10.9.9, 5.10.9.10, 5.10.10.1, 5.10.10.2, 5.10.10.3, 5.10.10.4, 5.10.10.5, 5.10.10.6, 5.10.10.7, 5.10.10.8, 5.10.10.9, 5.10.10.10, 6.1.1.1, 6.1.1.2, 6.1.1.3, 6.1.1.4, 6.1.1.5, 6.1.1.6, 6.1.1.7, 6.1.1.8, 6.1.1.9, 6.1.1.10, 6.1.2.1, 6.1.2.2, 6.1.2.3, 6.1.2.4, 6.1.2.5, 6.1.2.6, 6.1.2.7, 6.1.2.8, 6.1.2.9, 6.1.2.10, 6.1.3.1, 6.1.3.2, 6.1.3.3, 6.1.3.4, 6.1.3.5, 6.1.3.6, 6.1.3.7, 6.1.3.8, 6.1.3.9, 6.1.3.10, 6.1.4.1, 6.1.4.2, 6.1.4.3, 6.1.4.4, 6.1.4.5, 6.1.4.6, 6.1.4.7, 6.1.4.8, 6.1.4.9, 6.1.4.10, 6.1.5.1, 6.1.5.2, 6.1.5.3, 6.1.5.4, 6.1.5.5, 6.1.5.6, 6.1.5.7, 6.1.5.8, 6.1.5.9, 6.1.5.10, 6.1.6.1, 6.1.6.2, 6.1.6.3, 6.1.6.4, 6.1.6.5, 6.1.6.6, 6.1.6.7, 6.1.6.8, 6.1.6.9, 6.1.6.10, 6.1.7.1, 6.1.7.2, 6.1.7.3, 6.1.7.4, 6.1.7.5, 6.1.7.6, 6.1.7.7, 6.1.7.8, 6.1.7.9, 6.1.7.10, 6.1.8.1, 6.1.8.2, 6.1.8.3, 6.1.8.4, 6.1.8.5, 6.1.8.6, 6.1.8.7, 6.1.8.8, 6.1.8.9, 6.1.8.10, 6.1.9.1, 6.1.9.2, 6.1.9.3, 6.1.9.4, 6.1.9.5, 6.1.9.6, 6.1.9.7, 6.1.9.8, 6.1.9.9, 6.1.9.10, 6.1.10.1, 6.1.10.2, 6.1.10.3, 6.1.10.4, 6.1.10.5, 6.1.10.6, 6.1.10.7, 6.1.10.8, 6.1.10.9, 6.1.10.10, 6.2.1.1, 6.2.1.2, 6.2.1.3, 6.2.1.4, 6.2.1.5, 6.2.1.6, 6.2.1.7, 6.2.1.8, 6.2.1.9, 6.2.1.10, 6.2.2.1, 6.2.2.2, 6.2.2.3, 6.2.2.4, 6.2.2.5, 6.2.2.6, 6.2.2.7, 6.2.2.8, 6.2.2.9, 6.2.2.10, 6.2.3.1, 6.2.3.2, 6.2.3.3, 6.2.3.4, 6.2.3.5, 6.2.3.6, 6.2.3.7, 6.2.3.8, 6.2.3.9, 6.2.3.10, 6.2.4.1, 6.2.4.2, 6.2.4.3, 6.2.4.4, 6.2.4.5, 6.2.4.6, 6.2.4.7, 6.2.4.8, 6.2.4.9, 6.2.4.10, 6.2.5.1, 6.2.5.2, 6.2.5.3, 6.2.5.4, 6.2.5.5, 6.2.5.6, 6.2.5.7, 6.2.5.8, 6.2.5.9, 6.2.5.10, 6.2.6.1, 6.2.6.2, 6.2.6.3, 6.2.6.4, 6.2.6.5, 6.2.6.6, 6.2.6.7, 6.2.6.8, 6.2.6.9, 6.2.6.10, 6.2.7.1, 6.2.7.2, 6.2.7.3, 6.2.7.4, 6.2.7.5, 6.2.7.6, 6.2.7.7, 6.2.7.8, 6.2.7.9, 6.2.7.10, 6.2.8.1, 6.2.8.2, 6.2.8.3, 6.2.8.4, 6.2.8.5, 6.2.8.6, 6.2.8.7, 6.2.8.8, 6.2.8.9, 6.2.8.10, 6.2.9.1, 6.2.9.2, 6.2.9.3, 6.2.9.4, 6.2.9.5, 6.2.9.6,

6.2.9.7, 6.2.9.8, 6.2.9.9, 6.2.9.10, 6.2.10.1, 6.2.10.2, 6.2.10.3, 6.2.10.4, 6.2.10.5, 6.2.10.6, 6.2.10.7, 6.2.10.8, 6.2.10.9, 6.2.10.10, 6.3.1.1, 6.3.1.2, 6.3.1.3, 6.3.1.4, 6.3.1.5, 6.3.1.6, 6.3.1.7, 6.3.1.8, 6.3.1.9, 6.3.1.10, 6.3.2.1, 6.3.2.2, 6.3.2.3, 6.3.2.4, 6.3.2.5, 6.3.2.6, 6.3.2.7, 6.3.2.8, 6.3.2.9, 6.3.2.10, 6.3.3.1, 6.3.3.2, 6.3.3.3, 6.3.3.4, 6.3.3.5, 6.3.3.6, 6.3.3.7, 6.3.3.8, 6.3.3.9, 6.3.3.10, 6.3.4.1, 6.3.4.2, 6.3.4.3, 6.3.4.4, 6.3.4.5, 6.3.4.6, 6.3.4.7, 6.3.4.8, 6.3.4.9, 6.3.4.10, 6.3.5.1, 6.3.5.2, 6.3.5.3, 6.3.5.4, 6.3.5.5, 6.3.5.6, 6.3.5.7, 6.3.5.8, 6.3.5.9, 6.3.5.10, 6.3.6.1, 6.3.6.2, 6.3.6.3, 6.3.6.4, 6.3.6.5, 6.3.6.6, 6.3.6.7, 6.3.6.8, 6.3.6.9, 6.3.6.10, 6.3.7.1, 6.3.7.2, 6.3.7.3, 6.3.7.4, 6.3.7.5, 6.3.7.6, 6.3.7.7, 6.3.7.8, 6.3.7.9, 6.3.7.10, 6.3.8.1, 6.3.8.2, 6.3.8.3, 6.3.8.4, 6.3.8.5, 6.3.8.6, 6.3.8.7, 6.3.8.8, 6.3.8.9, 6.3.8.10, 6.3.9.1, 6.3.9.2, 6.3.9.3, 6.3.9.4, 6.3.9.5, 6.3.9.6, 6.3.9.7, 6.3.9.8, 6.3.9.9, 6.3.9.10, 6.3.10.1, 6.3.10.2, 6.3.10.3, 6.3.10.4, 6.3.10.5, 6.3.10.6, 6.3.10.7, 6.3.10.8, 6.3.10.9, 6.3.10.10, 6.4.1.1, 6.4.1.2, 6.4.1.3, 6.4.1.4, 6.4.1.5, 6.4.1.6, 6.4.1.7, 6.4.1.8, 6.4.1.9, 6.4.1.10, 6.4.2.1, 6.4.2.2, 6.4.2.3, 6.4.2.4, 6.4.2.5, 6.4.2.6, 6.4.2.7, 6.4.2.8, 6.4.2.9, 6.4.2.10, 6.4.3.1, 6.4.3.2, 6.4.3.3, 6.4.3.4, 6.4.3.5, 6.4.3.6, 6.4.3.7, 6.4.3.8, 6.4.3.9, 6.4.3.10, 6.4.4.1, 6.4.4.2, 6.4.4.3, 6.4.4.4, 6.4.4.5, 6.4.4.6, 6.4.4.7, 6.4.4.8, 6.4.4.9, 6.4.4.10, 6.4.5.1, 6.4.5.2, 6.4.5.3, 6.4.5.4, 6.4.5.5, 6.4.5.6, 6.4.5.7, 6.4.5.8, 6.4.5.9, 6.4.5.10, 6.4.6.1, 6.4.6.2, 6.4.6.3, 6.4.6.4, 6.4.6.5, 6.4.6.6, 6.4.6.7, 6.4.6.8, 6.4.6.9, 6.4.6.10, 6.4.7.1, 6.4.7.2, 6.4.7.3, 6.4.7.4, 6.4.7.5, 6.4.7.6, 6.4.7.7, 6.4.7.8, 6.4.7.9, 6.4.7.10, 6.4.8.1, 6.4.8.2, 6.4.8.3, 6.4.8.4, 6.4.8.5, 6.4.8.6, 6.4.8.7, 6.4.8.8, 6.4.8.9, 6.4.8.10, 6.4.9.1, 6.4.9.2, 6.4.9.3, 6.4.9.4, 6.4.9.5, 6.4.9.6, 6.4.9.7, 6.4.9.8, 6.4.9.9, 6.4.9.10, 6.4.10.1, 6.4.10.2, 6.4.10.3, 6.4.10.4, 6.4.10.5, 6.4.10.6, 6.4.10.7, 6.4.10.8, 6.4.10.9, 6.4.10.10, 6.5.1.1, 6.5.1.2, 6.5.1.3, 6.5.1.4, 6.5.1.5, 6.5.1.6, 6.5.1.7, 6.5.1.8, 6.5.1.9, 6.5.1.10, 6.5.2.1, 6.5.2.2, 6.5.2.3, 6.5.2.4, 6.5.2.5, 6.5.2.6, 6.5.2.7, 6.5.2.8, 6.5.2.9, 6.5.2.10, 6.5.3.1, 6.5.3.2, 6.5.3.3, 6.5.3.4, 6.5.3.5, 6.5.3.6, 6.5.3.7, 6.5.3.8, 6.5.3.9, 6.5.3.10, 6.5.4.1, 6.5.4.2, 6.5.4.3, 6.5.4.4, 6.5.4.5, 6.5.4.6, 6.5.4.7, 6.5.4.8, 6.5.4.9, 6.5.4.10, 6.5.5.1, 6.5.5.2, 6.5.5.3, 6.5.5.4, 6.5.5.5, 6.5.5.6, 6.5.5.7, 6.5.5.8, 6.5.5.9, 6.5.5.10, 6.5.6.1, 6.5.6.2, 6.5.6.3, 6.5.6.4, 6.5.6.5, 6.5.6.6, 6.5.6.7, 6.5.6.8, 6.5.6.9, 6.5.6.10, 6.5.7.1, 6.5.7.2, 6.5.7.3, 6.5.7.4, 6.5.7.5, 6.5.7.6, 6.5.7.7, 6.5.7.8, 6.5.7.9, 6.5.7.10, 6.5.8.1, 6.5.8.2, 6.5.8.3, 6.5.8.4, 6.5.8.5, 6.5.8.6, 6.5.8.7, 6.5.8.8, 6.5.8.9, 6.5.8.10, 6.5.9.1, 6.5.9.2, 6.5.9.3, 6.5.9.4, 6.5.9.5, 6.5.9.6, 6.5.9.7, 6.5.9.8, 6.5.9.9, 6.5.9.10, 6.5.10.1, 6.5.10.2, 6.5.10.3, 6.5.10.4, 6.5.10.5, 6.5.10.6, 6.5.10.7, 6.5.10.8, 6.5.10.9, 6.5.10.10, 6.6.1.1, 6.6.1.2, 6.6.1.3, 6.6.1.4, 6.6.1.5, 6.6.1.6, 6.6.1.7, 6.6.1.8, 6.6.1.9, 6.6.1.10, 6.6.2.1, 6.6.2.2, 6.6.2.3, 6.6.2.4, 6.6.2.5, 6.6.2.6, 6.6.2.7, 6.6.2.8, 6.6.2.9, 6.6.2.10, 6.6.3.1, 6.6.3.2, 6.6.3.3, 6.6.3.4, 6.6.3.5, 6.6.3.6, 6.6.3.7, 6.6.3.8, 6.6.3.9, 6.6.3.10, 6.6.4.1, 6.6.4.2, 6.6.4.3, 6.6.4.4, 6.6.4.5, 6.6.4.6, 6.6.4.7, 6.6.4.8, 6.6.4.9, 6.6.4.10,

6.6.5.1, 6.6.5.2, 6.6.5.3, 6.6.5.4, 6.6.5.5, 6.6.5.6, 6.6.5.7, 6.6.5.8, 6.6.5.9, 6.6.5.10, 6.6.6.1, 6.6.6.2, 6.6.6.3, 6.6.6.4, 6.6.6.5, 6.6.6.6, 6.6.6.7, 6.6.6.8, 6.6.6.9, 6.6.6.10, 6.6.7.1, 6.6.7.2, 6.6.7.3, 6.6.7.4, 6.6.7.5, 6.6.7.6, 6.6.7.7, 6.6.7.8, 6.6.7.9, 6.6.7.10, 6.6.8.1, 6.6.8.2, 6.6.8.3, 6.6.8.4, 6.6.8.5, 6.6.8.6, 6.6.8.7, 6.6.8.8, 6.6.8.9, 6.6.8.10, 6.6.9.1, 6.6.9.2, 6.6.9.3, 6.6.9.4, 6.6.9.5, 6.6.9.6, 6.6.9.7, 6.6.9.8, 6.6.9.9, 6.6.9.10, 6.6.10.1, 6.6.10.2, 6.6.10.3, 6.6.10.4, 6.6.10.5, 6.6.10.6, 6.6.10.7, 6.6.10.8, 6.6.10.9, 6.6.10.10, 6.7.1.1, 6.7.1.2, 6.7.1.3, 6.7.1.4, 6.7.1.5, 6.7.1.6, 6.7.1.7, 6.7.1.8, 6.7.1.9, 6.7.1.10, 6.7.2.1, 6.7.2.2, 6.7.2.3, 6.7.2.4, 6.7.2.5, 6.7.2.6, 6.7.2.7, 6.7.2.8, 6.7.2.9, 6.7.2.10, 6.7.3.1, 6.7.3.2, 6.7.3.3, 6.7.3.4, 6.7.3.5, 6.7.3.6, 6.7.3.7, 6.7.3.8, 6.7.3.9, 6.7.3.10, 6.7.4.1, 6.7.4.2, 6.7.4.3, 6.7.4.4, 6.7.4.5, 6.7.4.6, 6.7.4.7, 6.7.4.8, 6.7.4.9, 6.7.4.10, 6.7.5.1, 6.7.5.2, 6.7.5.3, 6.7.5.4, 6.7.5.5, 6.7.5.6, 6.7.5.7, 6.7.5.8, 6.7.5.9, 6.7.5.10, 6.7.6.1, 6.7.6.2, 6.7.6.3, 6.7.6.4, 6.7.6.5, 6.7.6.6, 6.7.6.7, 6.7.6.8, 6.7.6.9, 6.7.6.10, 6.7.7.1, 6.7.7.2, 6.7.7.3, 6.7.7.4, 6.7.7.5, 6.7.7.6, 6.7.7.7, 6.7.7.8, 6.7.7.9, 6.7.7.10, 6.7.8.1, 6.7.8.2, 6.7.8.3, 6.7.8.4, 6.7.8.5, 6.7.8.6, 6.7.8.7, 6.7.8.8, 6.7.8.9, 6.7.8.10, 6.7.9.1, 6.7.9.2, 6.7.9.3, 6.7.9.4, 6.7.9.5, 6.7.9.6, 6.7.9.7, 6.7.9.8, 6.7.9.9, 6.7.9.10, 6.7.10.1, 6.7.10.2, 6.7.10.3, 6.7.10.4, 6.7.10.5, 6.7.10.6, 6.7.10.7, 6.7.10.8, 6.7.10.9, 6.7.10.10, 6.8.1.1, 6.8.1.2, 6.8.1.3, 6.8.1.4, 6.8.1.5, 6.8.1.6, 6.8.1.7, 6.8.1.8, 6.8.1.9, 6.8.1.10, 6.8.2.1, 6.8.2.2, 6.8.2.3, 6.8.2.4, 6.8.2.5, 6.8.2.6, 6.8.2.7, 6.8.2.8, 6.8.2.9, 6.8.2.10, 6.8.3.1, 6.8.3.2, 6.8.3.3, 6.8.3.4, 6.8.3.5, 6.8.3.6, 6.8.3.7, 6.8.3.8, 6.8.3.9, 6.8.3.10, 6.8.4.1, 6.8.4.2, 6.8.4.3, 6.8.4.4, 6.8.4.5, 6.8.4.6, 6.8.4.7, 6.8.4.8, 6.8.4.9, 6.8.4.10, 6.8.5.1, 6.8.5.2, 6.8.5.3, 6.8.5.4, 6.8.5.5, 6.8.5.6, 6.8.5.7, 6.8.5.8, 6.8.5.9, 6.8.5.10, 6.8.6.1, 6.8.6.2, 6.8.6.3, 6.8.6.4, 6.8.6.5, 6.8.6.6, 6.8.6.7, 6.8.6.8, 6.8.6.9, 6.8.6.10, 6.8.7.1, 6.8.7.2, 6.8.7.3, 6.8.7.4, 6.8.7.5, 6.8.7.6, 6.8.7.7, 6.8.7.8, 6.8.7.9, 6.8.7.10, 6.8.8.1, 6.8.8.2, 6.8.8.3, 6.8.8.4, 6.8.8.5, 6.8.8.6, 6.8.8.7, 6.8.8.8, 6.8.8.9, 6.8.8.10, 6.8.9.1, 6.8.9.2, 6.8.9.3, 6.8.9.4, 6.8.9.5, 6.8.9.6, 6.8.9.7, 6.8.9.8, 6.8.9.9, 6.8.9.10, 6.8.10.1, 6.8.10.2, 6.8.10.3, 6.8.10.4, 6.8.10.5, 6.8.10.6, 6.8.10.7, 6.8.10.8, 6.8.10.9, 6.8.10.10, 6.9.1.1, 6.9.1.2, 6.9.1.3, 6.9.1.4, 6.9.1.5, 6.9.1.6, 6.9.1.7, 6.9.1.8, 6.9.1.9, 6.9.1.10, 6.9.2.1, 6.9.2.2, 6.9.2.3, 6.9.2.4, 6.9.2.5, 6.9.2.6, 6.9.2.7, 6.9.2.8, 6.9.2.9, 6.9.2.10, 6.9.3.1, 6.9.3.2, 6.9.3.3, 6.9.3.4, 6.9.3.5, 6.9.3.6, 6.9.3.7, 6.9.3.8, 6.9.3.9, 6.9.3.10, 6.9.4.1, 6.9.4.2, 6.9.4.3, 6.9.4.4, 6.9.4.5, 6.9.4.6, 6.9.4.7, 6.9.4.8, 6.9.4.9, 6.9.4.10, 6.9.5.1, 6.9.5.2, 6.9.5.3, 6.9.5.4, 6.9.5.5, 6.9.5.6, 6.9.5.7, 6.9.5.8, 6.9.5.9, 6.9.5.10, 6.9.6.1, 6.9.6.2, 6.9.6.3, 6.9.6.4, 6.9.6.5, 6.9.6.6, 6.9.6.7, 6.9.6.8, 6.9.6.9, 6.9.6.10, 6.9.7.1, 6.9.7.2, 6.9.7.3, 6.9.7.4, 6.9.7.5, 6.9.7.6, 6.9.7.7, 6.9.7.8, 6.9.7.9, 6.9.7.10, 6.9.8.1, 6.9.8.2, 6.9.8.3, 6.9.8.4, 6.9.8.5, 6.9.8.6, 6.9.8.7, 6.9.8.8, 6.9.8.9, 6.9.8.10, 6.9.9.1, 6.9.9.2, 6.9.9.3, 6.9.9.4, 6.9.9.5, 6.9.9.6, 6.9.9.7, 6.9.9.8, 6.9.9.9, 6.9.9.10, 6.9.10.1, 6.9.10.2, 6.9.10.3, 6.9.10.4,

6.9.10.5, 6.9.10.6, 6.9.10.7, 6.9.10.8, 6.9.10.9, 6.9.10.10, 6.10.1.1, 6.10.1.2, 6.10.1.3, 6.10.1.4, 6.10.1.5, 6.10.1.6, 6.10.1.7, 6.10.1.8, 6.10.1.9, 6.10.1.10, 6.10.2.1, 6.10.2.2, 6.10.2.3, 6.10.2.4, 6.10.2.5, 6.10.2.6, 6.10.2.7, 6.10.2.8, 6.10.2.9, 6.10.2.10, 6.10.3.1, 6.10.3.2, 6.10.3.3, 6.10.3.4, 6.10.3.5, 6.10.3.6, 6.10.3.7, 6.10.3.8, 6.10.3.9, 6.10.3.10, 6.10.4.1, 6.10.4.2, 6.10.4.3, 6.10.4.4, 6.10.4.5, 6.10.4.6, 6.10.4.7, 6.10.4.8, 6.10.4.9, 6.10.4.10, 6.10.5.1, 6.10.5.2, 6.10.5.3, 6.10.5.4, 6.10.5.5, 6.10.5.6, 6.10.5.7, 6.10.5.8, 6.10.5.9, 6.10.5.10, 6.10.6.1, 6.10.6.2, 6.10.6.3, 6.10.6.4, 6.10.6.5, 6.10.6.6, 6.10.6.7, 6.10.6.8, 6.10.6.9, 6.10.6.10, 6.10.7.1, 6.10.7.2, 6.10.7.3, 6.10.7.4, 6.10.7.5, 6.10.7.6, 6.10.7.7, 6.10.7.8, 6.10.7.9, 6.10.7.10, 6.10.8.1, 6.10.8.2, 6.10.8.3, 6.10.8.4, 6.10.8.5, 6.10.8.6, 6.10.8.7, 6.10.8.8, 6.10.8.9, 6.10.8.10, 6.10.9.1, 6.10.9.2, 6.10.9.3, 6.10.9.4, 6.10.9.5, 6.10.9.6, 6.10.9.7, 6.10.9.8, 6.10.9.9, 6.10.9.10, 6.10.10.1, 6.10.10.2, 6.10.10.3, 6.10.10.4, 6.10.10.5, 6.10.10.6, 6.10.10.7, 6.10.10.8, 6.10.10.9, 6.10.10.10, 7.1.1.1, 7.1.1.2, 7.1.1.3, 7.1.1.4, 7.1.1.5, 7.1.1.6, 7.1.1.7, 7.1.1.8, 7.1.1.9, 7.1.1.10, 7.1.2.1, 7.1.2.2, 7.1.2.3, 7.1.2.4, 7.1.2.5, 7.1.2.6, 7.1.2.7, 7.1.2.8, 7.1.2.9, 7.1.2.10, 7.1.3.1, 7.1.3.2, 7.1.3.3, 7.1.3.4, 7.1.3.5, 7.1.3.6, 7.1.3.7, 7.1.3.8, 7.1.3.9, 7.1.3.10, 7.1.4.1, 7.1.4.2, 7.1.4.3, 7.1.4.4, 7.1.4.5, 7.1.4.6, 7.1.4.7, 7.1.4.8, 7.1.4.9, 7.1.4.10, 7.1.5.1, 7.1.5.2, 7.1.5.3, 7.1.5.4, 7.1.5.5, 7.1.5.6, 7.1.5.7, 7.1.5.8, 7.1.5.9, 7.1.5.10, 7.1.6.1, 7.1.6.2, 7.1.6.3, 7.1.6.4, 7.1.6.5, 7.1.6.6, 7.1.6.7, 7.1.6.8, 7.1.6.9, 7.1.6.10, 7.1.7.1, 7.1.7.2, 7.1.7.3, 7.1.7.4, 7.1.7.5, 7.1.7.6, 7.1.7.7, 7.1.7.8, 7.1.7.9, 7.1.7.10, 7.1.8.1, 7.1.8.2, 7.1.8.3, 7.1.8.4, 7.1.8.5, 7.1.8.6, 7.1.8.7, 7.1.8.8, 7.1.8.9, 7.1.8.10, 7.1.9.1, 7.1.9.2, 7.1.9.3, 7.1.9.4, 7.1.9.5, 7.1.9.6, 7.1.9.7, 7.1.9.8, 7.1.9.9, 7.1.9.10, 7.1.10.1, 7.1.10.2, 7.1.10.3, 7.1.10.4, 7.1.10.5, 7.1.10.6, 7.1.10.7, 7.1.10.8, 7.1.10.9, 7.1.10.10, 7.2.1.1, 7.2.1.2, 7.2.1.3, 7.2.1.4, 7.2.1.5, 7.2.1.6, 7.2.1.7, 7.2.1.8, 7.2.1.9, 7.2.1.10, 7.2.2.1, 7.2.2.2, 7.2.2.3, 7.2.2.4, 7.2.2.5, 7.2.2.6, 7.2.2.7, 7.2.2.8, 7.2.2.9, 7.2.2.10, 7.2.3.1, 7.2.3.2, 7.2.3.3, 7.2.3.4, 7.2.3.5, 7.2.3.6, 7.2.3.7, 7.2.3.8, 7.2.3.9, 7.2.3.10, 7.2.4.1, 7.2.4.2, 7.2.4.3, 7.2.4.4, 7.2.4.5, 7.2.4.6, 7.2.4.7, 7.2.4.8, 7.2.4.9, 7.2.4.10, 7.2.5.1, 7.2.5.2, 7.2.5.3, 7.2.5.4, 7.2.5.5, 7.2.5.6, 7.2.5.7, 7.2.5.8, 7.2.5.9, 7.2.5.10, 7.2.6.1, 7.2.6.2, 7.2.6.3, 7.2.6.4, 7.2.6.5, 7.2.6.6, 7.2.6.7, 7.2.6.8, 7.2.6.9, 7.2.6.10, 7.2.7.1, 7.2.7.2, 7.2.7.3, 7.2.7.4, 7.2.7.5, 7.2.7.6, 7.2.7.7, 7.2.7.8, 7.2.7.9, 7.2.7.10, 7.2.8.1, 7.2.8.2, 7.2.8.3, 7.2.8.4, 7.2.8.5, 7.2.8.6, 7.2.8.7, 7.2.8.8, 7.2.8.9, 7.2.8.10, 7.2.9.1, 7.2.9.2, 7.2.9.3, 7.2.9.4, 7.2.9.5, 7.2.9.6, 7.2.9.7, 7.2.9.8, 7.2.9.9, 7.2.9.10, 7.2.10.1, 7.2.10.2, 7.2.10.3, 7.2.10.4, 7.2.10.5, 7.2.10.6, 7.2.10.7, 7.2.10.8, 7.2.10.9, 7.2.10.10, 7.3.1.1, 7.3.1.2, 7.3.1.3, 7.3.1.4, 7.3.1.5, 7.3.1.6, 7.3.1.7, 7.3.1.8, 7.3.1.9, 7.3.1.10, 7.3.2.1, 7.3.2.2, 7.3.2.3, 7.3.2.4, 7.3.2.5, 7.3.2.6, 7.3.2.7, 7.3.2.8, 7.3.2.9, 7.3.2.10, 7.3.3.1, 7.3.3.2, 7.3.3.3, 7.3.3.4, 7.3.3.5, 7.3.3.6, 7.3.3.7, 7.3.3.8,

7.3.3.9, 7.3.3.10, 7.3.4.1, 7.3.4.2, 7.3.4.3, 7.3.4.4, 7.3.4.5, 7.3.4.6, 7.3.4.7, 7.3.4.8, 7.3.4.9, 7.3.4.10, 7.3.5.1, 7.3.5.2, 7.3.5.3, 7.3.5.4, 7.3.5.5, 7.3.5.6, 7.3.5.7, 7.3.5.8, 7.3.5.9, 7.3.5.10, 7.3.6.1, 7.3.6.2, 7.3.6.3, 7.3.6.4, 7.3.6.5, 7.3.6.6, 7.3.6.7, 7.3.6.8, 7.3.6.9, 7.3.6.10, 7.3.7.1, 7.3.7.2, 7.3.7.3, 7.3.7.4, 7.3.7.5, 7.3.7.6, 7.3.7.7, 7.3.7.8, 7.3.7.9, 7.3.7.10, 7.3.8.1, 7.3.8.2, 7.3.8.3, 7.3.8.4, 7.3.8.5, 7.3.8.6, 7.3.8.7, 7.3.8.8, 7.3.8.9, 7.3.8.10, 7.3.9.1, 7.3.9.2, 7.3.9.3, 7.3.9.4, 7.3.9.5, 7.3.9.6, 7.3.9.7, 7.3.9.8, 7.3.9.9, 7.3.9.10, 7.3.10.1, 7.3.10.2, 7.3.10.3, 7.3.10.4, 7.3.10.5, 7.3.10.6, 7.3.10.7, 7.3.10.8, 7.3.10.9, 7.3.10.10, 7.4.1.1, 7.4.1.2, 7.4.1.3, 7.4.1.4, 7.4.1.5, 7.4.1.6, 7.4.1.7, 7.4.1.8, 7.4.1.9, 7.4.1.10, 7.4.2.1, 7.4.2.2, 7.4.2.3, 7.4.2.4, 7.4.2.5, 7.4.2.6, 7.4.2.7, 7.4.2.8, 7.4.2.9, 7.4.2.10, 7.4.3.1, 7.4.3.2, 7.4.3.3, 7.4.3.4, 7.4.3.5, 7.4.3.6, 7.4.3.7, 7.4.3.8, 7.4.3.9, 7.4.3.10, 7.4.4.1, 7.4.4.2, 7.4.4.3, 7.4.4.4, 7.4.4.5, 7.4.4.6, 7.4.4.7, 7.4.4.8, 7.4.4.9, 7.4.4.10, 7.4.5.1, 7.4.5.2, 7.4.5.3, 7.4.5.4, 7.4.5.5, 7.4.5.6, 7.4.5.7, 7.4.5.8, 7.4.5.9, 7.4.5.10, 7.4.6.1, 7.4.6.2, 7.4.6.3, 7.4.6.4, 7.4.6.5, 7.4.6.6, 7.4.6.7, 7.4.6.8, 7.4.6.9, 7.4.6.10, 7.4.7.1, 7.4.7.2, 7.4.7.3, 7.4.7.4, 7.4.7.5, 7.4.7.6, 7.4.7.7, 7.4.7.8, 7.4.7.9, 7.4.7.10, 7.4.8.1, 7.4.8.2, 7.4.8.3, 7.4.8.4, 7.4.8.5, 7.4.8.6, 7.4.8.7, 7.4.8.8, 7.4.8.9, 7.4.8.10, 7.4.9.1, 7.4.9.2, 7.4.9.3, 7.4.9.4, 7.4.9.5, 7.4.9.6, 7.4.9.7, 7.4.9.8, 7.4.9.9, 7.4.9.10, 7.4.10.1, 7.4.10.2, 7.4.10.3, 7.4.10.4, 7.4.10.5, 7.4.10.6, 7.4.10.7, 7.4.10.8, 7.4.10.9, 7.4.10.10, 7.5.1.1, 7.5.1.2, 7.5.1.3, 7.5.1.4, 7.5.1.5, 7.5.1.6, 7.5.1.7, 7.5.1.8, 7.5.1.9, 7.5.1.10, 7.5.2.1, 7.5.2.2, 7.5.2.3, 7.5.2.4, 7.5.2.5, 7.5.2.6, 7.5.2.7, 7.5.2.8, 7.5.2.9, 7.5.2.10, 7.5.3.1, 7.5.3.2, 7.5.3.3, 7.5.3.4, 7.5.3.5, 7.5.3.6, 7.5.3.7, 7.5.3.8, 7.5.3.9, 7.5.3.10, 7.5.4.1, 7.5.4.2, 7.5.4.3, 7.5.4.4, 7.5.4.5, 7.5.4.6, 7.5.4.7, 7.5.4.8, 7.5.4.9, 7.5.4.10, 7.5.5.1, 7.5.5.2, 7.5.5.3, 7.5.5.4, 7.5.5.5, 7.5.5.6, 7.5.5.7, 7.5.5.8, 7.5.5.9, 7.5.5.10, 7.5.6.1, 7.5.6.2, 7.5.6.3, 7.5.6.4, 7.5.6.5, 7.5.6.6, 7.5.6.7, 7.5.6.8, 7.5.6.9, 7.5.6.10, 7.5.7.1, 7.5.7.2, 7.5.7.3, 7.5.7.4, 7.5.7.5, 7.5.7.6, 7.5.7.7, 7.5.7.8, 7.5.7.9, 7.5.7.10, 7.5.8.1, 7.5.8.2, 7.5.8.3, 7.5.8.4, 7.5.8.5, 7.5.8.6, 7.5.8.7, 7.5.8.8, 7.5.8.9, 7.5.8.10, 7.5.9.1, 7.5.9.2, 7.5.9.3, 7.5.9.4, 7.5.9.5, 7.5.9.6, 7.5.9.7, 7.5.9.8, 7.5.9.9, 7.5.9.10, 7.5.10.1, 7.5.10.2, 7.5.10.3, 7.5.10.4, 7.5.10.5, 7.5.10.6, 7.5.10.7, 7.5.10.8, 7.5.10.9, 7.5.10.10, 7.6.1.1, 7.6.1.2, 7.6.1.3, 7.6.1.4, 7.6.1.5, 7.6.1.6, 7.6.1.7, 7.6.1.8, 7.6.1.9, 7.6.1.10, 7.6.2.1, 7.6.2.2, 7.6.2.3, 7.6.2.4, 7.6.2.5, 7.6.2.6, 7.6.2.7, 7.6.2.8, 7.6.2.9, 7.6.2.10, 7.6.3.1, 7.6.3.2, 7.6.3.3, 7.6.3.4, 7.6.3.5, 7.6.3.6, 7.6.3.7, 7.6.3.8, 7.6.3.9, 7.6.3.10, 7.6.4.1, 7.6.4.2, 7.6.4.3, 7.6.4.4, 7.6.4.5, 7.6.4.6, 7.6.4.7, 7.6.4.8, 7.6.4.9, 7.6.4.10, 7.6.5.1, 7.6.5.2, 7.6.5.3, 7.6.5.4, 7.6.5.5, 7.6.5.6, 7.6.5.7, 7.6.5.8, 7.6.5.9, 7.6.5.10, 7.6.6.1, 7.6.6.2, 7.6.6.3, 7.6.6.4, 7.6.6.5, 7.6.6.6, 7.6.6.7, 7.6.6.8, 7.6.6.9, 7.6.6.10, 7.6.7.1, 7.6.7.2, 7.6.7.3, 7.6.7.4, 7.6.7.5, 7.6.7.6, 7.6.7.7, 7.6.7.8, 7.6.7.9, 7.6.7.10, 7.6.8.1, 7.6.8.2, 7.6.8.3, 7.6.8.4, 7.6.8.5, 7.6.8.6, 7.6.8.7, 7.6.8.8, 7.6.8.9, 7.6.8.10, 7.6.9.1, 7.6.9.2, 7.6.9.3, 7.6.9.4,

7.6.9.5, 7.6.9.6, 7.6.9.7, 7.6.9.8, 7.6.9.9, 7.6.9.10, 7.6.10.1, 7.6.10.2, 7.6.10.3, 7.6.10.4, 7.6.10.5, 7.6.10.6, 7.6.10.7, 7.6.10.8, 7.6.10.9, 7.6.10.10, 7.7.1.1, 7.7.1.2, 7.7.1.3, 7.7.1.4, 7.7.1.5, 7.7.1.6, 7.7.1.7, 7.7.1.8, 7.7.1.9, 7.7.1.10, 7.7.2.1, 7.7.2.2, 7.7.2.3, 7.7.2.4, 7.7.2.5, 7.7.2.6, 7.7.2.7, 7.7.2.8, 7.7.2.9, 7.7.2.10, 7.7.3.1, 7.7.3.2, 7.7.3.3, 7.7.3.4, 7.7.3.5, 7.7.3.6, 7.7.3.7, 7.7.3.8, 7.7.3.9, 7.7.3.10, 7.7.4.1, 7.7.4.2, 7.7.4.3, 7.7.4.4, 7.7.4.5, 7.7.4.6, 7.7.4.7, 7.7.4.8, 7.7.4.9, 7.7.4.10, 7.7.5.1, 7.7.5.2, 7.7.5.3, 7.7.5.4, 7.7.5.5, 7.7.5.6, 7.7.5.7, 7.7.5.8, 7.7.5.9, 7.7.5.10, 7.7.6.1, 7.7.6.2, 7.7.6.3, 7.7.6.4, 7.7.6.5, 7.7.6.6, 7.7.6.7, 7.7.6.8, 7.7.6.9, 7.7.6.10, 7.7.7.1, 7.7.7.2, 7.7.7.3, 7.7.7.4, 7.7.7.5, 7.7.7.6, 7.7.7.7, 7.7.7.8, 7.7.7.9, 7.7.7.10, 7.7.8.1, 7.7.8.2, 7.7.8.3, 7.7.8.4, 7.7.8.5, 7.7.8.6, 7.7.8.7, 7.7.8.8, 7.7.8.9, 7.7.8.10, 7.7.9.1, 7.7.9.2, 7.7.9.3, 7.7.9.4, 7.7.9.5, 7.7.9.6, 7.7.9.7, 7.7.9.8, 7.7.9.9, 7.7.9.10, 7.7.10.1, 7.7.10.2, 7.7.10.3, 7.7.10.4, 7.7.10.5, 7.7.10.6, 7.7.10.7, 7.7.10.8, 7.7.10.9, 7.7.10.10, 7.8.1.1, 7.8.1.2, 7.8.1.3, 7.8.1.4, 7.8.1.5, 7.8.1.6, 7.8.1.7, 7.8.1.8, 7.8.1.9, 7.8.1.10, 7.8.2.1, 7.8.2.2, 7.8.2.3, 7.8.2.4, 7.8.2.5, 7.8.2.6, 7.8.2.7, 7.8.2.8, 7.8.2.9, 7.8.2.10, 7.8.3.1, 7.8.3.2, 7.8.3.3, 7.8.3.4, 7.8.3.5, 7.8.3.6, 7.8.3.7, 7.8.3.8, 7.8.3.9, 7.8.3.10, 7.8.4.1, 7.8.4.2, 7.8.4.3, 7.8.4.4, 7.8.4.5, 7.8.4.6, 7.8.4.7, 7.8.4.8, 7.8.4.9, 7.8.4.10, 7.8.5.1, 7.8.5.2, 7.8.5.3, 7.8.5.4, 7.8.5.5, 7.8.5.6, 7.8.5.7, 7.8.5.8, 7.8.5.9, 7.8.5.10, 7.8.6.1, 7.8.6.2, 7.8.6.3, 7.8.6.4, 7.8.6.5, 7.8.6.6, 7.8.6.7, 7.8.6.8, 7.8.6.9, 7.8.6.10, 7.8.7.1, 7.8.7.2, 7.8.7.3, 7.8.7.4, 7.8.7.5, 7.8.7.6, 7.8.7.7, 7.8.7.8, 7.8.7.9, 7.8.7.10, 7.8.8.1, 7.8.8.2, 7.8.8.3, 7.8.8.4, 7.8.8.5, 7.8.8.6, 7.8.8.7, 7.8.8.8, 7.8.8.9, 7.8.8.10, 7.8.9.1, 7.8.9.2, 7.8.9.3, 7.8.9.4, 7.8.9.5, 7.8.9.6, 7.8.9.7, 7.8.9.8, 7.8.9.9, 7.8.9.10, 7.8.10.1, 7.8.10.2, 7.8.10.3, 7.8.10.4, 7.8.10.5, 7.8.10.6, 7.8.10.7, 7.8.10.8, 7.8.10.9, 7.8.10.10, 7.9.1.1, 7.9.1.2, 7.9.1.3, 7.9.1.4, 7.9.1.5, 7.9.1.6, 7.9.1.7, 7.9.1.8, 7.9.1.9, 7.9.1.10, 7.9.2.1, 7.9.2.2, 7.9.2.3, 7.9.2.4, 7.9.2.5, 7.9.2.6, 7.9.2.7, 7.9.2.8, 7.9.2.9, 7.9.2.10, 7.9.3.1, 7.9.3.2, 7.9.3.3, 7.9.3.4, 7.9.3.5, 7.9.3.6, 7.9.3.7, 7.9.3.8, 7.9.3.9, 7.9.3.10, 7.9.4.1, 7.9.4.2, 7.9.4.3, 7.9.4.4, 7.9.4.5, 7.9.4.6, 7.9.4.7, 7.9.4.8, 7.9.4.9, 7.9.4.10, 7.9.5.1, 7.9.5.2, 7.9.5.3, 7.9.5.4, 7.9.5.5, 7.9.5.6, 7.9.5.7, 7.9.5.8, 7.9.5.9, 7.9.5.10, 7.9.6.1, 7.9.6.2, 7.9.6.3, 7.9.6.4, 7.9.6.5, 7.9.6.6, 7.9.6.7, 7.9.6.8, 7.9.6.9, 7.9.6.10, 7.9.7.1, 7.9.7.2, 7.9.7.3, 7.9.7.4, 7.9.7.5, 7.9.7.6, 7.9.7.7, 7.9.7.8, 7.9.7.9, 7.9.7.10, 7.9.8.1, 7.9.8.2, 7.9.8.3, 7.9.8.4, 7.9.8.5, 7.9.8.6, 7.9.8.7, 7.9.8.8, 7.9.8.9, 7.9.8.10, 7.9.9.1, 7.9.9.2, 7.9.9.3, 7.9.9.4, 7.9.9.5, 7.9.9.6, 7.9.9.7, 7.9.9.8, 7.9.9.9, 7.9.9.10, 7.9.10.1, 7.9.10.2, 7.9.10.3, 7.9.10.4, 7.9.10.5, 7.9.10.6, 7.9.10.7, 7.9.10.8, 7.9.10.9, 7.9.10.10, 7.10.1.1, 7.10.1.2, 7.10.1.3, 7.10.1.4, 7.10.1.5, 7.10.1.6, 7.10.1.7, 7.10.1.8, 7.10.1.9, 7.10.1.10, 7.10.2.1, 7.10.2.2, 7.10.2.3, 7.10.2.4, 7.10.2.5, 7.10.2.6, 7.10.2.7, 7.10.2.8, 7.10.2.9, 7.10.2.10, 7.10.3.1, 7.10.3.2, 7.10.3.3, 7.10.3.4, 7.10.3.5, 7.10.3.6, 7.10.3.7, 7.10.3.8, 7.10.3.9, 7.10.3.10,

7.10.4.1, 7.10.4.2, 7.10.4.3, 7.10.4.4, 7.10.4.5, 7.10.4.6, 7.10.4.7, 7.10.4.8, 7.10.4.9,
7.10.4.10, 7.10.5.1, 7.10.5.2, 7.10.5.3, 7.10.5.4, 7.10.5.5, 7.10.5.6, 7.10.5.7, 7.10.5.8,
7.10.5.9, 7.10.5.10, 7.10.6.1, 7.10.6.2, 7.10.6.3, 7.10.6.4, 7.10.6.5, 7.10.6.6, 7.10.6.7,
7.10.6.8, 7.10.6.9, 7.10.6.10, 7.10.7.1, 7.10.7.2, 7.10.7.3, 7.10.7.4, 7.10.7.5, 7.10.7.6,
7.10.7.7, 7.10.7.8, 7.10.7.9, 7.10.7.10, 7.10.8.1, 7.10.8.2, 7.10.8.3, 7.10.8.4, 7.10.8.5,
7.10.8.6, 7.10.8.7, 7.10.8.8, 7.10.8.9, 7.10.8.10, 7.10.9.1, 7.10.9.2, 7.10.9.3, 7.10.9.4,
7.10.9.5, 7.10.9.6, 7.10.9.7, 7.10.9.8, 7.10.9.9, 7.10.9.10, 7.10.10.1, 7.10.10.2, 7.10.10.3,
7.10.10.4, 7.10.10.5, 7.10.10.6, 7.10.10.7, 7.10.10.8, 7.10.10.9, 7.10.10.10, 8.1.1.1, 8.1.1.2,
8.1.1.3, 8.1.1.4, 8.1.1.5, 8.1.1.6, 8.1.1.7, 8.1.1.8, 8.1.1.9, 8.1.1.10, 8.1.2.1, 8.1.2.2, 8.1.2.3,
8.1.2.4, 8.1.2.5, 8.1.2.6, 8.1.2.7, 8.1.2.8, 8.1.2.9, 8.1.2.10, 8.1.3.1, 8.1.3.2, 8.1.3.3, 8.1.3.4,
8.1.3.5, 8.1.3.6, 8.1.3.7, 8.1.3.8, 8.1.3.9, 8.1.3.10, 8.1.4.1, 8.1.4.2, 8.1.4.3, 8.1.4.4, 8.1.4.5,
8.1.4.6, 8.1.4.7, 8.1.4.8, 8.1.4.9, 8.1.4.10, 8.1.5.1, 8.1.5.2, 8.1.5.3, 8.1.5.4, 8.1.5.5, 8.1.5.6,
8.1.5.7, 8.1.5.8, 8.1.5.9, 8.1.5.10, 8.1.6.1, 8.1.6.2, 8.1.6.3, 8.1.6.4, 8.1.6.5, 8.1.6.6, 8.1.6.7,
8.1.6.8, 8.1.6.9, 8.1.6.10, 8.1.7.1, 8.1.7.2, 8.1.7.3, 8.1.7.4, 8.1.7.5, 8.1.7.6, 8.1.7.7, 8.1.7.8,
8.1.7.9, 8.1.7.10, 8.1.8.1, 8.1.8.2, 8.1.8.3, 8.1.8.4, 8.1.8.5, 8.1.8.6, 8.1.8.7, 8.1.8.8, 8.1.8.9,
8.1.8.10, 8.1.9.1, 8.1.9.2, 8.1.9.3, 8.1.9.4, 8.1.9.5, 8.1.9.6, 8.1.9.7, 8.1.9.8, 8.1.9.9, 8.1.9.10,
8.1.10.1, 8.1.10.2, 8.1.10.3, 8.1.10.4, 8.1.10.5, 8.1.10.6, 8.1.10.7, 8.1.10.8, 8.1.10.9,
8.1.10.10, 8.2.1.1, 8.2.1.2, 8.2.1.3, 8.2.1.4, 8.2.1.5, 8.2.1.6, 8.2.1.7, 8.2.1.8, 8.2.1.9,
8.2.1.10, 8.2.2.1, 8.2.2.2, 8.2.2.3, 8.2.2.4, 8.2.2.5, 8.2.2.6, 8.2.2.7, 8.2.2.8, 8.2.2.9, 8.2.2.10,
8.2.3.1, 8.2.3.2, 8.2.3.3, 8.2.3.4, 8.2.3.5, 8.2.3.6, 8.2.3.7, 8.2.3.8, 8.2.3.9, 8.2.3.10, 8.2.4.1,
8.2.4.2, 8.2.4.3, 8.2.4.4, 8.2.4.5, 8.2.4.6, 8.2.4.7, 8.2.4.8, 8.2.4.9, 8.2.4.10, 8.2.5.1, 8.2.5.2,
8.2.5.3, 8.2.5.4, 8.2.5.5, 8.2.5.6, 8.2.5.7, 8.2.5.8, 8.2.5.9, 8.2.5.10, 8.2.6.1, 8.2.6.2, 8.2.6.3,
8.2.6.4, 8.2.6.5, 8.2.6.6, 8.2.6.7, 8.2.6.8, 8.2.6.9, 8.2.6.10, 8.2.7.1, 8.2.7.2, 8.2.7.3, 8.2.7.4,
8.2.7.5, 8.2.7.6, 8.2.7.7, 8.2.7.8, 8.2.7.9, 8.2.7.10, 8.2.8.1, 8.2.8.2, 8.2.8.3, 8.2.8.4, 8.2.8.5,
8.2.8.6, 8.2.8.7, 8.2.8.8, 8.2.8.9, 8.2.8.10, 8.2.9.1, 8.2.9.2, 8.2.9.3, 8.2.9.4, 8.2.9.5, 8.2.9.6,
8.2.9.7, 8.2.9.8, 8.2.9.9, 8.2.9.10, 8.2.10.1, 8.2.10.2, 8.2.10.3, 8.2.10.4, 8.2.10.5, 8.2.10.6,
8.2.10.7, 8.2.10.8, 8.2.10.9, 8.2.10.10, 8.3.1.1, 8.3.1.2, 8.3.1.3, 8.3.1.4, 8.3.1.5, 8.3.1.6,
8.3.1.7, 8.3.1.8, 8.3.1.9, 8.3.1.10, 8.3.2.1, 8.3.2.2, 8.3.2.3, 8.3.2.4, 8.3.2.5, 8.3.2.6, 8.3.2.7,
8.3.2.8, 8.3.2.9, 8.3.2.10, 8.3.3.1, 8.3.3.2, 8.3.3.3, 8.3.3.4, 8.3.3.5, 8.3.3.6, 8.3.3.7, 8.3.3.8,
8.3.3.9, 8.3.3.10, 8.3.4.1, 8.3.4.2, 8.3.4.3, 8.3.4.4, 8.3.4.5, 8.3.4.6, 8.3.4.7, 8.3.4.8, 8.3.4.9,
8.3.4.10, 8.3.5.1, 8.3.5.2, 8.3.5.3, 8.3.5.4, 8.3.5.5, 8.3.5.6, 8.3.5.7, 8.3.5.8, 8.3.5.9, 8.3.5.10,
8.3.6.1, 8.3.6.2, 8.3.6.3, 8.3.6.4, 8.3.6.5, 8.3.6.6, 8.3.6.7, 8.3.6.8, 8.3.6.9, 8.3.6.10, 8.3.7.1,
8.3.7.2, 8.3.7.3, 8.3.7.4, 8.3.7.5, 8.3.7.6, 8.3.7.7, 8.3.7.8, 8.3.7.9, 8.3.7.10, 8.3.8.1, 8.3.8.2,

[illegible]

8.7.3.7, 8.7.3.8, 8.7.3.9, 8.7.3.10, 8.7.4.1, 8.7.4.2, 8.7.4.3, 8.7.4.4, 8.7.4.5, 8.7.4.6, 8.7.4.7, 8.7.4.8, 8.7.4.9, 8.7.4.10, 8.7.5.1, 8.7.5.2, 8.7.5.3, 8.7.5.4, 8.7.5.5, 8.7.5.6, 8.7.5.7, 8.7.5.8, 8.7.5.9, 8.7.5.10, 8.7.6.1, 8.7.6.2, 8.7.6.3, 8.7.6.4, 8.7.6.5, 8.7.6.6, 8.7.6.7, 8.7.6.8, 8.7.6.9, 8.7.6.10, 8.7.7.1, 8.7.7.2, 8.7.7.3, 8.7.7.4, 8.7.7.5, 8.7.7.6, 8.7.7.7, 8.7.7.8, 8.7.7.9, 8.7.7.10, 8.7.8.1, 8.7.8.2, 8.7.8.3, 8.7.8.4, 8.7.8.5, 8.7.8.6, 8.7.8.7, 8.7.8.8, 8.7.8.9, 8.7.8.10, 8.7.9.1, 8.7.9.2, 8.7.9.3, 8.7.9.4, 8.7.9.5, 8.7.9.6, 8.7.9.7, 8.7.9.8, 8.7.9.9, 8.7.9.10, 8.7.10.1, 8.7.10.2, 8.7.10.3, 8.7.10.4, 8.7.10.5, 8.7.10.6, 8.7.10.7, 8.7.10.8, 8.7.10.9, 8.7.10.10, 8.8.1.1, 8.8.1.2, 8.8.1.3, 8.8.1.4, 8.8.1.5, 8.8.1.6, 8.8.1.7, 8.8.1.8, 8.8.1.9, 8.8.1.10, 8.8.2.1, 8.8.2.2, 8.8.2.3, 8.8.2.4, 8.8.2.5, 8.8.2.6, 8.8.2.7, 8.8.2.8, 8.8.2.9, 8.8.2.10, 8.8.3.1, 8.8.3.2, 8.8.3.3, 8.8.3.4, 8.8.3.5, 8.8.3.6, 8.8.3.7, 8.8.3.8, 8.8.3.9, 8.8.3.10, 8.8.4.1, 8.8.4.2, 8.8.4.3, 8.8.4.4, 8.8.4.5, 8.8.4.6, 8.8.4.7, 8.8.4.8, 8.8.4.9, 8.8.4.10, 8.8.5.1, 8.8.5.2, 8.8.5.3, 8.8.5.4, 8.8.5.5, 8.8.5.6, 8.8.5.7, 8.8.5.8, 8.8.5.9, 8.8.5.10, 8.8.6.1, 8.8.6.2, 8.8.6.3, 8.8.6.4, 8.8.6.5, 8.8.6.6, 8.8.6.7, 8.8.6.8, 8.8.6.9, 8.8.6.10, 8.8.7.1, 8.8.7.2, 8.8.7.3, 8.8.7.4, 8.8.7.5, 8.8.7.6, 8.8.7.7, 8.8.7.8, 8.8.7.9, 8.8.7.10, 8.8.8.1, 8.8.8.2, 8.8.8.3, 8.8.8.4, 8.8.8.5, 8.8.8.6, 8.8.8.7, 8.8.8.8, 8.8.8.9, 8.8.8.10, 8.8.9.1, 8.8.9.2, 8.8.9.3, 8.8.9.4, 8.8.9.5, 8.8.9.6, 8.8.9.7, 8.8.9.8, 8.8.9.9, 8.8.9.10, 8.8.10.1, 8.8.10.2, 8.8.10.3, 8.8.10.4, 8.8.10.5, 8.8.10.6, 8.8.10.7, 8.8.10.8, 8.8.10.9, 8.8.10.10, 8.9.1.1, 8.9.1.2, 8.9.1.3, 8.9.1.4, 8.9.1.5, 8.9.1.6, 8.9.1.7, 8.9.1.8, 8.9.1.9, 8.9.1.10, 8.9.2.1, 8.9.2.2, 8.9.2.3, 8.9.2.4, 8.9.2.5, 8.9.2.6, 8.9.2.7, 8.9.2.8, 8.9.2.9, 8.9.2.10, 8.9.3.1, 8.9.3.2, 8.9.3.3, 8.9.3.4, 8.9.3.5, 8.9.3.6, 8.9.3.7, 8.9.3.8, 8.9.3.9, 8.9.3.10, 8.9.4.1, 8.9.4.2, 8.9.4.3, 8.9.4.4, 8.9.4.5, 8.9.4.6, 8.9.4.7, 8.9.4.8, 8.9.4.9, 8.9.4.10, 8.9.5.1, 8.9.5.2, 8.9.5.3, 8.9.5.4, 8.9.5.5, 8.9.5.6, 8.9.5.7, 8.9.5.8, 8.9.5.9, 8.9.5.10, 8.9.6.1, 8.9.6.2, 8.9.6.3, 8.9.6.4, 8.9.6.5, 8.9.6.6, 8.9.6.7, 8.9.6.8, 8.9.6.9, 8.9.6.10, 8.9.7.1, 8.9.7.2, 8.9.7.3, 8.9.7.4, 8.9.7.5, 8.9.7.6, 8.9.7.7, 8.9.7.8, 8.9.7.9, 8.9.7.10, 8.9.8.1, 8.9.8.2, 8.9.8.3, 8.9.8.4, 8.9.8.5, 8.9.8.6, 8.9.8.7, 8.9.8.8, 8.9.8.9, 8.9.8.10, 8.9.9.1, 8.9.9.2, 8.9.9.3, 8.9.9.4, 8.9.9.5, 8.9.9.6, 8.9.9.7, 8.9.9.8, 8.9.9.9, 8.9.9.10, 8.9.10.1, 8.9.10.2, 8.9.10.3, 8.9.10.4, 8.9.10.5, 8.9.10.6, 8.9.10.7, 8.9.10.8, 8.9.10.9, 8.9.10.10, 8.10.1.1, 8.10.1.2, 8.10.1.3, 8.10.1.4, 8.10.1.5, 8.10.1.6, 8.10.1.7, 8.10.1.8, 8.10.1.9, 8.10.1.10, 8.10.2.1, 8.10.2.2, 8.10.2.3, 8.10.2.4, 8.10.2.5, 8.10.2.6, 8.10.2.7, 8.10.2.8, 8.10.2.9, 8.10.2.10, 8.10.3.1, 8.10.3.2, 8.10.3.3, 8.10.3.4, 8.10.3.5, 8.10.3.6, 8.10.3.7, 8.10.3.8, 8.10.3.9, 8.10.3.10, 8.10.4.1, 8.10.4.2, 8.10.4.3, 8.10.4.4, 8.10.4.5, 8.10.4.6, 8.10.4.7, 8.10.4.8, 8.10.4.9, 8.10.4.10, 8.10.5.1, 8.10.5.2, 8.10.5.3, 8.10.5.4, 8.10.5.5, 8.10.5.6, 8.10.5.7, 8.10.5.8, 8.10.5.9, 8.10.5.10, 8.10.6.1, 8.10.6.2, 8.10.6.3, 8.10.6.4, 8.10.6.5, 8.10.6.6, 8.10.6.7, 8.10.6.8, 8.10.6.9, 8.10.6.10, 8.10.7.1, 8.10.7.2, 8.10.7.3, 8.10.7.4, 8.10.7.5, 8.10.7.6,

8.10.7.7, 8.10.7.8, 8.10.7.9, 8.10.7.10, 8.10.8.1, 8.10.8.2, 8.10.8.3, 8.10.8.4, 8.10.8.5, 8.10.8.6, 8.10.8.7, 8.10.8.8, 8.10.8.9, 8.10.8.10, 8.10.9.1, 8.10.9.2, 8.10.9.3, 8.10.9.4, 8.10.9.5, 8.10.9.6, 8.10.9.7, 8.10.9.8, 8.10.9.9, 8.10.9.10, 8.10.10.1, 8.10.10.2, 8.10.10.3, 8.10.10.4, 8.10.10.5, 8.10.10.6, 8.10.10.7, 8.10.10.8, 8.10.10.9, 8.10.10.10, 9.1.1.1, 9.1.1.2, 9.1.1.3, 9.1.1.4, 9.1.1.5, 9.1.1.6, 9.1.1.7, 9.1.1.8, 9.1.1.9, 9.1.1.10, 9.1.2.1, 9.1.2.2, 9.1.2.3, 9.1.2.4, 9.1.2.5, 9.1.2.6, 9.1.2.7, 9.1.2.8, 9.1.2.9, 9.1.2.10, 9.1.3.1, 9.1.3.2, 9.1.3.3, 9.1.3.4, 9.1.3.5, 9.1.3.6, 9.1.3.7, 9.1.3.8, 9.1.3.9, 9.1.3.10, 9.1.4.1, 9.1.4.2, 9.1.4.3, 9.1.4.4, 9.1.4.5, 9.1.4.6, 9.1.4.7, 9.1.4.8, 9.1.4.9, 9.1.4.10, 9.1.5.1, 9.1.5.2, 9.1.5.3, 9.1.5.4, 9.1.5.5, 9.1.5.6, 9.1.5.7, 9.1.5.8, 9.1.5.9, 9.1.5.10, 9.1.6.1, 9.1.6.2, 9.1.6.3, 9.1.6.4, 9.1.6.5, 9.1.6.6, 9.1.6.7, 9.1.6.8, 9.1.6.9, 9.1.6.10, 9.1.7.1, 9.1.7.2, 9.1.7.3, 9.1.7.4, 9.1.7.5, 9.1.7.6, 9.1.7.7, 9.1.7.8, 9.1.7.9, 9.1.7.10, 9.1.8.1, 9.1.8.2, 9.1.8.3, 9.1.8.4, 9.1.8.5, 9.1.8.6, 9.1.8.7, 9.1.8.8, 9.1.8.9, 9.1.8.10, 9.1.9.1, 9.1.9.2, 9.1.9.3, 9.1.9.4, 9.1.9.5, 9.1.9.6, 9.1.9.7, 9.1.9.8, 9.1.9.9, 9.1.9.10, 9.1.10.1, 9.1.10.2, 9.1.10.3, 9.1.10.4, 9.1.10.5, 9.1.10.6, 9.1.10.7, 9.1.10.8, 9.1.10.9, 9.1.10.10, 9.2.1.1, 9.2.1.2, 9.2.1.3, 9.2.1.4, 9.2.1.5, 9.2.1.6, 9.2.1.7, 9.2.1.8, 9.2.1.9, 9.2.1.10, 9.2.2.1, 9.2.2.2, 9.2.2.3, 9.2.2.4, 9.2.2.5, 9.2.2.6, 9.2.2.7, 9.2.2.8, 9.2.2.9, 9.2.2.10, 9.2.3.1, 9.2.3.2, 9.2.3.3, 9.2.3.4, 9.2.3.5, 9.2.3.6, 9.2.3.7, 9.2.3.8, 9.2.3.9, 9.2.3.10, 9.2.4.1, 9.2.4.2, 9.2.4.3, 9.2.4.4, 9.2.4.5, 9.2.4.6, 9.2.4.7, 9.2.4.8, 9.2.4.9, 9.2.4.10, 9.2.5.1, 9.2.5.2, 9.2.5.3, 9.2.5.4, 9.2.5.5, 9.2.5.6, 9.2.5.7, 9.2.5.8, 9.2.5.9, 9.2.5.10, 9.2.6.1, 9.2.6.2, 9.2.6.3, 9.2.6.4, 9.2.6.5, 9.2.6.6, 9.2.6.7, 9.2.6.8, 9.2.6.9, 9.2.6.10, 9.2.7.1, 9.2.7.2, 9.2.7.3, 9.2.7.4, 9.2.7.5, 9.2.7.6, 9.2.7.7, 9.2.7.8, 9.2.7.9, 9.2.7.10, 9.2.8.1, 9.2.8.2, 9.2.8.3, 9.2.8.4, 9.2.8.5, 9.2.8.6, 9.2.8.7, 9.2.8.8, 9.2.8.9, 9.2.8.10, 9.2.9.1, 9.2.9.2, 9.2.9.3, 9.2.9.4, 9.2.9.5, 9.2.9.6, 9.2.9.7, 9.2.9.8, 9.2.9.9, 9.2.9.10, 9.2.10.1, 9.2.10.2, 9.2.10.3, 9.2.10.4, 9.2.10.5, 9.2.10.6, 9.2.10.7, 9.2.10.8, 9.2.10.9, 9.2.10.10, 9.3.1.1, 9.3.1.2, 9.3.1.3, 9.3.1.4, 9.3.1.5, 9.3.1.6, 9.3.1.7, 9.3.1.8, 9.3.1.9, 9.3.1.10, 9.3.2.1, 9.3.2.2, 9.3.2.3, 9.3.2.4, 9.3.2.5, 9.3.2.6, 9.3.2.7, 9.3.2.8, 9.3.2.9, 9.3.2.10, 9.3.3.1, 9.3.3.2, 9.3.3.3, 9.3.3.4, 9.3.3.5, 9.3.3.6, 9.3.3.7, 9.3.3.8, 9.3.3.9, 9.3.3.10, 9.3.4.1, 9.3.4.2, 9.3.4.3, 9.3.4.4, 9.3.4.5, 9.3.4.6, 9.3.4.7, 9.3.4.8, 9.3.4.9, 9.3.4.10, 9.3.5.1, 9.3.5.2, 9.3.5.3, 9.3.5.4, 9.3.5.5, 9.3.5.6, 9.3.5.7, 9.3.5.8, 9.3.5.9, 9.3.5.10, 9.3.6.1, 9.3.6.2, 9.3.6.3, 9.3.6.4, 9.3.6.5, 9.3.6.6, 9.3.6.7, 9.3.6.8, 9.3.6.9, 9.3.6.10, 9.3.7.1, 9.3.7.2, 9.3.7.3, 9.3.7.4, 9.3.7.5, 9.3.7.6, 9.3.7.7, 9.3.7.8, 9.3.7.9, 9.3.7.10, 9.3.8.1, 9.3.8.2, 9.3.8.3, 9.3.8.4, 9.3.8.5, 9.3.8.6, 9.3.8.7, 9.3.8.8, 9.3.8.9, 9.3.8.10, 9.3.9.1, 9.3.9.2, 9.3.9.3, 9.3.9.4, 9.3.9.5, 9.3.9.6, 9.3.9.7, 9.3.9.8, 9.3.9.9, 9.3.9.10, 9.3.10.1, 9.3.10.2, 9.3.10.3, 9.3.10.4, 9.3.10.5, 9.3.10.6, 9.3.10.7, 9.3.10.8, 9.3.10.9, 9.3.10.10, 9.4.1.1, 9.4.1.2, 9.4.1.3, 9.4.1.4, 9.4.1.5, 9.4.1.6, 9.4.1.7, 9.4.1.8, 9.4.1.9, 9.4.1.10, 9.4.2.1, 9.4.2.2, 9.4.2.3, 9.4.2.4,

72

9.7.8.1, 9.7.8.2, 9.7.8.3, 9.7.8.4, 9.7.8.5, 9.7.8.6, 9.7.8.7, 9.7.8.8, 9.7.8.9, 9.7.8.10, 9.7.9.1, 9.7.9.2, 9.7.9.3, 9.7.9.4, 9.7.9.5, 9.7.9.6, 9.7.9.7, 9.7.9.8, 9.7.9.9, 9.7.9.10, 9.7.10.1, 9.7.10.2, 9.7.10.3, 9.7.10.4, 9.7.10.5, 9.7.10.6, 9.7.10.7, 9.7.10.8, 9.7.10.9, 9.7.10.10, 9.8.1.1, 9.8.1.2, 9.8.1.3, 9.8.1.4, 9.8.1.5, 9.8.1.6, 9.8.1.7, 9.8.1.8, 9.8.1.9, 9.8.1.10, 9.8.2.1, 9.8.2.2, 9.8.2.3, 9.8.2.4, 9.8.2.5, 9.8.2.6, 9.8.2.7, 9.8.2.8, 9.8.2.9, 9.8.2.10, 9.8.3.1, 9.8.3.2, 9.8.3.3, 9.8.3.4, 9.8.3.5, 9.8.3.6, 9.8.3.7, 9.8.3.8, 9.8.3.9, 9.8.3.10, 9.8.4.1, 9.8.4.2, 9.8.4.3, 9.8.4.4, 9.8.4.5, 9.8.4.6, 9.8.4.7, 9.8.4.8, 9.8.4.9, 9.8.4.10, 9.8.5.1, 9.8.5.2, 9.8.5.3, 9.8.5.4, 9.8.5.5, 9.8.5.6, 9.8.5.7, 9.8.5.8, 9.8.5.9, 9.8.5.10, 9.8.6.1, 9.8.6.2, 9.8.6.3, 9.8.6.4, 9.8.6.5, 9.8.6.6, 9.8.6.7, 9.8.6.8, 9.8.6.9, 9.8.6.10, 9.8.7.1, 9.8.7.2, 9.8.7.3, 9.8.7.4, 9.8.7.5, 9.8.7.6, 9.8.7.7, 9.8.7.8, 9.8.7.9, 9.8.7.10, 9.8.8.1, 9.8.8.2, 9.8.8.3, 9.8.8.4, 9.8.8.5, 9.8.8.6, 9.8.8.7, 9.8.8.8, 9.8.8.9, 9.8.8.10, 9.8.9.1, 9.8.9.2, 9.8.9.3, 9.8.9.4, 9.8.9.5, 9.8.9.6, 9.8.9.7, 9.8.9.8, 9.8.9.9, 9.8.9.10, 9.8.10.1, 9.8.10.2, 9.8.10.3, 9.8.10.4, 9.8.10.5, 9.8.10.6, 9.8.10.7, 9.8.10.8, 9.8.10.9, 9.8.10.10, 9.9.1.1, 9.9.1.2, 9.9.1.3, 9.9.1.4, 9.9.1.5, 9.9.1.6, 9.9.1.7, 9.9.1.8, 9.9.1.9, 9.9.1.10, 9.9.2.1, 9.9.2.2, 9.9.2.3, 9.9.2.4, 9.9.2.5, 9.9.2.6, 9.9.2.7, 9.9.2.8, 9.9.2.9, 9.9.2.10, 9.9.3.1, 9.9.3.2, 9.9.3.3, 9.9.3.4, 9.9.3.5, 9.9.3.6, 9.9.3.7, 9.9.3.8, 9.9.3.9, 9.9.3.10, 9.9.4.1, 9.9.4.2, 9.9.4.3, 9.9.4.4, 9.9.4.5, 9.9.4.6, 9.9.4.7, 9.9.4.8, 9.9.4.9, 9.9.4.10, 9.9.5.1, 9.9.5.2, 9.9.5.3, 9.9.5.4, 9.9.5.5, 9.9.5.6, 9.9.5.7, 9.9.5.8, 9.9.5.9, 9.9.5.10, 9.9.6.1, 9.9.6.2, 9.9.6.3, 9.9.6.4, 9.9.6.5, 9.9.6.6, 9.9.6.7, 9.9.6.8, 9.9.6.9, 9.9.6.10, 9.9.7.1, 9.9.7.2, 9.9.7.3, 9.9.7.4, 9.9.7.5, 9.9.7.6, 9.9.7.7, 9.9.7.8, 9.9.7.9, 9.9.7.10, 9.9.8.1, 9.9.8.2, 9.9.8.3, 9.9.8.4, 9.9.8.5, 9.9.8.6, 9.9.8.7, 9.9.8.8, 9.9.8.9, 9.9.8.10, 9.9.9.1, 9.9.9.2, 9.9.9.3, 9.9.9.4, 9.9.9.5, 9.9.9.6, 9.9.9.7, 9.9.9.8, 9.9.9.9, 9.9.9.10, 9.9.10.1, 9.9.10.2, 9.9.10.3, 9.9.10.4, 9.9.10.5, 9.9.10.6, 9.9.10.7, 9.9.10.8, 9.9.10.9, 9.9.10.10, 9.10.1.1, 9.10.1.2, 9.10.1.3, 9.10.1.4, 9.10.1.5, 9.10.1.6, 9.10.1.7, 9.10.1.8, 9.10.1.9, 9.10.1.10, 9.10.2.1, 9.10.2.2, 9.10.2.3, 9.10.2.4, 9.10.2.5, 9.10.2.6, 9.10.2.7, 9.10.2.8, 9.10.2.9, 9.10.2.10, 9.10.3.1, 9.10.3.2, 9.10.3.3, 9.10.3.4, 9.10.3.5, 9.10.3.6, 9.10.3.7, 9.10.3.8, 9.10.3.9, 9.10.3.10, 9.10.4.1, 9.10.4.2, 9.10.4.3, 9.10.4.4, 9.10.4.5, 9.10.4.6, 9.10.4.7, 9.10.4.8, 9.10.4.9, 9.10.4.10, 9.10.5.1, 9.10.5.2, 9.10.5.3, 9.10.5.4, 9.10.5.5, 9.10.5.6, 9.10.5.7, 9.10.5.8, 9.10.5.9, 9.10.5.10, 9.10.6.1, 9.10.6.2, 9.10.6.3, 9.10.6.4, 9.10.6.5, 9.10.6.6, 9.10.6.7, 9.10.6.8, 9.10.6.9, 9.10.6.10, 9.10.7.1, 9.10.7.2, 9.10.7.3, 9.10.7.4, 9.10.7.5, 9.10.7.6, 9.10.7.7, 9.10.7.8, 9.10.7.9, 9.10.7.10, 9.10.8.1, 9.10.8.2, 9.10.8.3, 9.10.8.4, 9.10.8.5, 9.10.8.6, 9.10.8.7, 9.10.8.8, 9.10.8.9, 9.10.8.10, 9.10.9.1, 9.10.9.2, 9.10.9.3, 9.10.9.4, 9.10.9.5, 9.10.9.6, 9.10.9.7, 9.10.9.8, 9.10.9.9, 9.10.9.10, 9.10.10.1, 9.10.10.2, 9.10.10.3, 9.10.10.4, 9.10.10.5, 9.10.10.6, 9.10.10.7, 9.10.10.8, 9.10.10.9, 9.10.10.10, 10.1.1.1,

10.1.1.2, 10.1.1.3, 10.1.1.4, 10.1.1.5, 10.1.1.6, 10.1.1.7, 10.1.1.8, 10.1.1.9, 10.1.1.10,
10.1.2.1, 10.1.2.2, 10.1.2.3, 10.1.2.4, 10.1.2.5, 10.1.2.6, 10.1.2.7, 10.1.2.8, 10.1.2.9,
10.1.2.10, 10.1.3.1, 10.1.3.2, 10.1.3.3, 10.1.3.4, 10.1.3.5, 10.1.3.6, 10.1.3.7, 10.1.3.8,
10.1.3.9, 10.1.3.10, 10.1.4.1, 10.1.4.2, 10.1.4.3, 10.1.4.4, 10.1.4.5, 10.1.4.6, 10.1.4.7,
10.1.4.8, 10.1.4.9, 10.1.4.10, 10.1.5.1, 10.1.5.2, 10.1.5.3, 10.1.5.4, 10.1.5.5, 10.1.5.6,
10.1.5.7, 10.1.5.8, 10.1.5.9, 10.1.5.10, 10.1.6.1, 10.1.6.2, 10.1.6.3, 10.1.6.4, 10.1.6.5,
10.1.6.6, 10.1.6.7, 10.1.6.8, 10.1.6.9, 10.1.6.10, 10.1.7.1, 10.1.7.2, 10.1.7.3, 10.1.7.4,
10.1.7.5, 10.1.7.6, 10.1.7.7, 10.1.7.8, 10.1.7.9, 10.1.7.10, 10.1.8.1, 10.1.8.2, 10.1.8.3,
10.1.8.4, 10.1.8.5, 10.1.8.6, 10.1.8.7, 10.1.8.8, 10.1.8.9, 10.1.8.10, 10.1.9.1, 10.1.9.2,
10.1.9.3, 10.1.9.4, 10.1.9.5, 10.1.9.6, 10.1.9.7, 10.1.9.8, 10.1.9.9, 10.1.9.10, 10.1.10.1,
10.1.10.2, 10.1.10.3, 10.1.10.4, 10.1.10.5, 10.1.10.6, 10.1.10.7, 10.1.10.8, 10.1.10.9,
10.1.10.10, 10.2.1.1, 10.2.1.2, 10.2.1.3, 10.2.1.4, 10.2.1.5, 10.2.1.6, 10.2.1.7, 10.2.1.8,
10.2.1.9, 10.2.1.10, 10.2.2.1, 10.2.2.2, 10.2.2.3, 10.2.2.4, 10.2.2.5, 10.2.2.6, 10.2.2.7,
10.2.2.8, 10.2.2.9, 10.2.2.10, 10.2.3.1, 10.2.3.2, 10.2.3.3, 10.2.3.4, 10.2.3.5, 10.2.3.6,
10.2.3.7, 10.2.3.8, 10.2.3.9, 10.2.3.10, 10.2.4.1, 10.2.4.2, 10.2.4.3, 10.2.4.4, 10.2.4.5,
10.2.4.6, 10.2.4.7, 10.2.4.8, 10.2.4.9, 10.2.4.10, 10.2.5.1, 10.2.5.2, 10.2.5.3, 10.2.5.4,
10.2.5.5, 10.2.5.6, 10.2.5.7, 10.2.5.8, 10.2.5.9, 10.2.5.10, 10.2.6.1, 10.2.6.2, 10.2.6.3,
10.2.6.4, 10.2.6.5, 10.2.6.6, 10.2.6.7, 10.2.6.8, 10.2.6.9, 10.2.6.10, 10.2.7.1, 10.2.7.2,
10.2.7.3, 10.2.7.4, 10.2.7.5, 10.2.7.6, 10.2.7.7, 10.2.7.8, 10.2.7.9, 10.2.7.10, 10.2.8.1,
10.2.8.2, 10.2.8.3, 10.2.8.4, 10.2.8.5, 10.2.8.6, 10.2.8.7, 10.2.8.8, 10.2.8.9, 10.2.8.10,
10.2.9.1, 10.2.9.2, 10.2.9.3, 10.2.9.4, 10.2.9.5, 10.2.9.6, 10.2.9.7, 10.2.9.8, 10.2.9.9,
10.2.9.10, 10.2.10.1, 10.2.10.2, 10.2.10.3, 10.2.10.4, 10.2.10.5, 10.2.10.6, 10.2.10.7,
10.2.10.8, 10.2.10.9, 10.2.10.10, 10.3.1.1, 10.3.1.2, 10.3.1.3, 10.3.1.4, 10.3.1.5, 10.3.1.6,
10.3.1.7, 10.3.1.8, 10.3.1.9, 10.3.1.10, 10.3.2.1, 10.3.2.2, 10.3.2.3, 10.3.2.4, 10.3.2.5,
10.3.2.6, 10.3.2.7, 10.3.2.8, 10.3.2.9, 10.3.2.10, 10.3.3.1, 10.3.3.2, 10.3.3.3, 10.3.3.4,
10.3.3.5, 10.3.3.6, 10.3.3.7, 10.3.3.8, 10.3.3.9, 10.3.3.10, 10.3.4.1, 10.3.4.2, 10.3.4.3,
10.3.4.4, 10.3.4.5, 10.3.4.6, 10.3.4.7, 10.3.4.8, 10.3.4.9, 10.3.4.10, 10.3.5.1, 10.3.5.2,
10.3.5.3, 10.3.5.4, 10.3.5.5, 10.3.5.6, 10.3.5.7, 10.3.5.8, 10.3.5.9, 10.3.5.10, 10.3.6.1,
10.3.6.2, 10.3.6.3, 10.3.6.4, 10.3.6.5, 10.3.6.6, 10.3.6.7, 10.3.6.8, 10.3.6.9, 10.3.6.10,
10.3.7.1, 10.3.7.2, 10.3.7.3, 10.3.7.4, 10.3.7.5, 10.3.7.6, 10.3.7.7, 10.3.7.8, 10.3.7.9,
10.3.7.10, 10.3.8.1, 10.3.8.2, 10.3.8.3, 10.3.8.4, 10.3.8.5, 10.3.8.6, 10.3.8.7, 10.3.8.8,
10.3.8.9, 10.3.8.10, 10.3.9.1, 10.3.9.2, 10.3.9.3, 10.3.9.4, 10.3.9.5, 10.3.9.6, 10.3.9.7,
10.3.9.8, 10.3.9.9, 10.3.9.10, 10.3.10.1, 10.3.10.2, 10.3.10.3, 10.3.10.4, 10.3.10.5,

10.3.10.6, 10.3.10.7, 10.3.10.8, 10.3.10.9, 10.3.10.10, 10.4.1.1, 10.4.1.2, 10.4.1.3, 10.4.1.4, 10.4.1.5, 10.4.1.6, 10.4.1.7, 10.4.1.8, 10.4.1.9, 10.4.1.10, 10.4.2.1, 10.4.2.2, 10.4.2.3, 10.4.2.4, 10.4.2.5, 10.4.2.6, 10.4.2.7, 10.4.2.8, 10.4.2.9, 10.4.2.10, 10.4.3.1, 10.4.3.2, 10.4.3.3, 10.4.3.4, 10.4.3.5, 10.4.3.6, 10.4.3.7, 10.4.3.8, 10.4.3.9, 10.4.3.10, 10.4.4.1, 10.4.4.2, 10.4.4.3, 10.4.4.4, 10.4.4.5, 10.4.4.6, 10.4.4.7, 10.4.4.8, 10.4.4.9, 10.4.4.10, 10.4.5.1, 10.4.5.2, 10.4.5.3, 10.4.5.4, 10.4.5.5, 10.4.5.6, 10.4.5.7, 10.4.5.8, 10.4.5.9, 10.4.5.10, 10.4.6.1, 10.4.6.2, 10.4.6.3, 10.4.6.4, 10.4.6.5, 10.4.6.6, 10.4.6.7, 10.4.6.8, 10.4.6.9, 10.4.6.10, 10.4.7.1, 10.4.7.2, 10.4.7.3, 10.4.7.4, 10.4.7.5, 10.4.7.6, 10.4.7.7, 10.4.7.8, 10.4.7.9, 10.4.7.10, 10.4.8.1, 10.4.8.2, 10.4.8.3, 10.4.8.4, 10.4.8.5, 10.4.8.6, 10.4.8.7, 10.4.8.8, 10.4.8.9, 10.4.8.10, 10.4.9.1, 10.4.9.2, 10.4.9.3, 10.4.9.4, 10.4.9.5, 10.4.9.6, 10.4.9.7, 10.4.9.8, 10.4.9.9, 10.4.9.10, 10.4.10.1, 10.4.10.2, 10.4.10.3, 10.4.10.4, 10.4.10.5, 10.4.10.6, 10.4.10.7, 10.4.10.8, 10.4.10.9, 10.4.10.10, 10.5.1.1, 10.5.1.2, 10.5.1.3, 10.5.1.4, 10.5.1.5, 10.5.1.6, 10.5.1.7, 10.5.1.8, 10.5.1.9, 10.5.1.10, 10.5.2.1, 10.5.2.2, 10.5.2.3, 10.5.2.4, 10.5.2.5, 10.5.2.6, 10.5.2.7, 10.5.2.8, 10.5.2.9, 10.5.2.10, 10.5.3.1, 10.5.3.2, 10.5.3.3, 10.5.3.4, 10.5.3.5, 10.5.3.6, 10.5.3.7, 10.5.3.8, 10.5.3.9, 10.5.3.10, 10.5.4.1, 10.5.4.2, 10.5.4.3, 10.5.4.4, 10.5.4.5, 10.5.4.6, 10.5.4.7, 10.5.4.8, 10.5.4.9, 10.5.4.10, 10.5.5.1, 10.5.5.2, 10.5.5.3, 10.5.5.4, 10.5.5.5, 10.5.5.6, 10.5.5.7, 10.5.5.8, 10.5.5.9, 10.5.5.10, 10.5.6.1, 10.5.6.2, 10.5.6.3, 10.5.6.4, 10.5.6.5, 10.5.6.6, 10.5.6.7, 10.5.6.8, 10.5.6.9, 10.5.6.10, 10.5.7.1, 10.5.7.2, 10.5.7.3, 10.5.7.4, 10.5.7.5, 10.5.7.6, 10.5.7.7, 10.5.7.8, 10.5.7.9, 10.5.7.10, 10.5.8.1, 10.5.8.2, 10.5.8.3, 10.5.8.4, 10.5.8.5, 10.5.8.6, 10.5.8.7, 10.5.8.8, 10.5.8.9, 10.5.8.10, 10.5.9.1, 10.5.9.2, 10.5.9.3, 10.5.9.4, 10.5.9.5, 10.5.9.6, 10.5.9.7, 10.5.9.8, 10.5.9.9, 10.5.9.10, 10.5.10.1, 10.5.10.2, 10.5.10.3, 10.5.10.4, 10.5.10.5, 10.5.10.6, 10.5.10.7, 10.5.10.8, 10.5.10.9, 10.5.10.10, 10.6.1.1, 10.6.1.2, 10.6.1.3, 10.6.1.4, 10.6.1.5, 10.6.1.6, 10.6.1.7, 10.6.1.8, 10.6.1.9, 10.6.1.10, 10.6.2.1, 10.6.2.2, 10.6.2.3, 10.6.2.4, 10.6.2.5, 10.6.2.6, 10.6.2.7, 10.6.2.8, 10.6.2.9, 10.6.2.10, 10.6.3.1, 10.6.3.2, 10.6.3.3, 10.6.3.4, 10.6.3.5, 10.6.3.6, 10.6.3.7, 10.6.3.8, 10.6.3.9, 10.6.3.10, 10.6.4.1, 10.6.4.2, 10.6.4.3, 10.6.4.4, 10.6.4.5, 10.6.4.6, 10.6.4.7, 10.6.4.8, 10.6.4.9, 10.6.4.10, 10.6.5.1, 10.6.5.2, 10.6.5.3, 10.6.5.4, 10.6.5.5, 10.6.5.6, 10.6.5.7, 10.6.5.8, 10.6.5.9, 10.6.5.10, 10.6.6.1, 10.6.6.2, 10.6.6.3, 10.6.6.4, 10.6.6.5, 10.6.6.6, 10.6.6.7, 10.6.6.8, 10.6.6.9, 10.6.6.10, 10.6.7.1, 10.6.7.2, 10.6.7.3, 10.6.7.4, 10.6.7.5, 10.6.7.6, 10.6.7.7, 10.6.7.8, 10.6.7.9, 10.6.7.10, 10.6.8.1, 10.6.8.2, 10.6.8.3, 10.6.8.4, 10.6.8.5, 10.6.8.6, 10.6.8.7, 10.6.8.8, 10.6.8.9, 10.6.8.10, 10.6.9.1, 10.6.9.2, 10.6.9.3, 10.6.9.4, 10.6.9.5, 10.6.9.6, 10.6.9.7, 10.6.9.8, 10.6.9.9, 10.6.9.10,

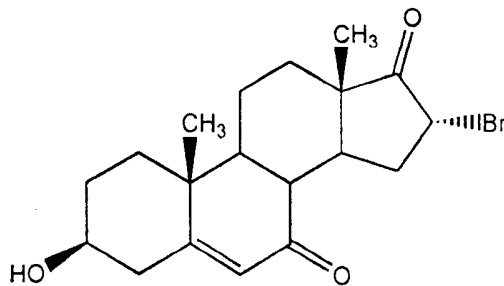
10.6.10.1, 10.6.10.2, 10.6.10.3, 10.6.10.4, 10.6.10.5, 10.6.10.6, 10.6.10.7, 10.6.10.8,
 10.6.10.9, 10.6.10.10, 10.7.1.1, 10.7.1.2, 10.7.1.3, 10.7.1.4, 10.7.1.5, 10.7.1.6, 10.7.1.7,
 10.7.1.8, 10.7.1.9, 10.7.1.10, 10.7.2.1, 10.7.2.2, 10.7.2.3, 10.7.2.4, 10.7.2.5, 10.7.2.6,
 10.7.2.7, 10.7.2.8, 10.7.2.9, 10.7.2.10, 10.7.3.1, 10.7.3.2, 10.7.3.3, 10.7.3.4, 10.7.3.5,
 10.7.3.6, 10.7.3.7, 10.7.3.8, 10.7.3.9, 10.7.3.10, 10.7.4.1, 10.7.4.2, 10.7.4.3, 10.7.4.4,
 10.7.4.5, 10.7.4.6, 10.7.4.7, 10.7.4.8, 10.7.4.9, 10.7.4.10, 10.7.5.1, 10.7.5.2, 10.7.5.3,
 10.7.5.4, 10.7.5.5, 10.7.5.6, 10.7.5.7, 10.7.5.8, 10.7.5.9, 10.7.5.10, 10.7.6.1, 10.7.6.2,
 10.7.6.3, 10.7.6.4, 10.7.6.5, 10.7.6.6, 10.7.6.7, 10.7.6.8, 10.7.6.9, 10.7.6.10, 10.7.7.1,
 10.7.7.2, 10.7.7.3, 10.7.7.4, 10.7.7.5, 10.7.7.6, 10.7.7.7, 10.7.7.8, 10.7.7.9, 10.7.7.10,
 10.7.8.1, 10.7.8.2, 10.7.8.3, 10.7.8.4, 10.7.8.5, 10.7.8.6, 10.7.8.7, 10.7.8.8, 10.7.8.9,
 10.7.8.10, 10.7.9.1, 10.7.9.2, 10.7.9.3, 10.7.9.4, 10.7.9.5, 10.7.9.6, 10.7.9.7, 10.7.9.8,
 10.7.9.9, 10.7.9.10, 10.7.10.1, 10.7.10.2, 10.7.10.3, 10.7.10.4, 10.7.10.5, 10.7.10.6,
 10.7.10.7, 10.7.10.8, 10.7.10.9, 10.7.10.10, 10.8.1.1, 10.8.1.2, 10.8.1.3, 10.8.1.4, 10.8.1.5,
 10.8.1.6, 10.8.1.7, 10.8.1.8, 10.8.1.9, 10.8.1.10, 10.8.2.1, 10.8.2.2, 10.8.2.3, 10.8.2.4,
 10.8.2.5, 10.8.2.6, 10.8.2.7, 10.8.2.8, 10.8.2.9, 10.8.2.10, 10.8.3.1, 10.8.3.2, 10.8.3.3,
 10.8.3.4, 10.8.3.5, 10.8.3.6, 10.8.3.7, 10.8.3.8, 10.8.3.9, 10.8.3.10, 10.8.4.1, 10.8.4.2,
 10.8.4.3, 10.8.4.4, 10.8.4.5, 10.8.4.6, 10.8.4.7, 10.8.4.8, 10.8.4.9, 10.8.4.10, 10.8.5.1,
 10.8.5.2, 10.8.5.3, 10.8.5.4, 10.8.5.5, 10.8.5.6, 10.8.5.7, 10.8.5.8, 10.8.5.9, 10.8.5.10,
 10.8.6.1, 10.8.6.2, 10.8.6.3, 10.8.6.4, 10.8.6.5, 10.8.6.6, 10.8.6.7, 10.8.6.8, 10.8.6.9,
 10.8.6.10, 10.8.7.1, 10.8.7.2, 10.8.7.3, 10.8.7.4, 10.8.7.5, 10.8.7.6, 10.8.7.7, 10.8.7.8,
 10.8.7.9, 10.8.7.10, 10.8.8.1, 10.8.8.2, 10.8.8.3, 10.8.8.4, 10.8.8.5, 10.8.8.6, 10.8.8.7,
 10.8.8.8, 10.8.8.9, 10.8.8.10, 10.8.9.1, 10.8.9.2, 10.8.9.3, 10.8.9.4, 10.8.9.5, 10.8.9.6,
 10.8.9.7, 10.8.9.8, 10.8.9.9, 10.8.9.10, 10.8.10.1, 10.8.10.2, 10.8.10.3, 10.8.10.4, 10.8.10.5,
 10.8.10.6, 10.8.10.7, 10.8.10.8, 10.8.10.9, 10.8.10.10, 10.9.1.1, 10.9.1.2, 10.9.1.3, 10.9.1.4,
 10.9.1.5, 10.9.1.6, 10.9.1.7, 10.9.1.8, 10.9.1.9, 10.9.1.10, 10.9.2.1, 10.9.2.2, 10.9.2.3,
 10.9.2.4, 10.9.2.5, 10.9.2.6, 10.9.2.7, 10.9.2.8, 10.9.2.9, 10.9.2.10, 10.9.3.1, 10.9.3.2,
 10.9.3.3, 10.9.3.4, 10.9.3.5, 10.9.3.6, 10.9.3.7, 10.9.3.8, 10.9.3.9, 10.9.3.10, 10.9.4.1,
 10.9.4.2, 10.9.4.3, 10.9.4.4, 10.9.4.5, 10.9.4.6, 10.9.4.7, 10.9.4.8, 10.9.4.9, 10.9.4.10,
 10.9.5.1, 10.9.5.2, 10.9.5.3, 10.9.5.4, 10.9.5.5, 10.9.5.6, 10.9.5.7, 10.9.5.8, 10.9.5.9,
 10.9.5.10, 10.9.6.1, 10.9.6.2, 10.9.6.3, 10.9.6.4, 10.9.6.5, 10.9.6.6, 10.9.6.7, 10.9.6.8,
 10.9.6.9, 10.9.6.10, 10.9.7.1, 10.9.7.2, 10.9.7.3, 10.9.7.4, 10.9.7.5, 10.9.7.6, 10.9.7.7,
 10.9.7.8, 10.9.7.9, 10.9.7.10, 10.9.8.1, 10.9.8.2, 10.9.8.3, 10.9.8.4, 10.9.8.5, 10.9.8.6,
 10.9.8.7, 10.9.8.8, 10.9.8.9, 10.9.8.10, 10.9.9.1, 10.9.9.2, 10.9.9.3, 10.9.9.4, 10.9.9.5,

10.9.9.6, 10.9.9.7, 10.9.9.8, 10.9.9.9, 10.9.9.10, 10.9.10.1, 10.9.10.2, 10.9.10.3, 10.9.10.4, 10.9.10.5, 10.9.10.6, 10.9.10.7, 10.9.10.8, 10.9.10.9, 10.9.10.10, 10.10.1.1, 10.10.1.2, 10.10.1.3, 10.10.1.4, 10.10.1.5, 10.10.1.6, 10.10.1.7, 10.10.1.8, 10.10.1.9, 10.10.1.10, 10.10.2.1, 10.10.2.2, 10.10.2.3, 10.10.2.4, 10.10.2.5, 10.10.2.6, 10.10.2.7, 10.10.2.8, 10.10.2.9, 10.10.2.10, 10.10.3.1, 10.10.3.2, 10.10.3.3, 10.10.3.4, 10.10.3.5, 10.10.3.6, 10.10.3.7, 10.10.3.8, 10.10.3.9, 10.10.3.10, 10.10.4.1, 10.10.4.2, 10.10.4.3, 10.10.4.4, 10.10.4.5, 10.10.4.6, 10.10.4.7, 10.10.4.8, 10.10.4.9, 10.10.4.10, 10.10.5.1, 10.10.5.2, 10.10.5.3, 10.10.5.4, 10.10.5.5, 10.10.5.6, 10.10.5.7, 10.10.5.8, 10.10.5.9, 10.10.5.10, 10.10.6.1, 10.10.6.2, 10.10.6.3, 10.10.6.4, 10.10.6.5, 10.10.6.6, 10.10.6.7, 10.10.6.8, 10.10.6.9, 10.10.6.10, 10.10.7.1, 10.10.7.2, 10.10.7.3, 10.10.7.4, 10.10.7.5, 10.10.7.6, 10.10.7.7, 10.10.7.8, 10.10.7.9, 10.10.7.10, 10.10.8.1, 10.10.8.2, 10.10.8.3, 10.10.8.4, 10.10.8.5, 10.10.8.6, 10.10.8.7, 10.10.8.8, 10.10.8.9, 10.10.8.10, 10.10.9.1, 10.10.9.2, 10.10.9.3, 10.10.9.4, 10.10.9.5, 10.10.9.6, 10.10.9.7, 10.10.9.8, 10.10.9.9, 10.10.9.10, 10.10.10.1, 10.10.10.2, 10.10.10.3, 10.10.10.4, 10.10.10.5, 10.10.10.6, 10.10.10.7, 10.10.10.8, 10.10.10.9, 10.10.10.10.

Další názorné příklady skupin sloučenin obecného vzorce (B) zahrnují následující skupiny sloučenin uvedené níže. Pokud není uvedeno jinak, jsou konfigurace všech atomů vodíku a substituentů R v následujících skupinách sloučenin definovány u sloučenin skupiny 1 obecného vzorce (B) výše.

Skupina 2

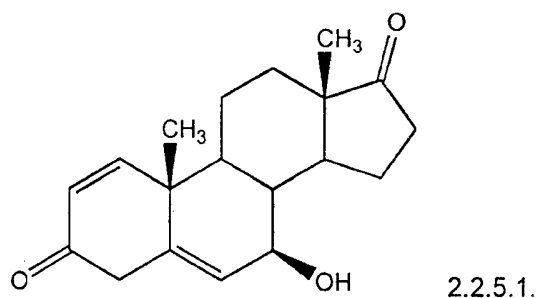
Tato skupina zahrnuje sloučeniny uvedené v tabulce B mající substituenty R^1 , R^2 , R^3 a R^4 definované v tabulce A, přičemž substituenty R^1 , R^2 , R^3 a R^4 jsou vázány na steroidní jádro podle způsobu popsaného pro sloučeniny skupiny 1 s výjimkou přítomné dvojné vazby v poloze 5-6. Tudíž sloučenina 1.3.1.1 skupiny 2 má následující strukturu



1.3.1.1.

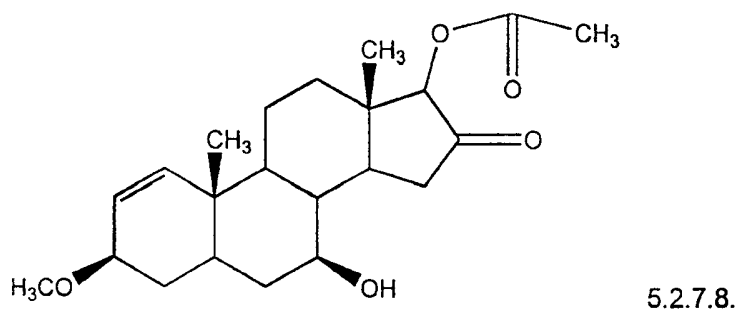
Skupina 3

Tato skupina zahrnuje sloučeniny uvedené v tabulce B mající substituenty R^1 , R^2 , R^3 a R^4 definované v tabulce A, přičemž substituenty R^1 , R^2 , R^3 a R^4 jsou vázány na steroidní jádro podle způsobu popsaného pro sloučeniny skupiny 1 s výjimkou přítomných dvojných vazeb polohách 1-2- a 5-6. Tudíž sloučenina 2.2.5.1 skupiny 3 má následující strukturu



Skupina 4

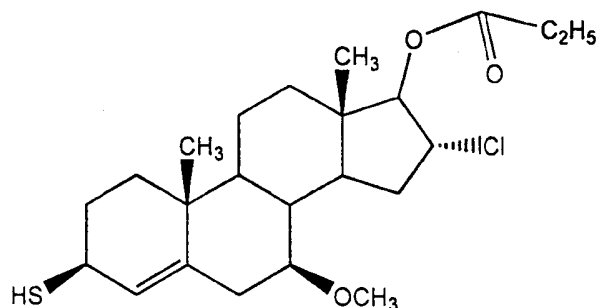
Tato skupina zahrnuje sloučeniny uvedené v tabulce B mající substituenty R^1 , R^2 , R^3 a R^4 definované v tabulce A, přičemž substituenty R^1 , R^2 , R^3 a R^4 jsou vázány na steroidní jádro podle způsobu popsaného pro sloučeniny skupiny 1 s výjimkou přítomné dvojně vazby v poloze 1-2. Tudíž sloučenina 5.2.7.8 skupiny 4 má následující strukturu



Skupina 5

Tato skupina zahrnuje sloučeniny uvedené v tabulce B mající substituenty R^1 , R^2 , R^3 a R^4 definované v tabulce A, přičemž substituenty R^1 , R^2 , R^3 a R^4 jsou vázány na steroidní jádro podle způsobu popsaného pro sloučeniny skupiny 1 s výjimkou přítomné

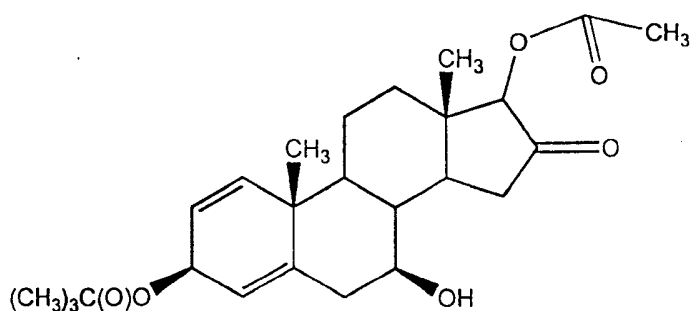
dvojn  vazby v poloze 4-5. Tudiž sloučenina ozna en  3.5.2.9 skupiny 5 má následující strukturu



3.5.2.9.

Skupina 6

Tato skupina zahrnuje sloučeniny uveden  v tabulce B mající substituenty R^1 , R^2 , R^3 a R^4 definovan  v tabulce A, přičemž substituenty R^1 , R^2 , R^3 a R^4 jsou vázány na steroidní jádro podle způsobu pops n ho pro sloučeniny skupiny 1 s výjimkou p torn ch dvojných vazeb v polohách 1-2 a 4-5. Tudiž sloučenina ozna en  10.2.7.8 skupiny 6 má následující strukturu

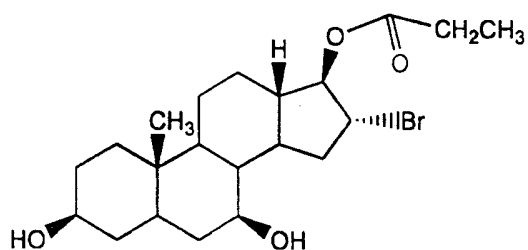


10.2.7.8.

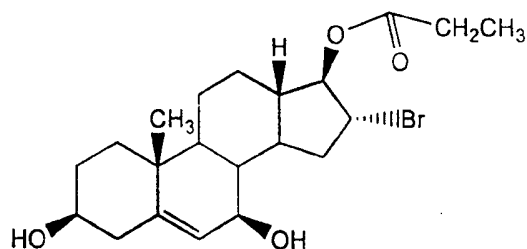
Skupiny 7-1 až 7-6

Tyto skupiny zahrnují 6 v  e popsáných skupin sloučenin s výjimkou substituentu R^5 , kter  je atom vodíku místo methylov  skupiny. Tudiž skupina 7-1 m  stejn  steroidní jádro jako skupina 1 v  e, tzn. není p torn   dn  dvojn  vazba, ale substituent R^5 je atom vodíku. Skupina 7-2 obsahuje stejn  steroidní jádro jako skupina 2 v  e, tzn. dvojn  vazba je p torn  v poloze 5-6-, ale substituent R^5 je atom vodíku. Sloučeniny skupin 7-3

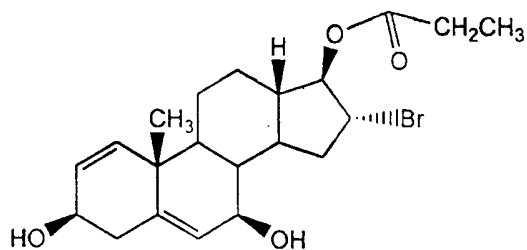
až 7-6 mají stejným způsobem určené steroidní jádro. Tudíž sloučeniny skupin 7-1 až 7-6 označené 1.2.1.9 mají následující struktury



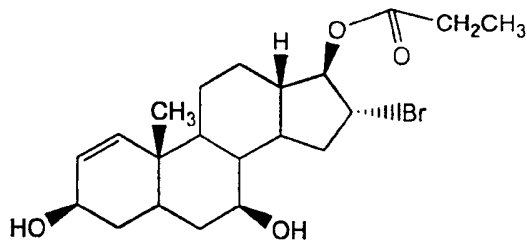
sloučenina 1.2.1.9 skupiny 7-1,



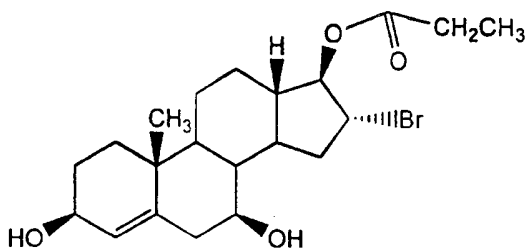
sloučenina 1.2.1.9 skupiny 7-2,



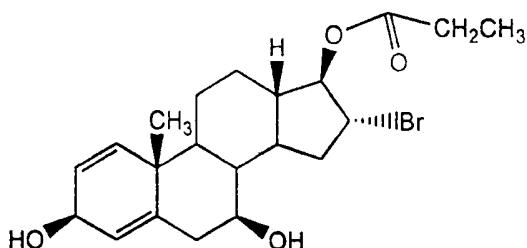
sloučenina 1.2.1.9 skupiny 7-3,



sloučenina 1.2.1.9 skupiny 7-4,



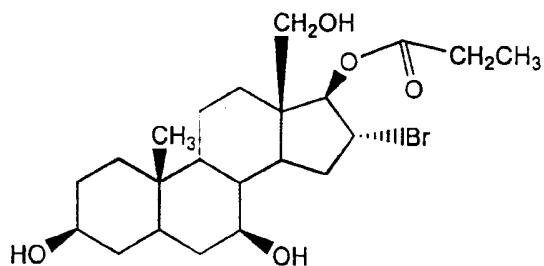
sloučenina 1.2.1.9 skupiny 7-5 a



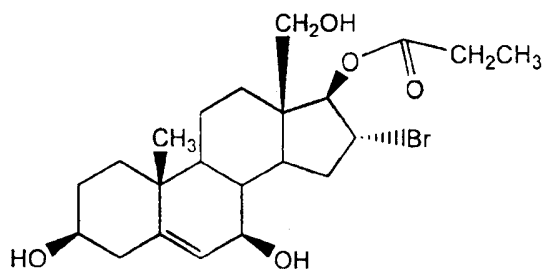
sloučenina 1.2.1.9 skupiny 7-6.

Skupiny 8-1 až 8-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou číslem ve skupinách 1-6 s výjimkou substituentu R^5 z obecného vzorce (B), který je místo methylové skupiny - CH_2OH . Sloučeniny skupin 8-1 až 8-6 mají struktury, které jsou označeny stejným způsobem jako sloučeniny skupin 1-6 s výjimkou přítomné - CH_2OH skupiny místo methylové skupiny v poloze substituentu R^5 . Tyto skupiny jsou označeny stejným způsobem jako skupiny 7-1 až 7-6. Tudíž sloučeniny skupiny 8-1 a 8-2 označené 1.2.1.9 mají následující struktury



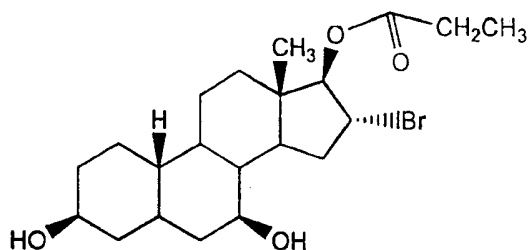
sloučenina 1.2.1.9 skupiny 8-1 a



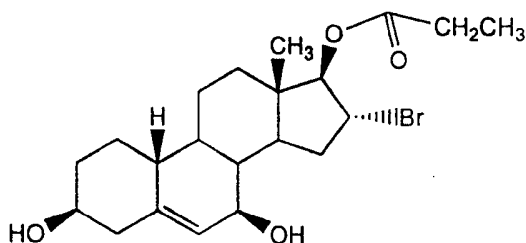
sloučenina 1.2.1.9 skupiny 8-2.

Skupiny 9-1 až 9-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1-6 s výjimkou substituentu R^6 z obecného vzorce (B), který je místo methylové skupiny atomu vodíku. Sloučeniny skupin 9-1 až 9-6 mají struktury, které jsou označeny stejným způsobem jako u skupin 7-1 až 7-6 s výjimkou přítomného atomu vodíku místo methylové skupiny v poloze substituentu R^6 . Tudíž sloučeniny skupiny 9-1 a 9-2 označené 1.2.1.9 mají následující struktury



sloučenina 1.2.1.9 skupiny 9-1 a

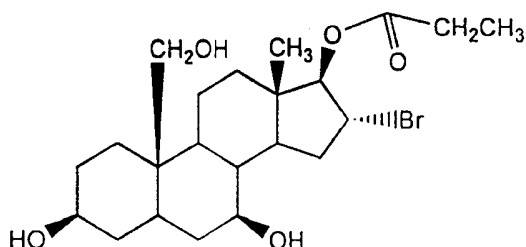


sloučenina 1.2.1.9 skupiny 9-2.

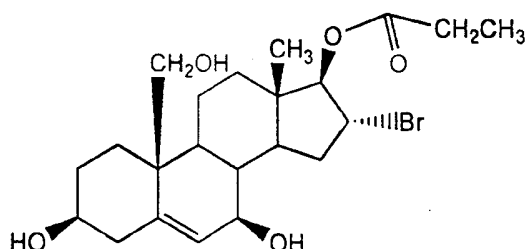
Skupiny 10-1 až 10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1-6 s výjimkou substituentu R^6 z obecného vzorce (1), který je místo methylové skupiny $-CH_2OH$.

Sloučeniny skupin 10-1 až 10-6 mají struktury, které jsou označeny stejným způsobem jako skupiny 7-1 až 7-6 s výjimkou přítomné $-\text{CH}_2\text{OH}$ skupiny místo methylové skupiny v poloze substituentu R^6 . Tudiž sloučeniny skupiny 10-1 a 10-2 označené 1.2.1.9 mají následující struktury



sloučenina 1.2.1.9 skupiny 10-1 a



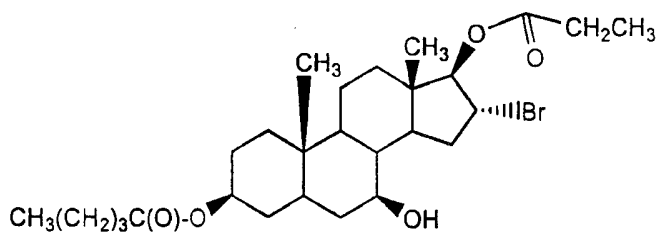
sloučenina 1.2.1.9 skupiny 10-2.

Skupiny 11-1 až 11-10-6

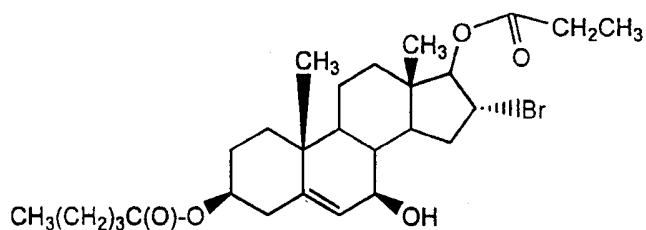
Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 10-6, kde substituenty R^1 1-10 uvedené v tabulce A jsou nahrazeny následujícími substituenty:

- 1 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ($-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ nahrazuje $-\text{OH}$, což je 1 substituent R^1 v tabulce A)
- 2 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$
- 3 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$
- 4 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$
- 5 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$
- 6 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$
- 7 $-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}$
- 8 $-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_3\text{F}_2$
- 9 $-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_3$
- 10 $-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_{0-9}\text{CH}_3$

Sloučeniny skupin 11-1 až 11-6 mají struktury, které jsou označeny stejným způsobem jako sloučeniny skupin 7-1 až 7-6 s výjimkou substituentů 1-10 z tabulky A, které jsou nahrazeny výše uvedenými substituenty 1-10 v poloze substituentu R¹. Tudíž sloučeniny skupin 11-1 a 11-2 označené 1.2.1.9 mají následující struktury

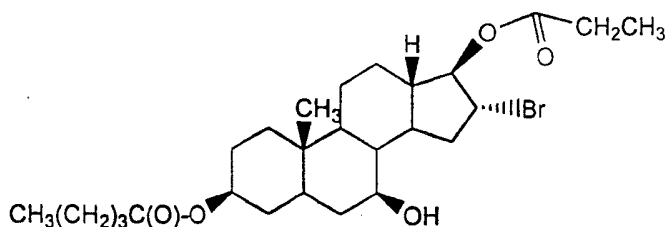


sloučenina 1.2.1.9 skupiny 11-1

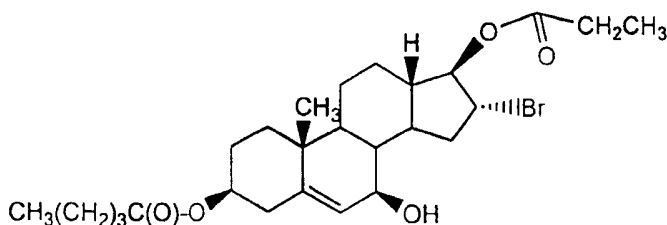


sloučenina 1.2.1.9 skupiny 11-2.

Sloučeniny skupin 11-7-1 a 11-7-2 označené 1.2.1.9 mají následující struktury

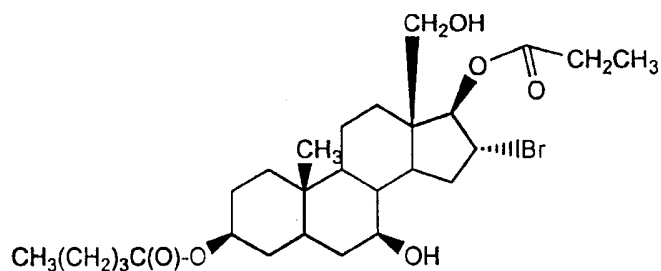


sloučenina 1.2.1.9 skupiny 11-7-1,

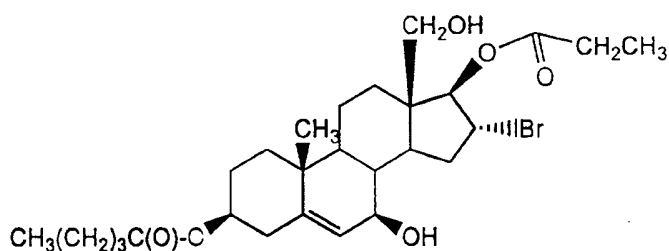


sloučenina 1.2.1.9 skupiny 11-7-2.

Sloučeniny skupin 11-8-1 a 11-8-2 označené 1.2.1.9 mají následující struktury



sloučenina 1.2.1.9 skupiny 11-8-1,



sloučenina 1.2.1.9 skupiny 11-8-2.

Skupiny 12-1 až 12-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 10-6, kde substituenty R¹ 1-10 uvedené v tabulce A jsou nahrazeny následujícími substituenty:

- 1 -O-P(O)(O)-OCH₂CH(CH₃)CH₃(-O-P(O)(O)-OCH₂CH(CH₃)CH₃ nahrazuje -OH, což je 1 substituent R¹ v tabulce A)
- 2 -O-P(O)(O)-OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₃
- 3 -O-P(O)(O)-OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃
- 4 -O-P(O)(O)-OCH₂CH₂CH(CH₂CH₂)CH₃
- 5 -O-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃
- 6 -O-C₂H₅
- 7 -O-CH₂CH₂CH₃
- 8 -O-CH₂CH₂CH₂CH₃
- 9 -O-CH(CH₃)CHCH₃
- 10 -O-C(CH₃)₃

Skupiny 13-1 až 13-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 10-6, kde substituenty R¹ 1-10 uvedené v tabulce A jsou nahrazeny následujícími substituenty:

- 1 -O-(CH₂)₄CH₃ (-O-(CH₂)₄CH₃ nahrazuje -OH, což je 1 substituent R¹ v tabulce A)
- 2 -O-C(O)-NH₂
- 3 -O-C(O)-NHCH₃
- 4 -O-C(O)-NHC₂H₅
- 5 -O-C(O)-NHCH₂CH₂CH₃
- 6 -O-C(O)-NHCH₂CH₂OCH₂CH₃
- 7 -O-C(O)-CH₃
- 8 -O-C(O)-C₂H₅
- 9 -O-C(O)-CH₂CH₂CH₃
- 10 -O-C(O)-CH₂CH₂CH₂CH₃

Skupiny 14-1 až 14-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 10-6, kde substituenty R¹ 1-10 uvedené v tabulce A jsou nahrazeny následujícími substituenty:

- 1 -O-CH₂C₆H₅
- 2 -O-CH₂C₆H₅
- 3 -O-CH₂C₆H₄OCH₃
- 4 -O-CH₂C₆H₄OCH₃
- 5 -O-CH₂C₆H₄F
- 6 -O-CH₂C₆H₄F
- 7 -O-CH₂C₆H₃(OCH₃)₂
- 8 -O-CH₂C₆H₃(OCH₃)₂
- 9 -O-CH₂C₆H₄OCH₂CH₃
- 10 -O-CH₂C₆H₄OCH₂CH₃

Skupiny 15-1 až 15-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 10-6, kde substituenty R¹ 1-10 uvedené v tabulce A jsou nahrazeny následujícími substituenty:

- 1 $-O-C(O)-CH_2CH_2NH_2$ ($-O-C(O)-CH_2CH_2NH_2$ nahrazuje $-OH$, což je 1 substituent R^1 v tabulce A)
- 2 $-O-C(O)-CH_2CH_2CH_2NH_2$
- 3 $-O-C(O)-CH_2OH$
- 4 $-O-C(O)-CH_2CH_2OH$
- 5 $-O-C(O)-CH_2CH_2CH_2OH$
- 6 $-O-C(O)-CH_2SH$
- 7 $-O-C(O)-CH_2CH_2SH$
- 8 $-O-C(O)-CH_2CH_2CH_2SH$
- 9 $-O-S(O)(O)-O-CH_2-CH(O-C(O)-OH)-CH_2-O-C(O)-C_2H_5$
- 10 $-O-P(O)(O)-O-CH_2-CH(O-C(O)-OH)-CH_2-O-C(O)-C_2H_5$

Skupiny 16-1 až 16-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 10-6, kde substituenty R^1 1-10 uvedené v tabulce A jsou nahrazeny následujícími substituenty:

- 1 $-O-C(O)-A4-NH_2$, kde $A4-NH_2$ je alkylová skupina mající 4 atomy uhlíku substituovaná $-NH_2$ ($-O-C(O)-A4-NH_2$ nahrazuje $-OH$, což je 1 substituent R^1 v tabulce A)
- 2 $-O-C(O)-A6-NH_2$, kde $A6-NH_2$ je alkylová skupina mající 6 atomů uhlíku substituovaná $-NH_2$
- 3 $-O-C(O)-A8-NH_2$, kde $A8-NH_2$ je alkylová skupina mající 8 atomů uhlíku substituovaná $-NH_2$
- 4 $-O-C(O)-A4-OH$, kde $A4-OH$ je alkylová skupina mající 4 atomy uhlíku substituovaná $-OH$ nebo $-O-$
- 5 $-O-C(O)-A6-OH$, kde $A6-OH$ je alkylová skupina mající 6 atomů uhlíku substituovaná $-OH$ nebo $-O-$
- 6 $-O-C(O)-A8-OH$, kde $A8-OH$ je alkylová skupina mající 8 atomů uhlíku substituovaná $-OH$ nebo $-O-$
- 7 $-O-S(O)(O)-O-CH_2-CH(O-C(O)-OH)-CH_2-O-C(O)-C_3H_7$
- 8 $-O-P(O)(O)-O-CH_2-CH(O-C(O)-OH)-CH_2-O-C(O)-C_3H_7$
- 9 $-O-S(O)(O)-O-CH_2-CH(O-C(O)-OH)-CH_2-O-C(O)-C_4H_9$
- 10 $-O-P(O)(O)-O-CH_2-CH(O-C(O)-OH)-CH_2-O-C(O)-C_4H_9$

Skupiny 17-1 až 17-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 10-6, kde substituenty R¹ 1-10 uvedené v tabulce A jsou nahrazeny následujícími substituenty:

- 1 -O-S(O)(O)-O-CH₂-CH(O-C(O)-OH)-CH₂-O-C(O)-C₆H₁₃
- 2 -O-P(O)(O)-O-CH₂-CH(O-C(O)-OH)-CH₂-O-C(O)-C₆H₁₃
- 3 -O-S(O)(O)-O-CH₂-CH(O-C(O)-OH)-CH₂-O-C(O)-C₈H₁₇
- 4 -O-P(O)(O)-O-CH₂-CH(O-C(O)-OH)-CH₂-O-C(O)-C₈H₁₇
- 5 -O-S(O)(O)-O-CH₂-CH(O-C(O)-OH)-CH₂-O-C(O)-CH₂C₅H₁₀OH
- 6 -O-P(O)(O)-O-CH₂-CH(O-C(O)-OH)-CH₂-O-C(O)-CH₂C₅H₁₀OH
- 7 -O-S(O)(O)-O-CH₂-CH(O-C(O)-OH)-CH₂-O-C(O)-CH₂C₃H₆OH
- 8 -O-P(O)(O)-O-CH₂-CH(O-C(O)-OH)-CH₂-O-C(O)-CH₂C₃H₆OH
- 9 -O-S(O)(O)-O-CH₂-CH(O-C(O)-OH)-CH₂-O-C(O)-CH₂C₇H₁₄OH
- 10 -O-P(O)(O)-O-CH₂-CH(O-C(O)-OH)-CH₂-O-C(O)-CH₂C₇H₁₄OH

Skupiny 18-1 až 18-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 10-6, kde substituenty R⁴ 1-10 uvedené v tabulce A jsou nahrazeny následujícími substituenty:

- 1 -O-C(O)CH₂NH₂
- 2 -O-C(O)C(CH₃)H-NH₂
- 3 -O-C(O)C(CH₂C₆H₅)H-NH₂
- 4 -O-C(O)-O-NHC(CH₃)H-CO₂H
- 5 -O-C(O)-O-NH(CH₂C₆H₅)H-CO₂H
- 7 -O-C(O)-CF₃
- 8 -O-C(O)-CH₂CF₃
- 9 -O-C(O)-(CH₂)₃CF₃
- 10 -O-C(O)-(CH₂)₅CH₃

Skupiny 19-1 až 19-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 10-6, kde substituenty R⁴ 1-10 uvedené v tabulce A jsou nahrazeny následujícími substituenty:

- 1 -O-C(O)-O-CH₃

- 2 $\text{-O-C(O)-O-CH}_2\text{CH}_3$
- 3 $\text{-O-C(O)-O-C}_3\text{H}_7$
- 4 $\text{-O-C(O)-O-C}_4\text{H}_9$
- 5 $\text{-O-C(O)-O-C}_6\text{H}_{13}$
- 6 $\text{-O-C(O)-O-C}_6\text{H}_5$
- 7 $\text{-O-C(O)-O-C}_6\text{H}_4\text{OH}$
- 8 $\text{-O-C(O)-O-C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$
- 9 $\text{-O-C(O)-O-C}_6\text{H}_4\text{OCH}_2\text{CH}_3$
- 10 $\text{-O-C(O)-O-C}_6\text{H}_4\text{F}$

Skupiny 20-1 až 20-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 10-6, kde substituenty R^4 1-10 uvedené v tabulce A jsou nahrazeny následujícími substituenty:

- 1 -O-C(O)-S-CH_3
- 2 $\text{-O-C(O)-S-CH}_2\text{CH}_3$
- 3 $\text{-O-C(O)-S-C}_3\text{H}_7$
- 4 $\text{-O-C(O)-S-C}_4\text{H}_9$
- 5 $\text{-O-C(O)-S-C}_6\text{H}_{13}$
- 6 $\text{-O-C(O)-S-C}_6\text{H}_5$
- 7 $\text{-O-C(O)-S-C}_6\text{H}_4\text{OH}$
- 8 $\text{-O-C(O)-S-C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$
- 9 $\text{-O-C(O)-S-C}_6\text{H}_4\text{OCH}_2\text{CH}_3$
- 10 $\text{-O-C(O)-S-C}_6\text{H}_4\text{F}$

Skupiny 21-1 až 21-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 10-6, kde substituenty R^4 1-10 uvedené v tabulce A jsou nahrazeny následujícími substituenty:

- 1 -O-C(S)-O-CH_3
- 2 $\text{-O-C(S)-O-CH}_2\text{CH}_3$
- 3 -SH
- 4 =S

- 5 $-\text{O}-\text{C}(\text{S})-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_{13}$
- 6 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$
- 7 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$
- 8 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$
- 9 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_2\text{CH}_3$
- 10 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{F}$

Skupiny 22-1 až 22-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 10-6, kde substituenty R^2 1-10 uvedené v tabulce A jsou nahrazeny následujícími substituenty:

- 1 $-\text{O}-\text{C}(\text{S})-\text{O}-\text{CH}_3$
- 2 $-\text{O}-\text{C}(\text{S})-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_3$
- 3 $-\text{O}-\text{C}(\text{S})-\text{O}-\text{C}_3\text{H}_7$
- 4 $-\text{O}-\text{C}(\text{S})-\text{O}-\text{C}_4\text{H}_9$
- 5 $-\text{O}-\text{C}(\text{S})-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_{13}$
- 6 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$
- 7 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$
- 8 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$
- 9 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_2\text{CH}_3$
- 10 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{F}$

Skupiny 23-1 až 23-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 10-6, kde substituenty R^3 1-10 uvedené v tabulce A jsou nahrazeny následujícími substituenty:

- 1 $-\text{O}-\text{C}(\text{S})-\text{O}-\text{CH}_3$
- 2 $-\text{O}-\text{C}(\text{S})-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_3$
- 3 $-\text{O}-\text{C}(\text{S})-\text{O}-\text{C}_3\text{H}_7$
- 4 $-\text{O}-\text{C}(\text{S})-\text{O}-\text{C}_4\text{H}_9$
- 5 $-\text{O}-\text{C}(\text{S})-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_{13}$
- 6 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$
- 7 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$

- 8 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$
- 9 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_2\text{CH}_3$
- 10 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{F}$

Skupiny 24-1 až 24-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 10-6, kde substituenty R^2 1-10 uvedené v tabulce A jsou nahrazeny následujícími substituenty:

- 1 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_5$
- 2 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$
- 3 $-\text{SH}$
- 4 $=\text{S}$
- 5 $-\text{O}-\text{CHR}^{24}-\text{C}(\text{O})-\text{OR}^{25}$
- 6 $-\text{O}-\text{CHR}^{24}-\text{C}(\text{O})-\text{R}^{25}$
- 7 $-\text{O}-\text{CHR}^{24}-\text{C}(\text{O})-\text{N}(\text{R}^{25})_2$
- 8 $-\text{O}-\text{CHR}^{24}-\text{C}(\text{O})-\text{NHR}^{25}$
- 9 $-\text{O}-\text{CHR}^{24}-\text{C}(\text{O})-\text{NH}_2$
- 10 $-\text{O}-\text{CHR}^{24}-\text{C}(\text{O})-\text{OC}_6\text{H}_5$

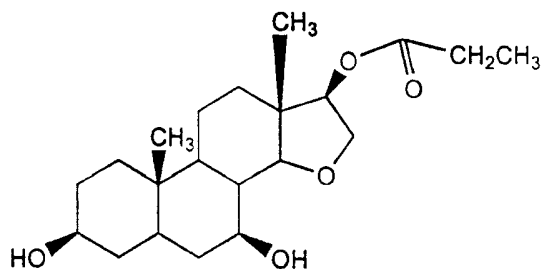
Skupiny 25-1 až 25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 10-6, kde substituenty R^3 1-10 uvedené v tabulce A jsou nahrazeny následujícími substituenty:

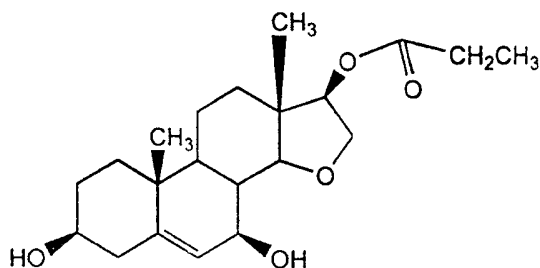
- 1 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_5$
- 2 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$
- 3 $-\text{SH}$
- 4 $=\text{S}$
- 5 $-\text{O}-\text{CHR}^{24}-\text{C}(\text{O})-\text{OR}^{25}$
- 6 $-\text{O}-\text{CHR}^{24}-\text{C}(\text{O})-\text{R}^{25}$
- 7 $-\text{O}-\text{CHR}^{24}-\text{C}(\text{O})-\text{N}(\text{R}^{25})_2$
- 8 $-\text{O}-\text{CHR}^{24}-\text{C}(\text{O})-\text{NHR}^{25}$
- 9 $-\text{O}-\text{CHR}^{24}-\text{C}(\text{O})-\text{NH}_2$
- 10 $-\text{O}-\text{CHR}^{24}-\text{C}(\text{O})-\text{OC}_6\text{H}_5$

Skupiny 26-1 až 26-25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 25-10-6, přičemž substituent R^7 v obecném vzorci (B) je -O- místo -CH₂-. Tudíž sloučeniny 26-1 a 26-2 označené 1.2.5.9 mají následující struktury

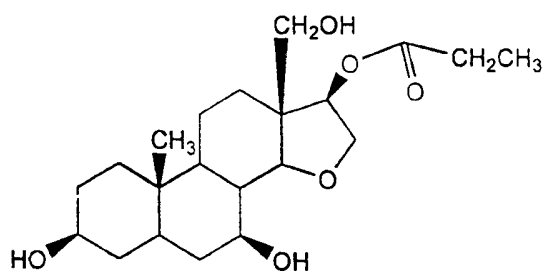


sloučenina 1.2.5.9 skupiny 26-1 a

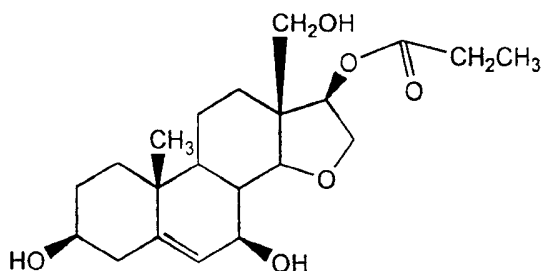


sloučenina 1.2.5.9 skupiny 26-2.

Sloučeniny skupin 26-8-1 a 26-8-2 označené 1.2.5.9 mají následující strukturu

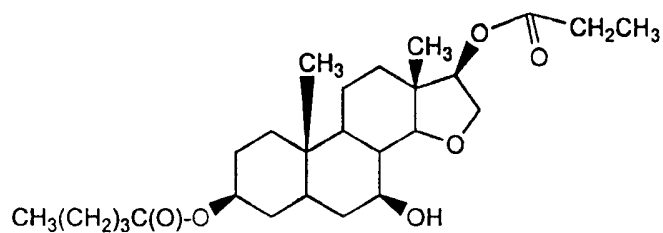


sloučenina 1.2.5.9 skupiny 26-8-1 a

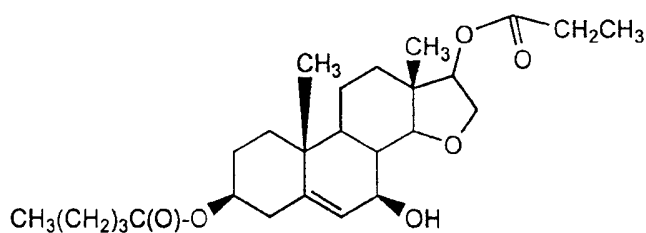


sloučenina 1.2.5.9 skupiny 26-8-2.

Sloučeniny skupin 26-11-1 a 26-11-2 označené 1.2.5.9 mají následující strukturu



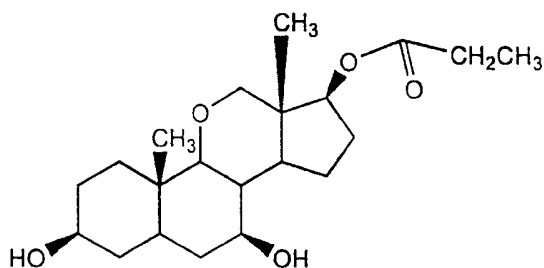
sloučenina 1.2.5.9 skupiny 26-11-1



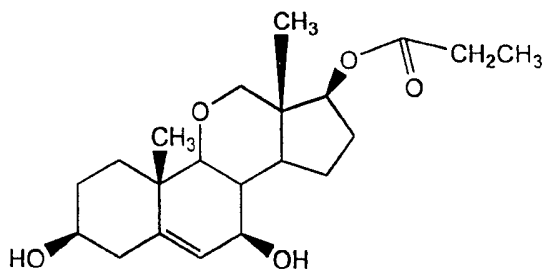
sloučenina 1.2.5.9 skupiny 26-11-2.

Skupiny 27-1 až 27-25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 25-10-6, přičemž substituent R^8 v obecném vzorci (B) je -O- místo- CH_2 -. Tudiž sloučeniny 27-1 a 27-2 označené 1.2.5.9 mají následující struktury

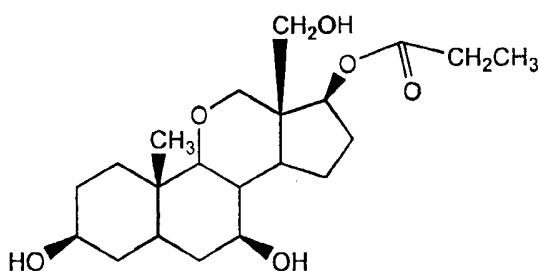


sloučenina 1.2.5.9 skupiny 27-1 a

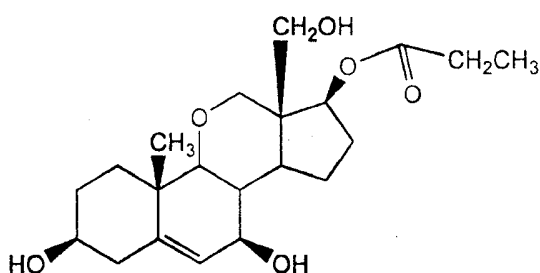


sloučenina 1.2.5.9 skupiny 27-2

Sloučeniny skupin 27-8-1 a 27-8-2 označené 1.2.5.9 mají následující struktury

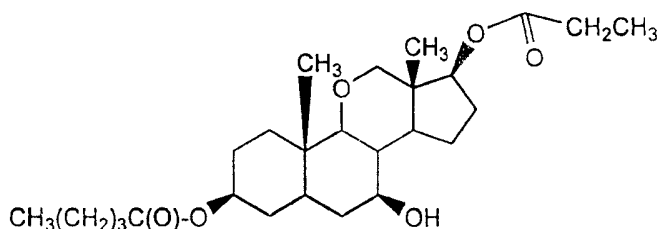


sloučenina 1.2.5.9 skupiny 27-8-1 a

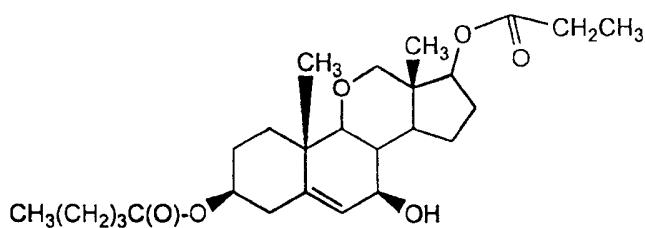


sloučenina 1.2.5.9 skupiny 27-8-2.

Sloučeniny skupin 27-11-1 a 27-11-2 označené 1.2.5.9 mají následující struktury



sloučenina 1.2.5.9 skupiny 27-11-1 a

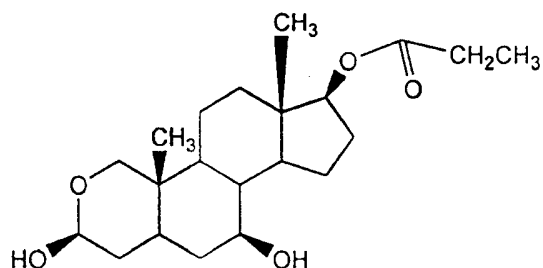


sloučenina 1.2.5.9 skupiny 27-11-2.

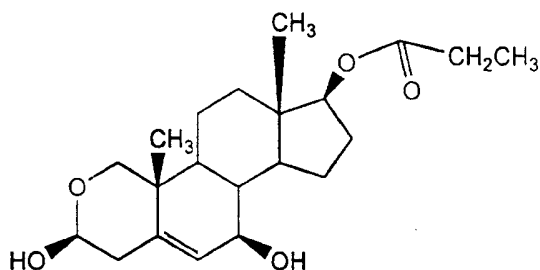
Skupiny 28-1 až 28-25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 25-10-6, přičemž substituent R^9 v obecném vzorci (B) je -O- místo- CH_2 - a v poloze 1-2 není přítomna dvojná vazba. Tudíž zde nejsou např. skupiny 28-3, 28-4, 28-6, 28-8-3, 28-8-4

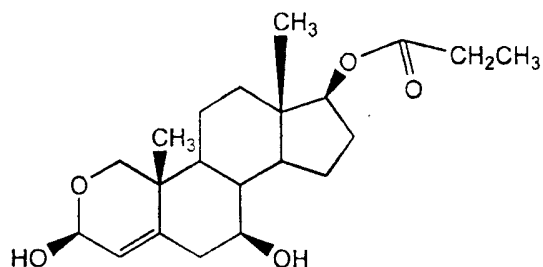
nebo 28-8-6, poněvadž je v těchto sloučeninách dvojná vazba poloze 1-2 a atom kyslíku kruhu v poloze 2 by mohl být nabitý. Sloučeniny 28-1, 28-2 a 28-5 označené 1.2.5.9 mají následující struktury



sloučenina 1.2.5.9 skupiny 28-1 a

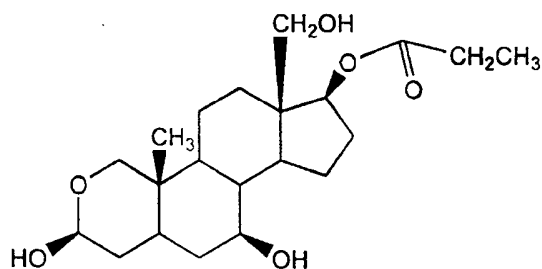


sloučenina 1.2.5.9 skupiny 28-2

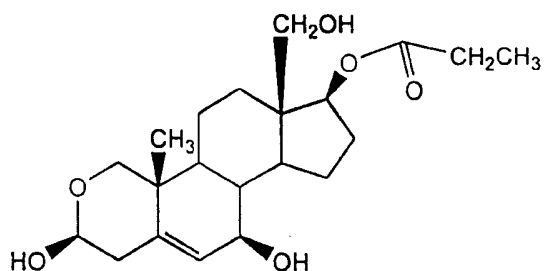


sloučenina 1.2.5.9 skupiny 28-5.

Sloučeniny skupin 28-8-1 a 28-8-2 označené 1.2.5.9 mají následující struktury

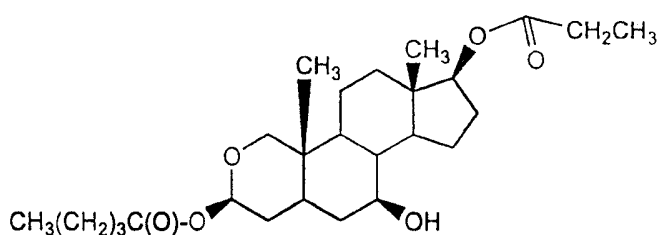


sloučenina 1.2.5.9 skupiny 28-8-1 a

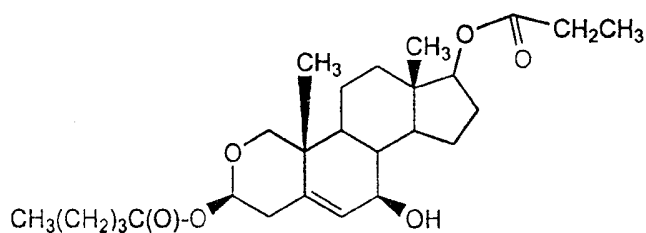


sloučenina 1.2.5.9 skupiny 28-8-2.

Sloučeniny skupin 28-11-1 a 28-11-2 označené 1.2.5.9 mají následující struktury



sloučenina 1.2.5.9 skupiny 28-11-1



sloučenina 1.2.5.9 skupiny 28-11-2.

Skupiny 29-1 až 29-25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 25-10-6, přičemž substituent R^7 je -NH- místo- CH_2 -. Sloučeniny jsou označeny podle způsobu popsaného pro skupiny 26-1 až 26-25-10-6.

Skupiny 30-1 až 30-25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 25-10-6, přičemž substituent R^8 je -NH- místo- CH_2 -. Sloučeniny jsou označeny podle způsobu popsaného pro skupiny 26-1 až 26-25-10-6.

Skupiny 31-1 až 31-25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 25-10-6, přičemž substituent R^9 je -NH- místo -CH₂- a v poloze 1-2 není žádná dvojná vazba. Tudiž zde nejsou např. skupiny 31-3, 31-4, 31-6, 31-8-3, 31-8-4 nebo 31-8-6. Sloučeniny jsou označeny podle způsobu popsaného pro skupiny 26-1 až 26-25-10-6.

Skupiny 32-1 až 32-25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 25-10-6, přičemž dva ze substituentů R^7 , R^8 a R^9 jsou nezávisle -NH-, -O- nebo -S- místo -CH₂-. Sloučeniny jsou označeny podle způsobu popsaného pro skupiny 26-1 až 26-25-10-6.

Skupiny 33-1 až 33-25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 25-10-6, přičemž každý ze substituentů R^7 , R^8 a R^9 je nezávisle -NH-, -O- nebo -S- místo -CH₂-. Sloučeniny jsou označeny podle způsobu popsaného pro skupiny 26-1 až 26-25-10-6.

Skupiny 34-1 až 34-25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 25-10-6, přičemž substituent R^7 je -S- místo -CH₂-. Sloučeniny jsou označeny podle způsobu popsaného pro skupiny 26-1 až 26-25-10-6.

Skupiny 35-1 až 35-25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 25-10-6, přičemž substituent R^8 je -S- místo -CH₂-. Sloučeniny jsou označeny podle způsobu popsaného pro skupiny 26-1 až 26-25-10-6.

Skupiny 36-1 až 36-25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve skupinách 1 až 25-10-6, přičemž substituent R^9 je -S- místo -CH₂- a v poloze 1-2 není žádná dvojná vazba. Tudiž

zde nejsou např. skupiny 36-3, 36-4, 36-6, 36-8-3, 36-8-4 nebo 36-8-6. Sloučeniny jsou označeny podle způsobu popsaného pro skupiny 26-1 až 26-25-10-6.

Skupiny 37-1 až 37-25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve všech výše popsaných skupinách 1 až 36-25-10-6, přičemž substituent R^1 není divalentní, např. není $=O$, a má α -konfiguraci místo β -konfigurace, jak je uvedeno v obecném vzorci (B).

Skupiny 38-1 až 38-25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve všech výše popsaných skupinách 1 až 36-25-10-6, přičemž substituent R^2 není divalentní, např. není $=O$, a má α -konfiguraci místo β -konfigurace, jak je uvedeno v obecném vzorci (B).

Skupiny 39-1 až 39-25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve všech výše popsaných skupinách 1 až 36-25-10-6, přičemž substituent R^3 není divalentní, např. není $=O$, a má β -konfiguraci místo α -konfigurace, jak je uvedeno v obecném vzorci (B).

Skupiny 40-1 až 40-25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve všech výše popsaných skupinách 1 až 36-25-10-6, přičemž substituent R^4 není divalentní, např. není $=O$, a má α -konfiguraci místo β -konfigurace, jak je uvedeno v obecném vzorci (B).

Skupiny 41-1 až 41-25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve všech výše popsaných skupinách 1 až 36-25-10-6, přičemž substituenty R^2 a R^4 nejsou divalentní, např. nejsou $=O$, a mají α -konfiguraci místo β -konfigurace, jak je uvedeno v obecném vzorci (B).

Skupiny 42-1 až 42-25-10-6

Tyto skupiny obsahují každou sloučeninu označenou ve všech výše popsáných skupinách 1 až 36-25-10-6, přičemž za předpokladu, že v poloze 5 je atom vodíku, má β -konfiguraci místo α -konfigurace, jak je uvedeno v obecném vzorci (B).

Kterákoliv ze sloučenin nebo obecných sloučenin, které jsou označeny v jednotlivých skupinách 1 až 42-25-10-6, je vhodné pro použití ve způsobech podle předloženého vynálezu.

V některých provedeních má jeden nebo více ze substituentů R^1 , R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} a R^{18} nezávisle strukturu(y) a/nebo nezávisle zahrnuje označené sloučeniny, atom vodíku, -OH, =O, -SH, =S, -NH₂, -CN, -N₃, halogen, =CH₂, =NOH, =NOC(O)CH₃, -C(O)-CH₃, -C(O)-(CH₂)₁₋₄-CH₃, -CCH, -CCCH₃, -CH=CH₂, -CH=CH₂CH₃, -O-C(O)-(CH₂)_m-(CF₂)_n-CH₃, -O-C(O)-(CH₂)_m-(CF₂)-CF₃, -O-C(O)-(CH₂)-(CF₂)_n-CH₂F, -O-C(O)-O-(CH₂)_m-(CF₂)_n-CH₃, -O-C(O)-O-(CH₂)_m-(CF₂)_n-CF₃, -O-C(O)-O-(CH₂)_m-(CF₂)_n-CH₂F, -O-C(O)-NH-(CH₂)_m-(CF₂)_n-CH₃, -O-C(O)-NH-(CH₂)_m-(CF₂)_n-CF₃, -O-C(O)-NH-(CH₂)_m-(CF₂)_n-CH₂F (kde index m je 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 nebo 10, index n je 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 nebo 10, obvykle index n je 0), -CH(CH₃)-(CH₂)₂-C(O)NH-CH₂COOH, -CH(CH₃)-(CH₂)₂-C(O)NH-CH₂SO₃H, -OSi(CH₃)₂C(CH₃)₃, -C(OH)=CHCH₃, =CH(CH₂)₀₋₁₅CH₃, -(CH₂)₀₋₁₄CH₂F, -(CH₂)₀₋₁₄CH₂Cl, -(CH₂)₀₋₁₄CH₂Br, -(CH₂)₀₋₁₄CH₂I, -(CH₂)₂₋₁₀-O-(CH₂)₀₋₄CH₃, -(CH₂)₂₋₁₀-S-(CH₂)₀₋₄CH₃, -(CH₂)₂₋₁₀-NH-(CH₂)₀₋₄CH₃, -O-(CH₂)₀₋₁₄CH₂F, -O-(CH₂)₀₋₁₄CH₂Cl, -O-(CH₂)₀₋₁₄CH₂Br, -O-(CH₂)₀₋₁₄CH₂I, -O-(CH₂)₂₋₁₀-O-(CH₂)₀₋₄CH₃, -O-(CH₂)₂₋₁₀-S-(CH₂)₀₋₄CH₃, -O-(CH₂)₂₋₁₀-NH-(CH₂)₀₋₄CH₃, -O-C(O)-(CH₂)₀₋₁₄CH₂F, -O-C(O)-(CH₂)₀₋₁₄CH₂Cl, -O-C(O)-(CH₂)₀₋₁₄CH₂Br, -O-C(O)-(CH₂)₀₋₁₄CH₂I, -O-C(O)-(CH₂)₂₋₁₀-O-(CH₂)₀₋₄CH₃, -O-C(O)-(CH₂)₂₋₁₀-S-(CH₂)₀₋₄CH₃, -O-C(O)-(CH₂)₂₋₁₀-NH-(CH₂)₀₋₄CH₃, -O-C(S)-(CH₂)₀₋₁₄CH₂F, -O-C(S)-(CH₂)₀₋₁₄CH₂Cl, -O-C(S)-(CH₂)₀₋₁₄CH₂Br, -O-C(S)-(CH₂)₀₋₁₄CH₂I, -O-C(S)-(CH₂)₂₋₁₀-O-(CH₂)₀₋₄CH₃, -O-C(S)-(CH₂)₂₋₁₀-S-(CH₂)₀₋₄CH₃, -O-C(S)-(CH₂)₂₋₁₀-NH-(CH₂)₀₋₄CH₃, -(CH₂)₀₋₁₆NH₂, -(CH₂)₀₋₁₅CH₃, -(CH₂)₀₋₁₅CN, -(CH₂)₀₋₁₅CH=CH₂, -(CH₂)₀₋₁₅NHCH(O), -(CH₂)₀₋₁₆NH-(CH₂)₀₋₁₅CH₃, -(CH₂)₀₋₁₅CH, -(CH₂)₀₋₁₅OC(O)CH₃, -(CH₂)₀₋₁₅OCH(OH)CH₃, -(CH₂)₀₋₁₅C(O)OCH₃, -(CH₂)₀₋₁₅C(O)OCH₂CH₃, -(CH₂)₀₋₁₅C(O)(CH₂)₀₋₁₅CH₃, -(CH₂)₀₋₁₅C(O)(CH₂)₀₋₁₅CH₂OH, -O(CH₂)₁₋₁₆NH₂, -O(CH₂)₁₋₁₅CH₃, -O(CH₂)₁₋₁₅CN, -O(CH₂)₁₋₁₅CH=CH₂, -O(CH₂)₁₋₁₅NHCH(O), -O(CH₂)₁₋₁₆NH-(CH₂)₁₋₁₅CH₃, -O(CH₂)₁₋₁₅CCH, -O(CH₂)₁₋₁₅OC(O)CH₃, -O(CH₂)₁₋₁₅OCH(OH)CH₃, -O(CH₂)₁₋

$_{15}\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_{1-15}\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_{1-15}\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_{0-15}\text{CH}_3$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_{1-15}\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_{0-15}\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_{1-16}\text{NH}_2$, $-\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_{1-15}\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_{1-15}\text{CN}$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_{1-15}\text{CH}=\text{CH}_2$, $-\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_{1-15}\text{NHCH}(\text{O})$, $-\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_{1-16}\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-15}\text{CH}_3$, $-\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_{1-15}\text{CCH}_3$, $-\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_{1-15}\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_{1-15}\text{OCH}(\text{OH})\text{CH}_3$, $-\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_{1-15}\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$, $-\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_{1-15}\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_{1-15}\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_{0-15}\text{CH}_3$, $-\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_{1-15}\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_{0-15}\text{CH}_2\text{OH}$, fosfoenolpyruvát, D-glukosamin, glucolovou kyselinu, glukuronovou kyselinu, pantothenovou kyselinu, pyrohroznovou kyselinu, glukosu, fruktosu, manosu, sacharosu, laktosu, fukosu, rhamnosu, galaktosu, ribosu, 2'-deoxyribosu, 3'-deoxyribosu, glycerol, 3-fosfoglycerát a PEG (PEG 20, PEG 100, PEG 200, PEG 10000), a polymer na bázi polyoxyalkylenové skupiny, glycín, alanin, fenylalanin, threonin, prolin, 4-hydroxyprolin nebo oligonukleotid nebo analog, který obsahuje 4 až 21 monomerů.

Pokud je substituent oligonukleotid nebo polymer, obvykle pouze jeden z nich je vázán na sloučeninu obecného vzorce (1). Typicky, pokud substituenty R^1 - R^2 a R^4 - R^6 obsahují jeden nebo více těchto substituentů (nebo jiné zde popsané), má substituent β -konfiguraci, zatímco substituent R^3 typicky obsahuje substituent v β -konfiguraci. V některých provedeních má substituent R^2 α -konfiguraci.

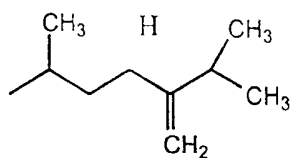
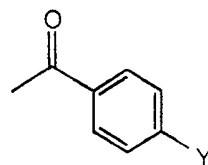
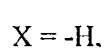
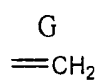
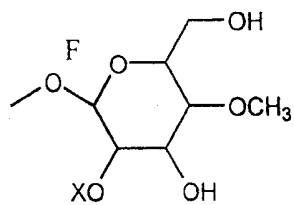
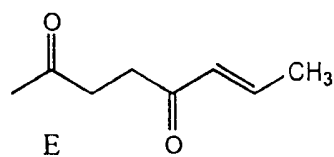
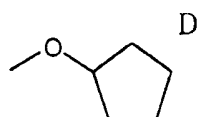
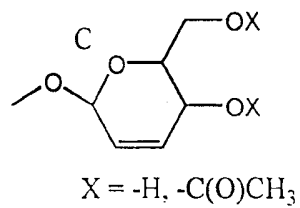
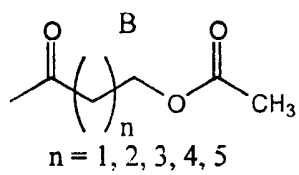
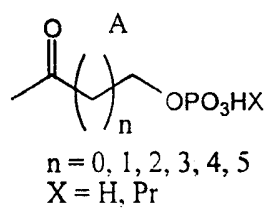
V některých provedeních zahrnuje jeden nebo více substituentů R^1 - R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} a R^{18} nukleosid, nukleotid, oligonukleotid nebo analog jakékoliv této skupiny. Typicky jsou tyto skupiny (části) připojeny na steroidní jádro, pokud hydroxylová, thiolová, acylová část nebo amin jsou v této poloze, přes terminální hydroxylovou, thiolovou, acylovou část nebo amin v polohách 5', 3' nebo 2'. Pro oligonukleotidy a analogy oligonukleotidů je vazba na steroid občas přes cukernou hydroxylovou skupinu ve vnitřní poloze 2'.

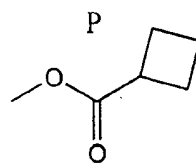
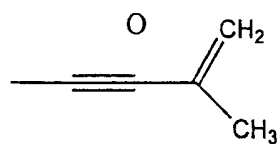
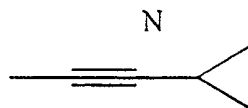
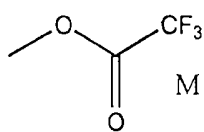
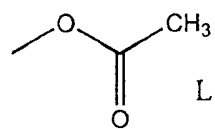
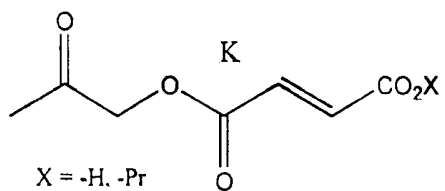
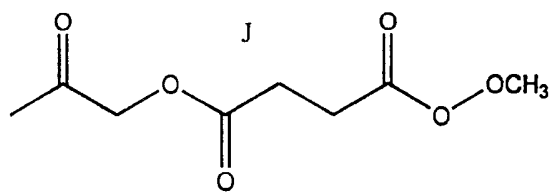
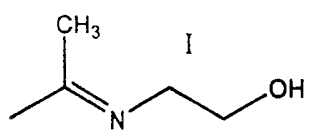
Analoga fosfodiesterových vazeb zahrnují fosfothioátové vazby a jiné, jež jsou popsány v citovaných odkazech. Oligonukleotidové kopulační skupiny označují jakoukoliv část vhodnou pro vytvoření fosfodiesterové vazby nebo fosfodiesterové vazby u analoga mezi sousedními nukleotidy nebo jejich analogy. Vhodné skupiny oligonukleotidové kopulační skupiny zahrnují $-\text{OH}$, H-fosfonát, alkylfosfonamidáty nebo fosforamidáty, např. β -kyanoethyl-fosforamidát, *N,N*-diizopropylamino- β -kyanoethoxyfosfin a jiné, které jsou popsány v citovaných odkazech. Vhodné purinové a pyrimidinové báze zahrnují adenin, guanin, cytosin, thymín, uracil a a jiné, které jsou popsány v citovaných odkazech. Vhodné nukleosidy, nukleotidy, oligonukleotidy a jejich analoga byly popsány např.

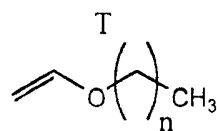
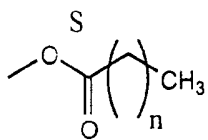
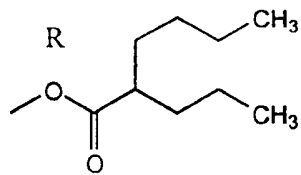
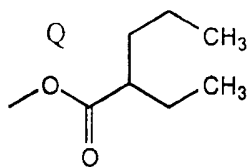
v patentech US č. 4725677, 4973679, 4997927, 4415732, 4458066, 5047524, 4959463, 5212295, 5386023, 5489677, 5594121, 5614622, 5624621; a PCT přihlášky vynálezu zveřejněné pod č. WO 92/07864, WO 96/29337, WO 97/14706, WO 97/14709, WO 97/31009, WO 98/04585 a WO 98/04575, všechny jsou zde uvedeny jako odkaz. Sloučeniny obecného vzorce (1), např. uvedené v jakékoliv skupině sloučenin 1 až 42-25-10-6, jsou vhodné pro vytvoření vazby s oligonukleotidy modulací lipofility oligonukleotidů nebo transportem nebo permeací oligonukleotidu do buněk. Tyto vazby mohou být biologicky labilní, a tudíž usnadňovat uvolnění steroidu z oligonukleotidu, jakmile se konjugát dostane do buňky.

V tabulce 2 jsou uvedeny tyto a další názorné příklady skupin (částí), které mohou jeden nebo více substituentů R^1 - R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} a R^{18} nezávisle obsahovat. Pr označuje chránicí skupinu. Tyto skupiny (části) jsou často vázány do polohy jednoho nebo více substituentů R^1 , R^2 a R^4 , obvykle do jednoho nebo dvou z těchto poloh. V strukturách s více než jednou uvedenou proměnnou skupinou, např. X ve struktuře A3 nebo A5, je každá skupina (část) nezávisle vybrána.

Tabulka 2

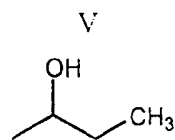
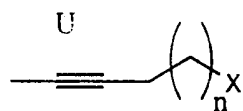




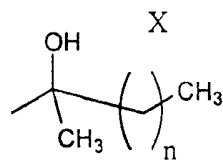
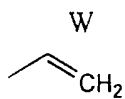


$n = 1, 2, 3, 4, 5, 6$

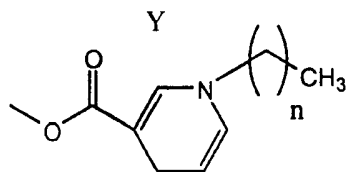
$n = 1, 2, 3, 4, 5, 6$



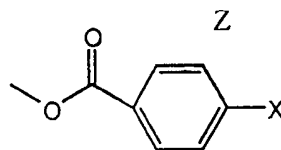
$n = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6$
 $X = \text{CH}_3, \text{Cl}$



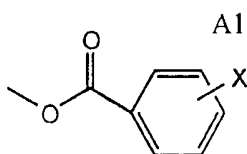
$n = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6$



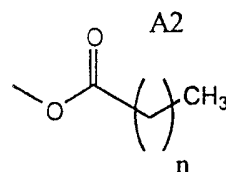
$n = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6$



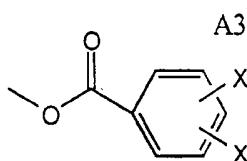
$X = F, Cl, Br, NO_2, OCH_3, OC_2H_5, CN$



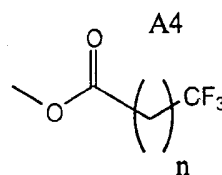
$X = H, F, Cl, Br, NO_2, OCH_3, OC_2H_5, CN$



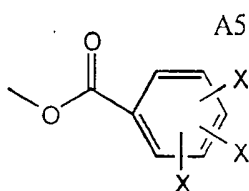
$n = 1, 2, 3, 4, 5, 6$



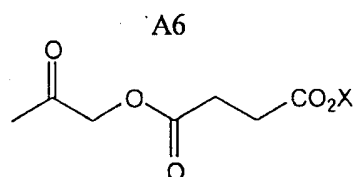
$X = H, F, Cl, Br, NO_2, OCH_3, OC_2H_5, CN$



$n = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6$



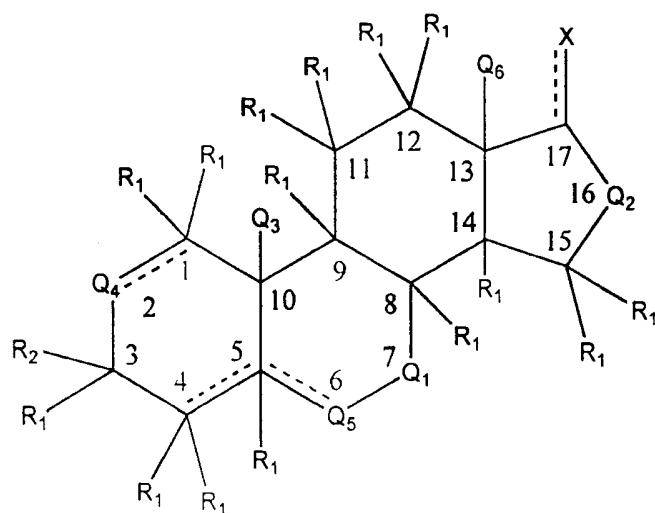
$X = H, F, Cl, Br, NO_2, OCH_3, OC_2H_5, CN$



$X = H, Pr$

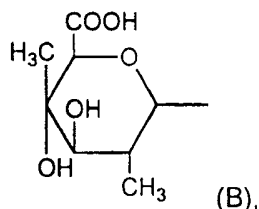
Typické obaly pro skladování přípravků a formulací podle předloženého vynálezu budou limitovat množství vody, které prosakuje k obsaženému materiálu. Typicky jsou formulace baleny do hermeticky nebo indukčně uzavřených balení. Obaly jsou obvykle indukčně uzavřeny. Charakteristiky permeace vody do obalů byly popsány např. v Containers--Permeation, chapter, USP 23 < 671 > , United States Pharmacopeial Convention, Inc., 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, MD 20852, : 1787 *et seq.*, (1995).

Bylo popsáno použití sloučenin obecného vzorce (A) pro ošetření určitých onemocnění, např. infekcí, např. malárie, HCV nebo infekce mikroorganizmem rodu *Cryptosporidium*. Sloučeniny obecného vzorce (A) mají následující strukturu



kde Q_1 je $-C(R_1)_2-$ nebo $-C(O)-$; Q_2 je $-C(R_1)_2-$, $-C(R_1)(Y)-$, $-C(Y)-$ nebo $-CH_2-CH_2-$; Q_3 je atom vodíku nebo $-C(R_1)_3-$; Q_4 je $-C(R_1)_2-$, $-C(O)-$, hydroxyvinylidin ($-\text{CH}(\text{CH}=\text{CHOH})-$) nebo methylnmethylen ($-\text{CH}(\text{CH})_3-$); Q_5 je $-C(R_1)_2-$ nebo $-C(O)-$;

X a Y jsou nezávisle $-\text{OH}$, atom vodíku, nižší alkylová skupina (např. C_{1-6} alkylová skupina), $-\text{O}-\text{C}(O)-R_5$, $-\text{C}(O)-\text{OR}_5$, halogen (tzn., $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$ nebo $-\text{I}$) nebo $=\text{O}$; každý substituent R_1 je nezávisle atom vodíku, $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{I}$, $-\text{OH}$, C_{1-6} alkoxy skupina nebo C_{1-6} alkylová skupina; R^2 je atom vodíku, $-\text{OH}$, $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{I}$, C_{1-6} alkylová skupina, C_{1-6} alkoxy skupina, $-\text{OR}^3$, ester (např. $-\text{O}-\text{C}(O)-R_4$ nebo $-\text{C}(O)-\text{O}-R_4$), thioester (např. $-\text{O}-\text{C}(\text{S})-R_4$ nebo $-\text{C}(\text{S})-\text{O}-R_4$), thioacetalová skupina (např. $-\text{S}-\text{C}(O)-R_4$ nebo $-\text{C}(O)-\text{S}-R_4$), sulfátový ester (např. $-\text{O}-\text{S}(\text{O})(\text{O})-\text{O}-R_4$), sulfonátester (např. $-\text{O}-\text{S}(\text{O})-\text{O}-R_4$) nebo karbamát (např. $-\text{O}-\text{C}(O)\text{NH}-R_4$ nebo $-\text{NH}-\text{C}(O)-\text{O}-R_4$) nebo substituent R^2 , společně se substituentem R_1 , který je vázaný na stejný atom uhlíku je $=\text{O}$; substituent R^3 je $-\text{S}(\text{O})(\text{O})-\text{OM}$, $-\text{S}(\text{O})(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{O}-\text{C}(O)-R_6)-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(O)-R_6$, $-\text{P}(\text{O})(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{O}-\text{C}(O)-R_7)-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(O)-R_7$, glukuronidová skupina mající strukturu (B)



nebo substituent R_3 je C_{1-18} alkylová, C_{2-18} alkenylová, C_{2-18} alkynylová skupina, C_{1-18} ester nebo C_{1-18} thioester, přičemž kterákoliv z výše uvedených C_{1-18} nebo C_{2-18} částí je případně substituována na jednom nebo více atomů vodíku jednou nebo více

z nezávisle vybraných skupin $-OR^{PR}$, (včetně-OH), NHR^{PR} , (včetně $-NH_2$) nebo $-SR^{PR}$, (včetně $-SH$) skupin nebo substituent R^3 je C_{1-18} mastná kyselina, C_{2-10} alkynylová skupina, $(J)_n$ -fenyl- C_{1-5} -alkylová skupina, $(J)_n$ -fenyl- C_{2-5} -alkenylová skupina; substituent R^4 je atom vodíku, chránicí skupina, případně substituovaná C_{1-18} alkylová skupina, případně substituovaná C_{1-18} alkenylová skupina, případně substituovaná C_{1-18} alkynylová skupina, případně substituovaná aryllová skupina, případně substituovaná aryl- C_{1-6} alkylová skupina, případně substituovaná aryl- C_{2-6} alkenylová skupina, případně substituovaná aryl- C_{2-6} alkynylová skupina, případně substituovaná heterocykl- C_{1-6} alkylová skupina, případně substituovaná C_{2-6} alkenylheterocyklická skupina, případně substituovaná C_{2-6} alkynyl-heterocyklická skupin nebo případně substituovaná heterocyklickou skupinou, kde kterákoliv z výše uvedených částí je případně substituovaná na jednom, dvou, třech, čtyřech, pěti nebo více atomech uhlíku nebo vodíku s jednou nebo více skupinami vybranými z $-O-$, $-S-$, $-NR^{PR}-$ (včetně-NH-), $-NH-C(O)-$, $-OR^{PR}$ (včetně $-OH$), $-NHR^{PR}$ (včetně $-NH_2$), $-SR^{PR}$ (včetně $-SH$), $=O$, $=S$, $=N-OH$, $-CN$, $-NO_2$, $-F$, $-Cl$, $-Br$ nebo $-I$ skupin nebo atomů; každý substituent R_5 je nezávisle rozvětvená nebo nerozvětvená C_{1-14} alkylová skupina; každý substituent R_6 je nezávisle rozvětvená nebo nerozvětvená C_{1-14} alkylová skupina; každý substituent R_7 je nezávisle rozvětvená nebo nerozvětvená C_{1-14} alkylová skupina nebo glukuronidová skupina struktury (B); každý substituent R^{PR} je nezávisle atom vodíku nebo nezávisle vybraná chránicí skupina; index n je 0, 1, 2 nebo 3; každé J je nezávisle $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-I$, C_{1-4} alkylová skupina, C_{1-4} alkenylová skupina, C_{1-4} alkoxy, karboxy, nitro, sulfátová, sulfonylová skupina, C_{1-6} karboxylester nebo C_{1-6} sulfátester; M je atom vodíku, sodík, $-S(O)(O)-O-CH_2-CH(O-C(O)-R_6)-CH_2-O-C(O)-R_6$, $-P(O)(O)-O-CH_2-CH(O-C(O)-R_7)-CH_2-O-C(O)-R_7$ nebo glukuronidová skupina struktury (A); tečkované čáry v obecném vzorci (1) reprezentují případnou dvojnou vazbu za předpokladu, že v obou polohách 4-5 a 5-6 nejsou přítomny dvojně vazby, a pokud dvojná vazba je přítomna, pak 0 nebo 1 substituent R^1 je vázaný na atomy uhlíku v polohách 1-, 2-, 4-, 5-, 6- nebo 17 takovým způsobem, že tyto atomy uhlíku jsou tetravalentní; a soli, stereoizomery, polohové izomery, metabolity, analoga nebo prekurzory.

Sloučeniny obecného vzorce (A), zejména ty, ve kterých oba substituenty R_1 v poloze 11 nejsou hydroxylová nebo alkoxy skupina nebo část, která může být hydrolyzována na hydroxylovou skupinu, jsou obecně vhodné pro použití ve způsobech a přípravcích podle předloženého vynálezu, např. jejich použití k zvýšení Th1 imunních

odpovědi subjektu. Způsoby podání a dávkování jsou v podstatě podle předloženého vynálezu.

Režim intermitentního dávkování

Je možno intermitentně podávat sloučeninu(y) obecného vzorce (1), např. BrEA nebo ester BrEA, subjektu bez vyvolání některých nežádoucích aspektů, které se běžně vyskytují při diskontinuálním dávkování. Tyto nežádoucí aspekty zahrnují vyvinutí rezistance patogenu (virus, např. HIV nebo parazit, např. *Plasmodium*) na terapeutické agens nebo selhání pacienta nebo subjektu dodržet dávkovací režim. Režimy intermitentního dávkování zahrnují podání sloučeniny obecného vzorce (1), např. perorálně, místně nebo parenterálně, následujícím způsobem: (1) podávání po dobu 3 až 20 dnů, (2) vysazení dávek sloučeniny obecného vzorce (1) dávkování po dobu 4 až 20 dnů, (3) dávkování po dobu 4 až 20 dnů a (4) případně opakování režimu dávkování 1x, 2x, 3x, 4x, 5x, 6x, 10x, 15x, 20x, 30x nebo vícekrát. Často bude dávkování podle kroků (1) a (3) zachováno po dobu 3-15 dnů, obvykle po dobu 3-5 dnů. Obecně budou výše uvedené režimy dávkování podle kroků (1)-(3) opakovány alespoň 1x, typicky 2x, 3x, 4x, 5x nebo 6x. Při infekcích, které mají tendenci se vyvinout v chronická onemocnění, např. HIV, HCV nebo jiná chronická virová onemocnění nebo infekce parazity, je režim intermitentního dávkování typicky zachován po relativně dlouhou dobu, např. po dobu alespoň 6 měsíců až 5 let.

Při těchto režimech intermitentního dávkování může být sloučenina(y) obecného vzorce (1) podávána jakýmkoliv vhodným způsobem, např. intramuskulárně (i.m. nebo I.M.), subkutánně (s.c. nebo S.C.), intravenózně (i.v. nebo I.V.), intradermálně, jiným parenterálním způsobem, ve formě aerosoli v množství 0,1 až 10 mg/kg denně, obvykle 0,2-4 mg/kg denně. Nebo lze podávat sloučeninu(y) obecného vzorce (1) perorálně v množství 4 až 40 mg/kg denně, obvykle 6-20 mg/kg denně. V některých provedeních jsou ze způsobů intermitentního dávkování vyloučeny ty dávkovací režimy, které jsou běžně používány k dodání kontraceptivních steroidů, např. ženám, např. denní dávkování po dobu 21 dnů a poté vysazení dávkování po dobu 7 dnů. Obecně bezvodé formulace podle předloženého vynálezu, které obsahují sloučeninu(y) obecného vzorce (1), podávány i.m. nebo s.c., zatímco vodné formulace, které obsahují sloučeninu(y) obecného vzorce (1) jsou podávány i.v., s.c. nebo jinými parenterálními způsoby. Denní dávky mohou být

podávány jako jednorázová dávka, zejména při parenterálních dávkách, nebo dávka může být rozdělena na dvě, tři nebo čtyři menší dávky, obvykle dvě, zejména při perorálním dávkování.

Názorná provedení zahrnují (a) podání sloučenin(y) obecného vzorce (1), např. BrEA nebo esteru nebo karbonátu BrEA, jednoukrát každý druhý den po dobu 20 dnů, poté (b) vysazení dávek po dobu 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 nebo více dnů, pak (c) podávání sloučenin(y) obecného vzorce (1) alespoň ještě jednou v jednom dni, např. podávání sloučenin(y) obecného vzorce (1) jednou každý druhý den po dobu 20 dnů a (d) případně opakování bodů (a), (b) a (c) 1x, 2x, 3x, 4x, 5x nebo 6x nebo vícekrát. Do podskupiny těchto provedení patří (a) podání sloučenin(y) obecného vzorce (1), např. BrEA nebo esteru nebo karbonátu BrEA, jednou každý druhý den po dobu 20 dnů, poté (b) vysazení dávek po dobu 10-40 dnů, pak (c) podávání sloučenin(y) obecného vzorce (1) alespoň ještě jednou v jednom dni, např. podávání sloučenin(y) obecného vzorce (1) jednou každý druhý den po dobu 20 dnů a (d) případně opakování bodů (a), (b) a (c) 1x, 2x, 3x, 4x, 5x nebo 6x nebo vícekrát. V kterémkoliv z těchto provedení lze podávat sloučeninu(y) obecného vzorce (1) ve 2 nebo 3 subdávkách denně.

Další provedení zahrnují (a) podávání sloučenin(y) obecného vzorce (1), např. BrEA nebo esteru nebo karbonátu BrEA, jednou každý druhý den po dobu 8-12 dnů, poté (b) vysazení dávek po dobu 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 nebo více dnů, pak (c) podávání sloučenin(y) obecného vzorce (1) alespoň ještě jednou v jednom dni, např. podávání sloučenin(y) obecného vzorce (1) jednou každý druhý den po dobu 8-12 dnů a (d) případně opakování bodů (a), (b) a (c) 1x, 2x, 3x, 4x, 5x nebo 6x nebo vícekrát. Do podskupiny těchto provedení patří (a) podání sloučenin(y) obecného vzorce (1), např. BrEA nebo esteru nebo karbonátu BrEA, jednou každý druhý den po dobu 10 dnů, poté (b) vysazení dávek po dobu 10-40 dnů, pak (c) podání sloučenin(y) obecného vzorce (1) alespoň ještě jednou v jednom dni, např. podávání sloučenin(y) obecného vzorce (1) jednou každý druhý den po dobu 10 dnů a (d) případně opakování kroků (a), (b) a (c) 1x, 2x, 3x, 4x, 5x nebo 6x nebo vícekrát. V kterémkoliv z těchto provedení lze podávat sloučeninu(y) obecného vzorce (1) ve 2 nebo 3 subdávkách denně.

V rámci jednoho aspektu režimu intermitentního dávkování podle předloženého vynálezu jsou monitorovány odpovědi subjektu na dávky. Například při podávání dávek subjektu, který trpí virovou infekcí (např. HCV, HIV, SIV, SHIV), lze také měřit odpovědi (zpětné reakce) subjektu nebo patogenu, např. zlepšení jednoho nebo více symptomů nebo

změnu v infekčních částicích nebo virové RNA v séru. Jakmile je zjištěna odezva, může dávkování pokračovat po další jeden, dva nebo tři další dny, poté následuje přerušení dávkování po dobu alespoň jednoho dne (alespoň 24 hodin), obvykle po dobu alespoň dvou nebo tří dnů. Jakmile jsou zjištěny známky poklesu odpovědi subjektu (zpětných reakcí) (např. začne se zvyšovat virová RNA v séru), může být dávkování opět nasazeno. Vztah odpovědi subjektu na sloučeninu(y) obecného vzorce (1) je takový, že subjekt může vykazovat měřitelnou odezvu v krátké době, obvykle 5-10 dnů, která umožňuje přímé sledování odpovědi subjektu, např. monitorováním protivirových titrů v periferních bílých krvinkách nebo měřením hladiny nukleových kyselin viru v krvi. Lze také monitorovat jednu nebo více podskupin imunitních buněk, např. NK, LAK, dendritické buňky nebo buňky, které zprostředkovávají ADCC imunitní odpovědi, během a po intermitentním dávkování kvůli monitorování odpovědi subjektu a určení, kdy je indikována další aplikace sloučeniny obecného vzorce (1). Tyto podskupiny buněk jsou monitorovány podle zde popsaného způsobu, např. průtokovou cytometrií.

U kterékoliv metody ošetření nebo způsobu podle předloženého vynálezu mohou prodloužené příznivé účinky nebo prodloužené imunitní odpovědi vyplývat z jednorázového podání nebo několikadenního podávání sloučeniny obecného vzorce (1) režimem intermitentního dávkování. Jednorázové dávkování znamená, že sloučenina obecného vzorce (1) je podána subjektu v jedné, dvou, tří nebo více dávek v průběhu 24 hodin a další podávání je přerušeno na dobu alespoň 45 dnů až 2 měsíců, např. po dobu 3, 4, 5, 6 nebo více měsíců. Prodloužené příznivé účinky nebo imunitní odpovědi mohou také přetrvávat i po krátkém průběhu ošetření (např. denní dávkování 2, 3, 4, 5 nebo 6 dnů) a subjektu již za v krátké době není podávána jakákoliv sloučenina obecného vzorce (1) nebo v některých případech neprobíhá jakékoliv terapeutické ošetření za účelem léčení základní příčiny patologického stavu subjektu. Tyto příznivé účinky mohou setrvávat po dobu více než 5-30 dnů.

V některých případech byly zjištěny příznivé účinky ošetření i 3 měsíce (4 nebo 5 měsíců) po krátkém průběhu ošetření subjektu sloučeninou obecného vzorce (1). Tudíž podání sloučeniny obecného vzorce (1) poskytuje způsob účinné ochrany subjektu proti progresi infekce nebo proti nepříznivým následkům nežádoucích imunitních reakcí (např. zánětu) nebo proti imunosupresi (z infekce, chemoterapie, atd.) bez jakéhokoliv podávání sloučeniny obecného vzorce (1) po dobu alespoň 3 měsíců po prvotním režimu dávkování,

které může být intermitentní nebo kontinuální po dobu např. 1 dne až 4 měsíců (1-15 dnů, 1 měsíc, 2 měsíce, atd.)

Techniky syntézy

Činidla a reakční podmínky, které je možnou používat k přípravě sloučenin obecného vzorce (1) byly popsány např. ve výše uvedených citacích, patentech US č. 5874598, 5874597, 5874594, 5840900; PCT přihláškách vynálezu č. WO 9901579. Obecné způsoby chemické syntézy k spojení různých organických částí na různé reaktivní skupiny byly také již popsány. Například v G. T. Hermanson, *Bioconjugate Techniques*, Academic Press, 1996, funkční cílové skupiny, např. aminokyseliny, peptidy a karbohydráty jsou popsány na stranách 3-136, zatímco chemie reaktivních skupin ve funkčních cílových skupinách, např. amin, thiolová, karboxylová, hydroxylová skupina, aldehyd, keton a reaktivní atomy vodíku (např. atom vodíku připojený na elektron-donorovou část, např. heteroarylovou část) jsou popsány na stranách 137-166. V těchto odkazech jsou také popsány činidla, který jsou použitelná k přípravě těchto derivátů, např. zesíťování o nulové délce, heterobifunkční zesíťovadla, homobifunkční zesíťovadla, tagy, sondy a polymery jsou popsány na stranách 169-416 a 605-638. Na stranách 639-671 jsou také popsány syntetické techniky modifikace oligonukleotidů.

V rámci jednoho aspektu jsou aminokyseliny nebo peptidy připojeny na steroid přes aminovou skupinu pomocí kondenzačního činidla, např. fosgenu (Cl-CO-Cl) nebo Cl-CS-Cl a vhodně chráněných aminokyselin nebo peptidů a steroidů, které jsou podle potřeby chráněné. Tyto vazby jsou vytvořeny vmezežením -CO-O- nebo -CS-O- části mezi aminokyselinu nebo peptid a steroidní jádro.

Příkladná schémata syntéz

Zde jsou uvedeny názorné příklady způsobů přípravy jedné nebo více sloučenin podle předloženého vynálezu, které nemají nikterak limitovat rozsah vynálezu. Výchozí látky a přímě obměny schémat mohou být nalezeny např. v následujících textech, které jsou zde uvedeny jako odkaz: A. P. Davis, *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 33: 5111-5112, 1992; I. Takashi, *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.*, 34: 1929-1933, 1986; I. Weisz, *et al.*, *Arch. Pharm.*, 319: 952-953, 1986; T. Watabe, *et al.*, *J. Med. Chem.*, 13: 311-312, 1970; M. Davis, *et al.*,

J. Chem. Soc. C., (11): 1045-1052, 1967; R. C. Cambie, *et al.*, *J. Chem. Soc.*, Perkin Trans. 1, (20): 2250-2257, 1977; L. Minale, *et al.*, *J. Chem. Soc.*, Perkin Trans. 1, (20): 2380-2384, 1974; C. K. Lai, *et al.*, *Steroids*, 42: 707-711, 1983; S. Irie, *et al.*, *Synthesis*, (9): 1135-1138, 1996; E. J. Corey, *J. Am. Chem. Soc.*, 118: 8765-8766, 1996; M. E. Annunziato, *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, 4: 212-218, 1993; N. J. Cussans, *et al.*, *J. Chem. Soc.*, Perkin Trans. 1, (8): 1650-1653, 1980; D. H. R. Barton, *et al.*, *J. Chem. Soc.*, *Chem. Commun.*, (9): 393-394, 1978; H. Loibner, *et al.*, *Helv. Chim. Acta*, 59: 2100-2113, 1976; T. R. Kasturi, *et al.*, *Proc. Indian Acad. Sci.*, [Ser.]: *Chem. Sci.*, 90: 281-290, 1981; T. Back, *J. Org. Chem.*, 46: 1442-1446, 1981; A. Canovas, *et al.*, *Helv. Chim. Acta*, 63: 486-487, 1980; R. J. Chorvat, *et al.*, *J. Org. Chem.*, 43: 966-972, 1978; M. Gumulka, *et al.*, *Can. J. Chem.*, 63: 766-772, 1985; H. Suginome, *et al.*, *J. Org. Chem.*, 55: 2170-2176, 1990; C. R. Engel, *et al.*, *Can. Heterocycles*, 28: 905-922, 1989; H. Sugimone, *et al.*, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 62: 193-197, 1989; V. S. Salvi, *et al.*, *Can. Steroids*, 48: 47-53, 1986; C. R. Engel, *et al.*, *Can. Steroids*, 47: 381-399, 1986; H. Suginome, *et al.*, *Chem. Lett.*, (5): 783-786, 1987; T. Iwadare, *et al.*, *J. Chem. Soc.*, *Chem. Commun.*, (11): 705-706, 1985; H. Nagano, *et al.*, *J. Chem. Soc.*, *Chem. Commun.*, (10): ; 656-657, 1985; V. S. Salvi, *et al.*, *Steroids*, 27 : 717-725, 1976; C. H. Engel, *et al.*, *Steroids*, 25: 781-790, 1975; M. Gobbin, *et al.*, *Steroids*, 61: 572-582, 1996; A. G. Gonzalez, *et al.*, *Tetrahedron*, 46: 1923-1930, 1990; S. C. Bobzin, *et al.*, *J. Org. Chem.*, 54: 3902-3907, 1989; B. Solaja, *et al.*, *Croat. Chem. Acta*, 59: 1-17, 1986; Y. Kashman, *et al.*, *Tetrahedron*, 27: 3437-3445, 1971; K. Yoshida, *et al.*, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 15: 1966-1978, 1967; P. B. Sollman, *et al.*, *Chem. Commun.* (11): 552-554, 1967; H. Suginome, *et al.*, *J. Org. Chem.*, 55: 2170-2176, 1990; H. Suginome, *et al.*, *Journal Chem. Lett.*, (5): 783-786, 1987; G. A. Tolstikov, *et al.*, *Zh. Org. Khim.*, 22: 121-132, 1986; T. Terasawa, *et al.*, *J. Chem. Soc.*, Perkin Trans. 1, (4): 990-1003, 1979; Z. Zhuang, *et al.*, *Yongi Huaxue*, (4): 281-285, 1986; W. T. Smith, *et al.*, *Trans. Ky. Acad. Sci.*, 45: 76-77, 1984; A. K. Batta, *et al.*, *Steroids*, 64: 780-784, 1999; B. Ruan, *et al.*, *Steroids*, 65: 29-39, 2000; L. Garrido, *et al.*, *Steroids*, 65 : 85-88, 2000; P. Ramesh, *et al.*, *Steroids*, 64: 785-789, 1999; M. Numazawa, *et al.*, *Steroids*, 64: 187-196, 1999; P. N. Rao, *et al.*, *Steroids*, 64: 205-212, 1999; M. Numazawa, *et al.*, *Steroids*, 64: 320-327, 1999; patenty US č. 3281431, 3301872, 3325535, 3325536, 3952018, 4602008, 5571795, 5627270, 5681964, 5744453; mezinárodní přihláška vynálezu zveřejněná pod č. WO 9408588, WO 9508558, WO 9508559, WO 9638466, WO 9809450; britské patenty GB č. 1168227, GB 813529, GB 802618; francouzský patent č.

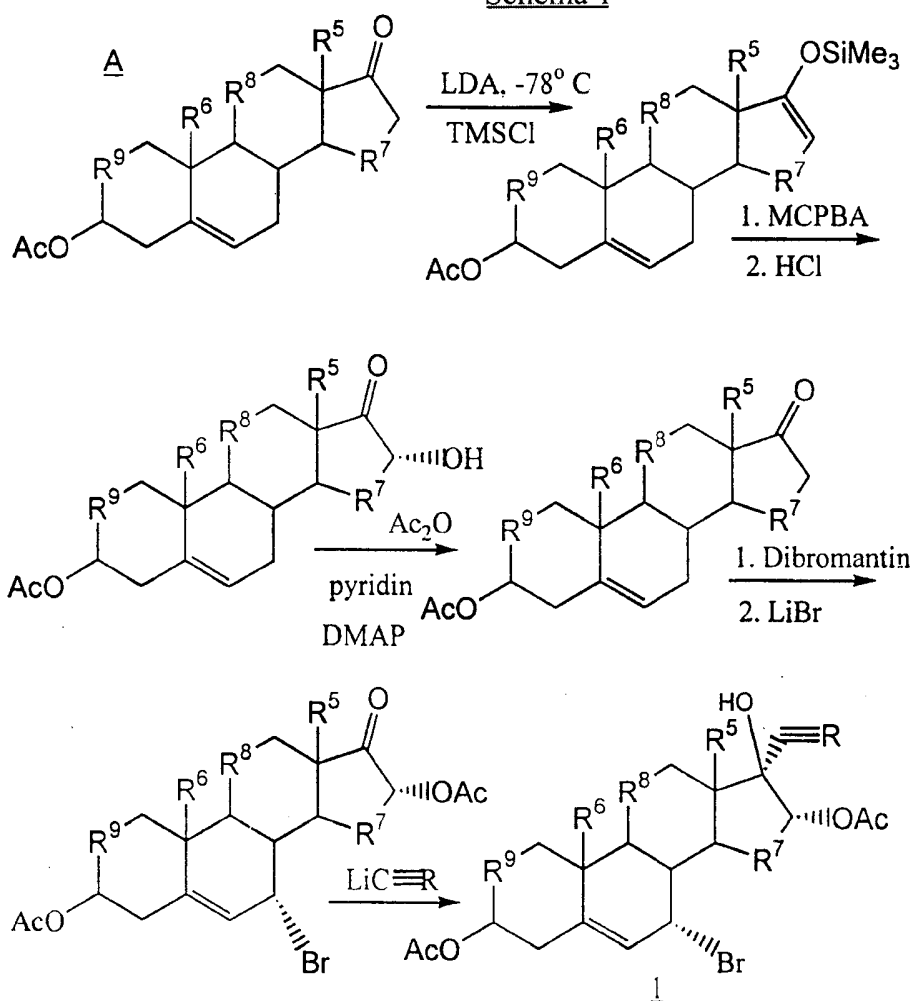
824529; japonský patent JP č. 45010134; evropské patenty č. EP 232788, EP 430078; a německé patent č. DE 19631189.

Schéma 1

Ve strukturách uvedených na schématu 1 jsou substituenty R^5 - R^9 definovány jako u sloučenin obecného vzorce (1). Tudíž, pokud jsou substituenty R^5 a R^6 oba $-\text{CH}_3$ v β -konfiguraci, pak jsou substituenty R^7 , R^8 a R^9 všechny $-\text{CH}_2-$, atomy vodíku v polohách 9 a 14 jsou v α -konfiguraci, acetát v poloze 3 je v β -konfiguraci a atom vodíku v poloze 8 je v β -konfiguraci, první sloučenina ve schématu 1 je acetát DHEA. Acetátové skupiny v polohách 3, 7, 16, 17 nebo v jiných polohách v tomto schématu a v jiných schématech, které jsou zde uvedeny, mohou být nezávisle další esterové části, které jsou zde popsány, např. C_{2-50} estery včetně $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_{0-4}-(\text{CF}_2)_{0-4}-\text{CF}_3$, včetně $-\text{C}(\text{O})-\text{CF}_3$, $-\text{C}(\text{O})-\text{C}_{2-29}$ případně substituované alkylové skupiny, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{C}_{2-28}$ případně substituované alkenylové skupiny, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{C}_{2-28}$ případně substituované alkynylové skupiny, $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_{0-6}$ případně substituované fenylové skupiny nebo $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_{0-6}$ případně substituované heterocyklické skupiny nebo jiné organické části, které jsou popsány v předloženém vynálezu nebo v citovaných odkazech.

Typické substituenty pro tyto organické části jsou zde popsány, včetně jedné, dvou, tří nebo více skupin nezávisle vybraných z $-\text{O}-$, $=\text{O}$, případně chráněné hydroxylové skupiny, $-\text{S}-$, případně chráněné thiolové skupiny, $-\text{NH}-$, případně chráněné $-\text{NH}_2$ skupiny, případně chráněné $-\text{C}(\text{O})\text{OH}-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$, $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}_2$, $-\text{NH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{C}_{0-4}\text{H}_{1-9}$, $-\text{NH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{C}_{0-4}\text{H}_{1-9}$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{N}_3$ nebo halogenu. Reaktivní skupiny jsou chráněny podle potřeby, např. $=\text{O}$ může být běžně chráněno reakcí s LiCR , která je používána k přípravě sloučeniny 1 ve schématu 1 níže.

Schéma 1



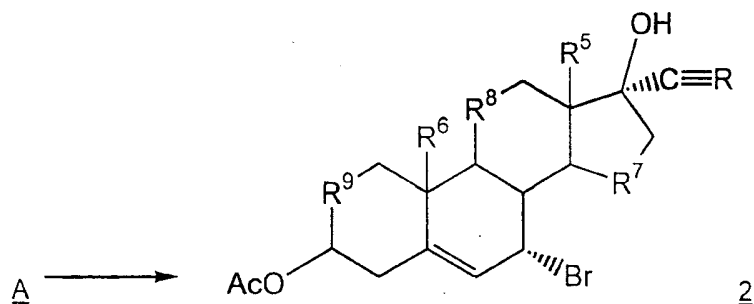
Použité zkratky:

LDA = lithium-diizopropylamid; MCPBA = *m*-chlorperbenzoová kyselina; TMSCl = trimethylchlorsilan; DMAP = 4-dimethylaminopyridin; Dibromantin = 1,3-dibrom-4,4-dimethylhydantoin.

$R = \text{CR}^A$; R^A = atom vodíku nebo C_{1-50} organická část, která je zde popsána, např. atom vodíku, $-\text{C}_{1-20}$ případně substituovaná alkylová skupina, $-\text{C}_{1-20}$ případně substituovaná alkenylová skupina, $-\text{C}_{1-20}$ případně substituovaná alkynylová skupina, $-(\text{CH}_2)_{0-6}$ případně substituovaná fenylová skupina nebo $-(\text{CH}_2)_{0-6}$ případně substituovaná heterocyklická část.

Schéma 2

Sloučeniny obecného vzorce 2 jsou připraveny ze sloučeniny majících obecnou strukturu A uvedenou na schématu 1 pomocí posledních dvou kroků ze schématu 1: (1) dibromantin, (2) LiBr, (3) LiC-R, kde substituent R je CR^A a R^A je atom vodíku nebo $-C_{1-12}$ případně substituovaná alkylová skupina. Pokud jsou substituenty R^7 , R^8 a R^9 všechny $-CH_2-$, atom vodíku v polohách 9 a 14 je v α -konfiguraci a atom vodíku v poloze 8 je v β -konfiguraci, první sloučenina ve schématu 1 je acetát DHEA. Typické substituenty pro R^A alkylové části zahrnují jednu, dvě nebo více skupiny nezávisle vybraných z $-O-$, případně chráněné skupiny $=O$, případně chráněné hydroxylové skupiny, $-S-$, případně chráněné thiolové skupiny, $-NH-$, případně chráněné $-NH_2$ skupiny, případně chráněné $-C(O)OH$, $C(O)-NH-$, $-C(O)-NH_2$, $-NH_2-C(O)-C_{0-4}H_{1-9}$, $-NH_2-C(O)-O-C_{0-4}H_{1-9}$, $-CN$, $-NO_2$, $-N_3$ nebo halogenu.

Schéma 2**Schéma 3**

Allylbromace v poloze C-7 je provedena podle schématu 1. Substituenty R a R^A jsou definovány ve schématech 1 a 2.

Schéma 3

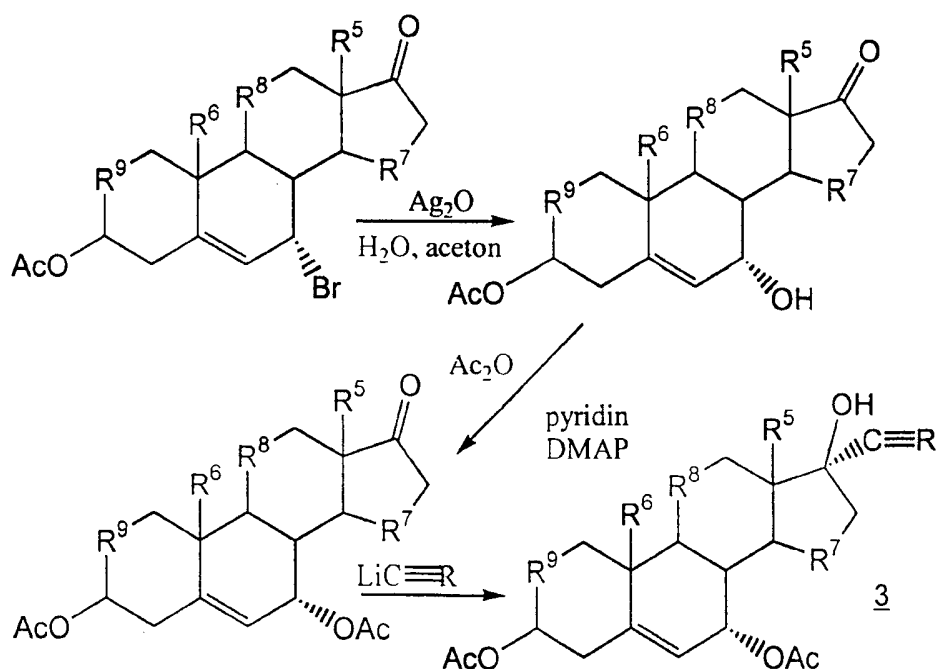


Schéma 4

Přidání lithného činidla (lithium-acetylid, kdy R je $-\text{CH}$) do polohy 17 $>\text{C}=\text{O}$ za přítomnosti bromidu v poloze 16 vede ke vzniku epoxidu nebo pinakolového přesmyku. Alternativně mohou být sloučeniny nemají strukturu **3** dehydratovány jemnou kyselou katalýzou za vzniku sloučeniny obecného vzorce **4** reakcí alkenů s Br_2 , H_2O . Substituenty R a R^A jsou definovány ve schématech 1 a 2.

Schéma 4

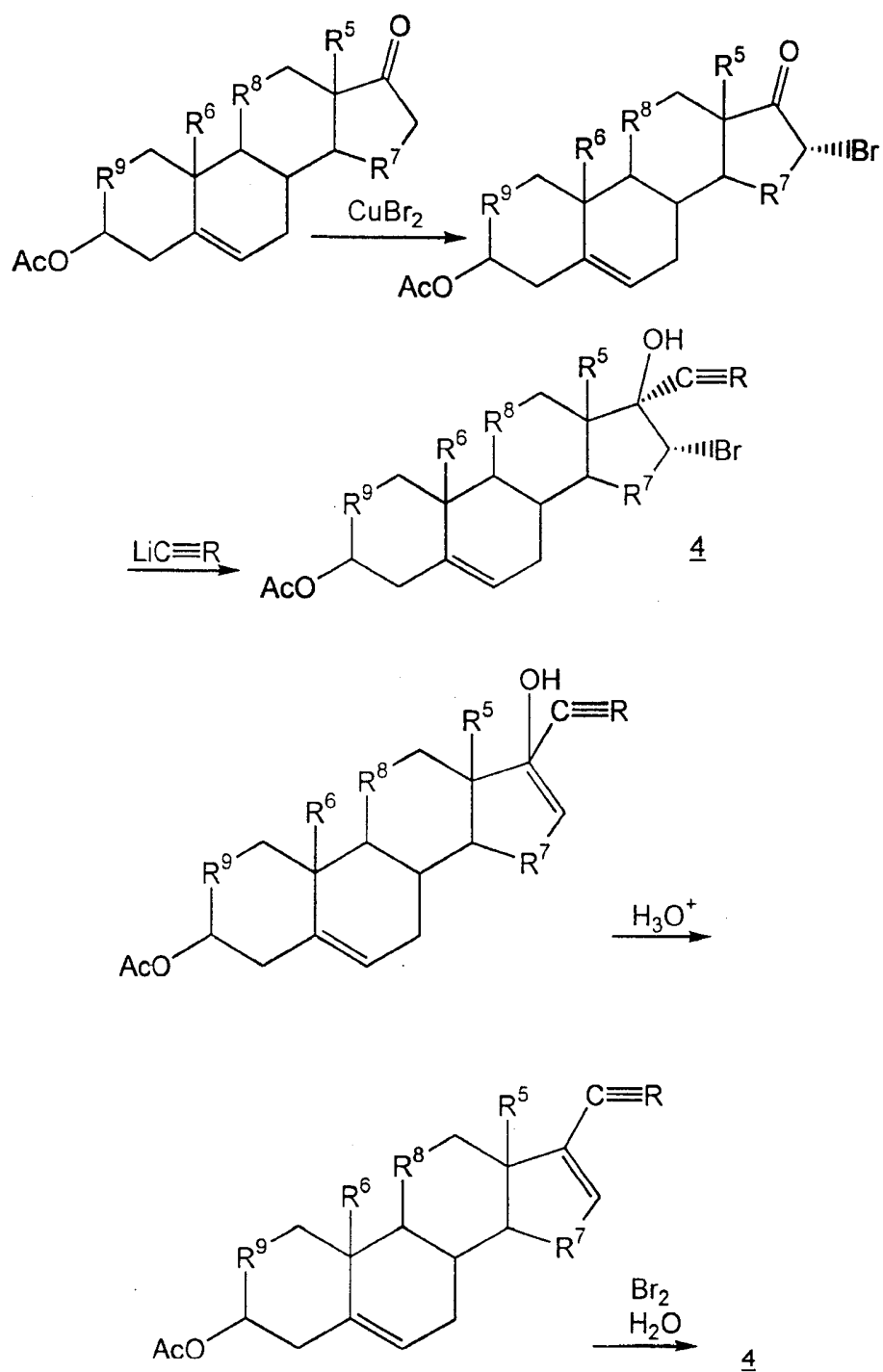


Schéma 5

Borohydrid sodný poskytne směs epimerů v poloze C-7, které mohou být separovány standardními metodami, např. HPLC, TLC nebo sloupcovou chromatografií.

K získání čisté 7α -OH sloučeniny je provedena allylbromace a hydrolyzá podle schématu 1 a 3.

Schéma 5

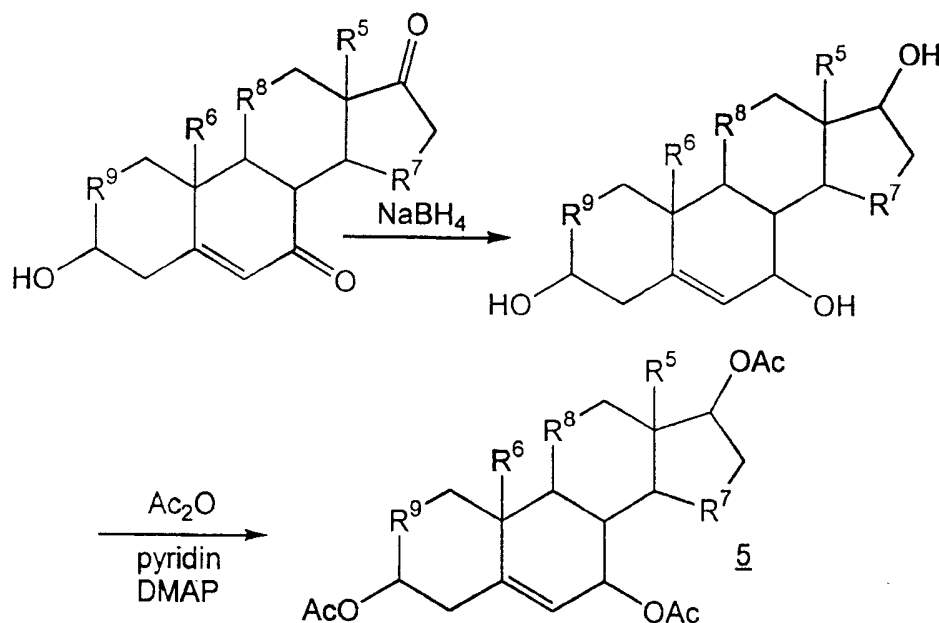


Schéma 6

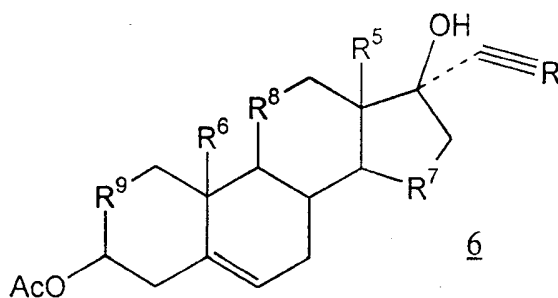
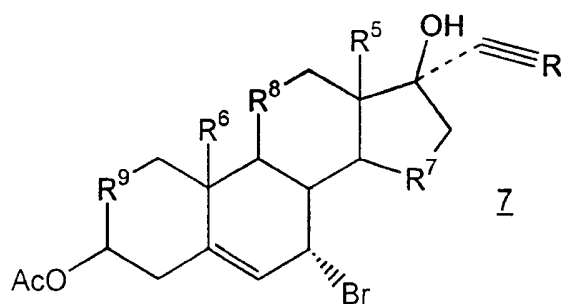


Schéma 6

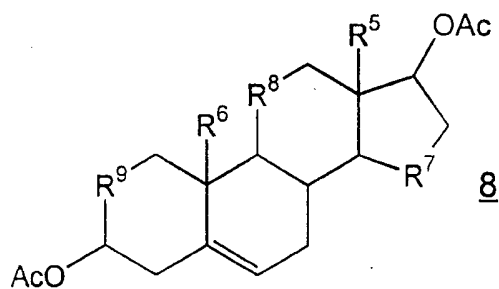
Sloučeniny obecného vzorce 6 jsou připraveny reakcí acetátu s lithiium-acetylidem, jak je uvedeno ve schématech 1, 2, 3 nebo 4. Substituenty R a R^A jsou definovány ve schématech 1 a 2.

Schéma 7

Sloučeniny obecného vzorce 7 jsou připraveny reakcí 3-acetátu s činidly, jak je uvedeno ve schématech 1 a 4. Substituenty R a R^A jsou definovány ve schématech 1 a 2.

Schéma 7**Schéma 8**

Sloučeniny obecného vzorce 8 jsou připraveny ze sloučenin obecného vzorce A redukcí v poloze 17 borohydridem sodným a následnou acetylací.

Schéma 8**Schéma 9**

Výchozí látka je připravena reakcemi, které jsou popsány ve schématech 1 a 3.

Schéma 9

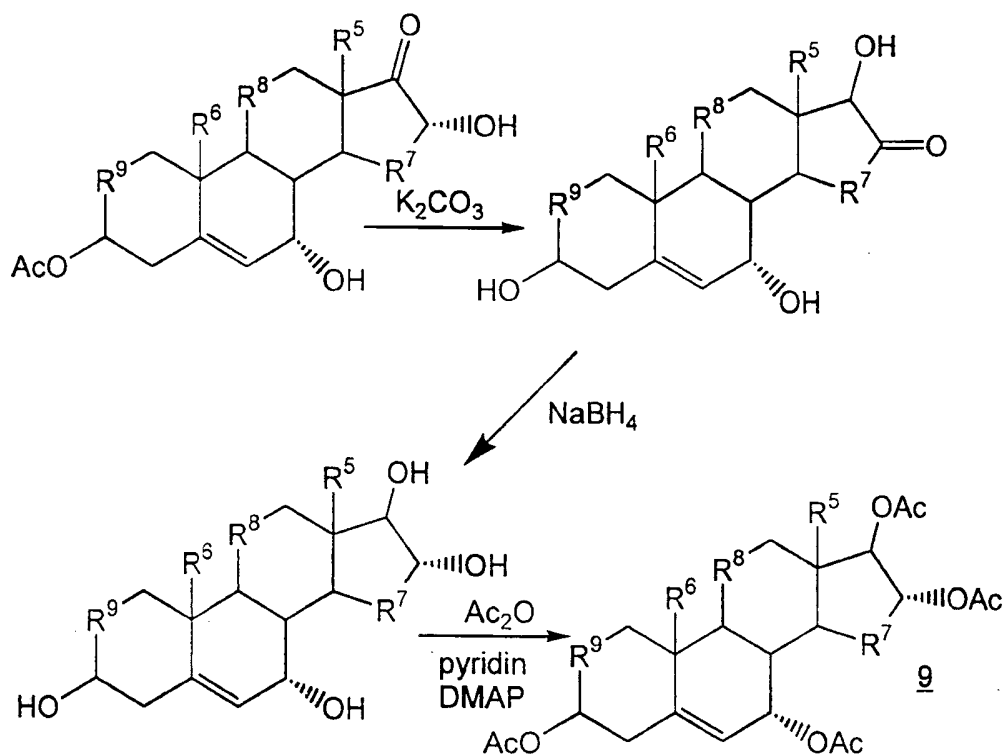
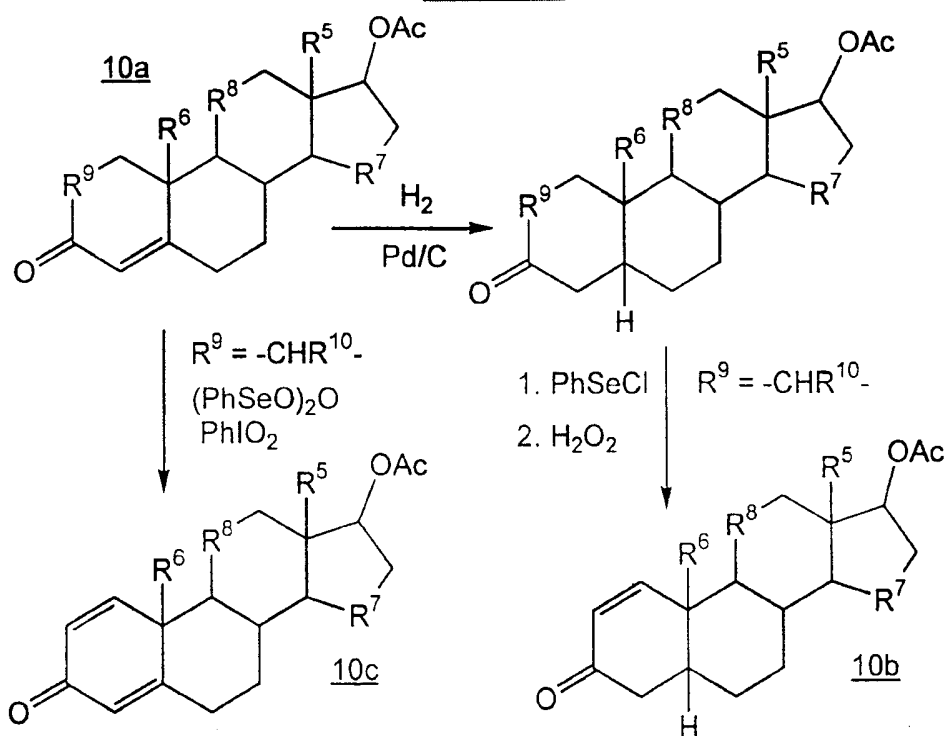


Schéma 10

Redukce a acetylace v poloze 3 a hydrolýza a oxidace v poloze 17 umožňují sloučeninám vzorce (1)0a a 10b se podrobit funkcionalizaci, která je uvedena ve schématech 1-9, v polohách C-3, C-16 a C-17. 7-Oxo-acetát může být substituován za 3-acetát sloučeniny obecného vzorce A a funkcionalizace v polohách C-3, C-16 a C-17 může být provedena podobným způsobem jako u 7-oxo sloučenin reakcemi uvedenými ve schématech 1-9.

Reakce sloučeniny 10a s LDA a alkylace enolátu umožňuje zavedení postranních řetězců, např. substituent R^{10} , který může být např. $\text{C}_1\text{-C}_{20}$ alkylová skupina (methyl, ethyl), $\text{C}_1\text{-C}_{20}$ alkenylová skupina ($\text{CH}_2=\text{CH}-(\text{CH}_2)_{0-6}-$), benzylová skupina, $-(\text{CH}_2)_{1-4}\text{-O}-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{-CH}_3$.

Schéma 10



Schéματα 1-9 ukazují zavedení hydroxylové funkce do uvedených poloh. Způsoby přeměny hydroxylové skupiny na jiné funkční skupiny jsou v podstatě provedeny podle zde popsaných způsobů, např. v citovaných odkazech. Například estery, sloučeniny 1-10c, např. -O-C(O)-R^B, kde substituent R^B je C₁₋₅₀ organická část, jsou připraveny z alkoholu steroidu reakcí s příslušným anhydridem kyseliny nebo chloridem kyseliny (R^B-C(O)-Cl) za vzniku jakéhokoliv požadovaného esteru. Etery, např. -O-R^B, jsou připraveny z alkoholů tvorbou alkoxidu alkalického kovu (Na⁺ nebo K⁺), poté reakcí s primárním nebo sekundárním jodidem (R^B-I). Thionoestery, R^B-C(S)-O-, jsou připraveny reakcí R^B-C(O)O-esteru s Lawessonovým činidlem. Sulfáty, NaO-S(O)(O)-O-, R^B-O-S(O)(O)-O-, např. CH₃(CH₂)₀₋₁₈-S(O)(O)-O-, jsou připraveny reakcí alkoholů s chlorsulfonovou kyselinou a NaOH nebo oxidací sulfitů pomocí KMnO₄. Pokud je požadován alkylový (např., methylový) ester může být používán alkylchlor-sulfonát (methylchlor-sulfonát). Sulfity HO-S(O)-O- a amonné soli NH₄ O-S(O)-O nebo R^B O-S(O)-O- estery (např., CH₃ O-S(O)-O-) jsou připraveny standardními způsoby. Amonné soli jsou připraveny reakcí alkoholů s amoniakem a oxidem siřičitým. Estery, např. alkyl, alkenyl a alkynylestery (např., methylester), jsou obdrženy z reakce alkoholů s alkylchlorsulfitem (např., methychlorosulfit), alkenylchlorsulfitem nebo alkynylchlorsulfitem za přítomnosti vhodné báze, např. triethylaminu. Fosfoestery, R^BO-P(OR^{PR})(O)-O-, jsou připraveny reakcí alkoholu s diethylchlorfosfátem za

přítomnosti Na_2CO_3 . Nebo pokud se alkohol nechá reagovat s diestery kyseliny fosforečné za přítomnosti trifenyfosfinu (PPh_3) a diethylazodikarboxylátu (DEAD), vzniknou odpovídající triestery s inverzí konfigurace (Mitsunobuova reakce).

Fosfthioestery, $\text{R}^{\text{B}}\text{O}-\text{P}(\text{SR}^{\text{PR}})(\text{O})-\text{O}-$, jsou obecně připraveny reakcí alkoholů s monothio-analogy diethylchlorfosfátu podle způsobu popsaného pro získání fosfthioesterů z fosfoesterů. Karbonáty, $\text{R}^{\text{B}}\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$, jsou obecně připraveny z odpovídajícího alkoholu steroidu použitím chlorformiátu ($\text{R}^{\text{B}}-\text{C}(\text{O})-\text{Cl}$), např., $\text{C}_{1-20}\text{alkyl}$, alkenyl nebo alkynylchlorformiátu (např. $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{0-5}-\text{C}(\text{O})\text{Cl}$). Karbamáty, $\text{R}^{\text{B}}-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$, jsou připraveny z alkoholů steroidu reakcí s izokyanáty ($\text{R}^{\text{B}}\text{N}=\text{C}=\text{O}$) nebo NaOCN za přítomnosti trifluoroctové kyseliny. Estery aminokyselin, $\text{ZNX}-\text{CHY}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$, jsou připraveny kopulací alkoholu steroidu s chloridem kyseliny *N*-chráněné aminokyseliny.

Oxidace hydroxylových skupin, které jsou připojeny na steroidní jádro, je používána k získání ketonů a souvisejících funkčních skupin. Například konverze alkoholu na ketony může být provedena pomocí různých oxidačních činidel, např. CrO_3 v AcOH nebo pyridinium-chloroformiát, pyridinium-dichromát nebo oxalylchlorid s triethylaminem (Swernova oxidace). Thioketony ($=\text{S}$) jsou připraveny reakcí ketonů s Lawessonovým činidlem (2,4-bis(4-methoxyfenyl)-1,3,2,4-dithiadifosfetan-2,4-disulfid; komerčně dostupným, Aldrich). Thioacetal, $-\text{C}(\text{SR}^{\text{B}})(\text{SR}^{\text{B}})-$, jsou připraveny z ketonů ($-\text{C}(\text{O})-$) reakcí s $\text{R}^{\text{B}}-\text{SH}$ thioly za podmínek kyselé katalýzy (např. HCl). Fosfonoestery, $\text{RO}-\text{P}(\text{OR}^{\text{PR}})(\text{O})-$, jsou připraveny adicí diesteru fosforečné kyseliny na ketony za přítomnosti KF , čímž vzniknou hydroxy-fosfonoestery. Je možno případně odstranit hydroxy skupinu dehydratací a hydrogenací.

Substituce hydroxylových skupin je používána k přípravě velkého množství funkčních skupin. Například thioly, $-\text{SH}$, jsou připraveny z alkoholů konverzí alkoholu s inverzí na bromid pomocí PBr_3 . Reakce bromidu s thiomocovinou a poté s NaOH poskytne thiol. Thioethery, $\text{R}^{\text{B}}-\text{S}-$, jsou připraveny z thiolů reakcí s NaOH a požadovaným halogenidem, např. alkylhalogenidem. Nebo mohou být alkoholové deriváty jako tosyláty nebo mesyláty odstraněny thiolátovými anionty, $\text{R}^{\text{B}}-\text{S}^-$, za vzniku thioetheru. Thioestery, $\text{R}-\text{C}(\text{O})-\text{S}-$, jsou připraveny reakcí tosylátu (mesylátu) alkoholu se sodnou solí thiokyseliny.

Substituce hydroxylových skupin může být používána k přípravě obou esterů, $\text{R}^{\text{B}}\text{O}-\text{C}(\text{O})-$, a amidů, $\text{NHR}^{\text{B}}-\text{C}(\text{O})-$, připojených na steroid přes uhlíkové atomy. V amidech a

aminech je substituent R^B atom vodíku, chránicí skupina nebo C_{1-50} organická část a jsou syntetizovány z bromidu steroidu za inverze vytěsněním pomocí NaCN. Kyanidová skupina může být hydrolyzována na amid nebo kyselinu. Kyselina je esterifikována nebo podrobena standardním peptidovým kondenzačním reakcím s *O*-chráněnou aminokyselinou za přítomnosti vhodného činidla aktivujícího hydroxylovou skupinu, např. dicyklohexylkarbodiimid (DCC) za vzniku steroid- $C(O)-NH-CHY-C(O)-OR$, kde Y je postranní řetězec aminokyseliny nebo C_1-C_{10} organická část a substituent R je chránicí skupina (nebo po odchránění atom vodíku).

Aminy a deriváty aminů, např. $R^B NH-$, $R^B-C(O)NH-$, $R^B OC(O)-NH-$ nebo $R^B O-C(O)-CHR^3-NH-$ připojené na atomy uhlíku steroidu, jsou typicky připraveny standardními způsoby. Například aminy (NH_2 -steroid) jsou obecně připraveny Hoffmannovým přesmykem (BR^2 , NaOH) z amidu ($NH_2-C(O)$ -steroid) nebo Curtiovým přesmykem (NaN_3) z chloridu kyseliny steroidu. Substituent R^B může být dále zaveden alkylací. Alkoholy steroidu mohou být používány jako výchozí látky pro standardní Mitsunobuovu reakci (PPh_3 , DEAD), čímž se získají *N*-Boc-sulfonamidy pomocí *N*-(*t*-butoxykarbonyl)-*p*-toluensulfonamidu. Lze také selektivně odstranit kteroukoliv chránicí skupinu. Reakcí s trifluoroctou kyselinou vznikne sulfonamid ($R^B-S(O)(O)-NH$ -steroid). Nebo je možno naftalenidem sodným odstranit chránicí skupinu za vzniku *N*-Boc-sloučeniny. Aminy (NH_2 -steroid) mohou být konvertovány amidy ($R^B NH-C(O)$ -steroid) pomocí acylchloridů ($R^B-C(O)-Cl$). Reakcí s ethylchlorformiátem vznikne *N*-karbamát ($R^B O-C(O)-NH$ -steroid). Amin (NH_2 -steroid) může být alkylován α -bromesterem ($R^B-C(O)-CHY-NH_2$), čímž se získá aminokyselinou substituovaný steroid ($R^B-O-C(O)-CHY-NH$ -steroid).

Tam, kde reakcemi, např. substitucí, vznikají směsi produktů, je požadovaný meziprodukt případně separován od další produktů nebo alespoň částečně obohacen (např. alespoň 10x obohacený, obvykle alespoň 50-100x) od jiných produktů před provedením dalších reakcí. Substituce na atomech uhlíku steroidu budou obecně provedeny s větší účinností v poloze 3, která je relativně stericky nebráněná, a v poloze C-17, která je obecně trochu méně přístupná než poloha C-3. Jednotlivé relativní reaktivity v polohách C-3, C-7, C-17 a C-16 umožňují řídit sekvenční zavedení různých funkčních skupin do jedné molekuly steroidu. Také skupiny, např. hydroxylová skupina v reaktivnějších polohách, C-3 nebo C-17, může být sekvenčně chráněna nebo odchráněna k možnému zavedení funkčních skupin v jiných polohách, např. C-7 nebo C-16.

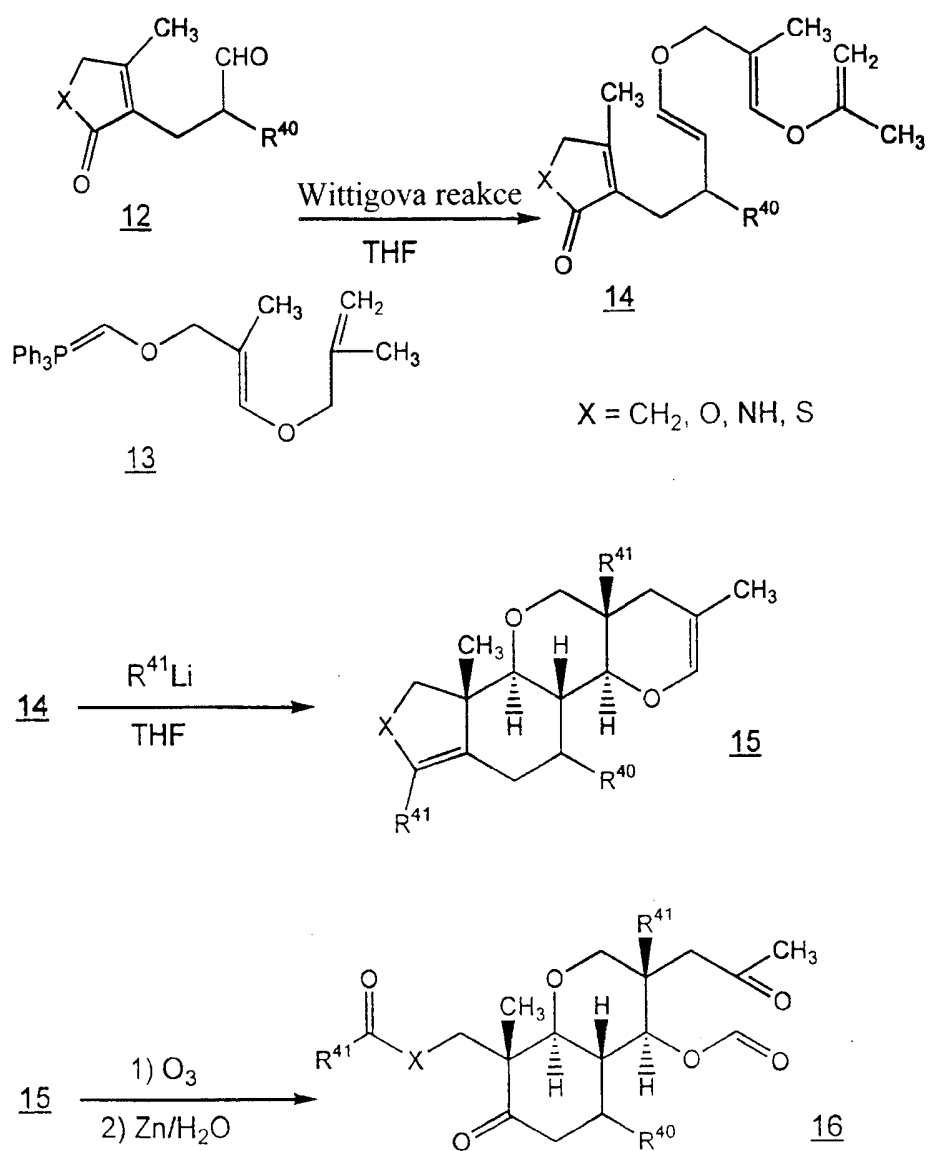
Polymery, např. PEG, jsou připojeny na sloučeniny způsobem popsáným výše. Například PEG 200 nebo PEG300 je připojen na steroid v polohách 3, 7, 16, 17 nebo v jiných polohách etherovou vazbou (PEG-O-steroid) pomocí PEG-alkoxidu (PEG-ONa) k odstranění bromidu steroidu. Nebo může být PEG-Br podroben reakci s alkoxidem steroidu. Estery polyethylenglykolu, např. popsané v patentu US č. 5681964, mohou být také připraveny pomocí vhodné sloučeniny obecného vzorce (1) a způsobů podle předloženého vynálezu. Monosacharidy nebo polysacharidy a oligonukleotidy jsou připojeny na hydroxylové skupiny steroidu standardními metodami, viz např. patent US č. 5627270.

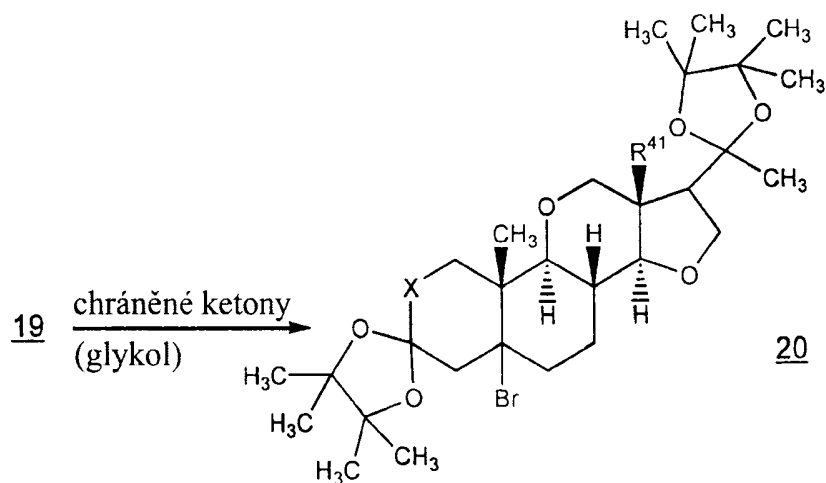
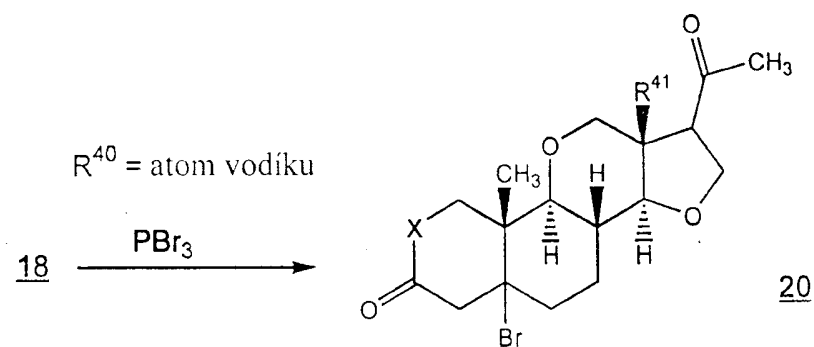
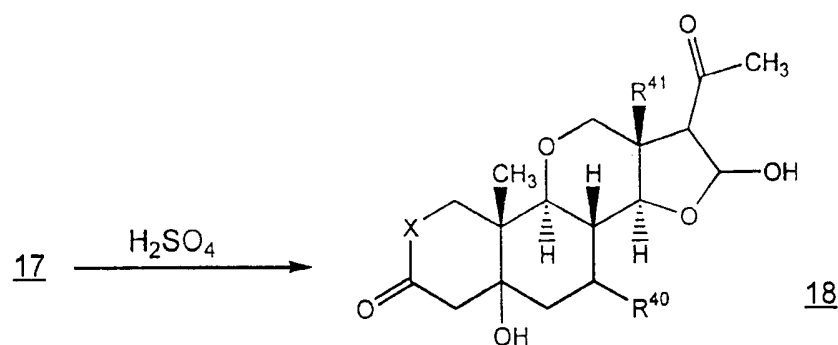
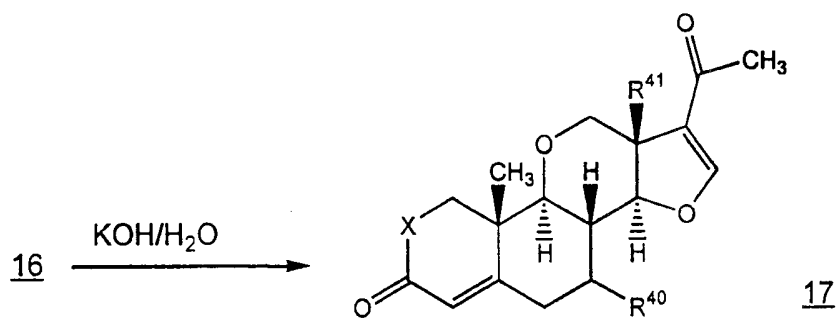
Analoga steroidu obecného vzorce (1), která obsahují jeden nebo více heteroatomů, jsou syntetizována podle následujících způsobů.

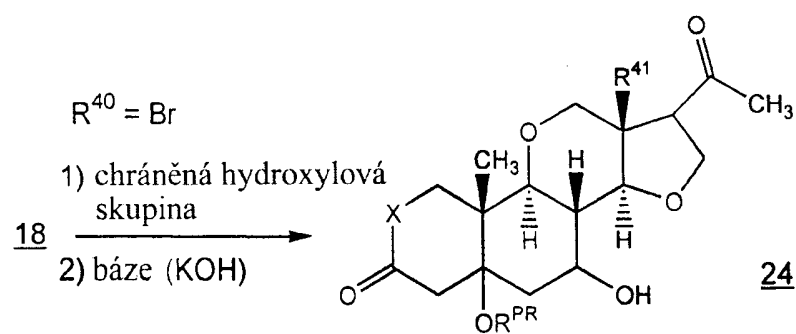
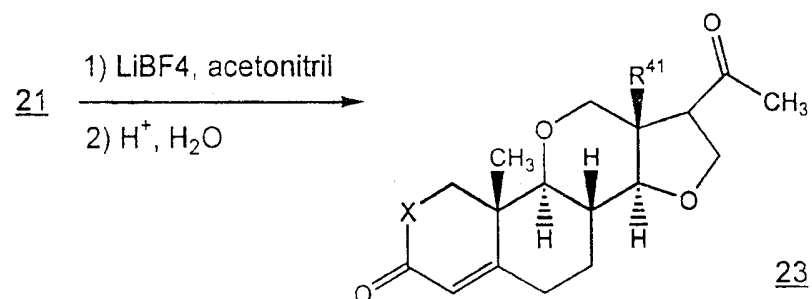
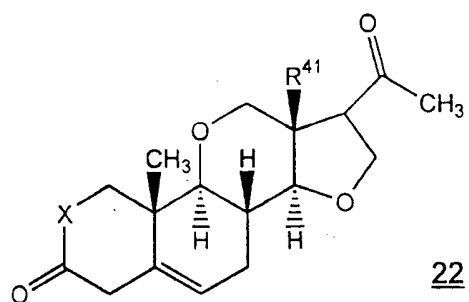
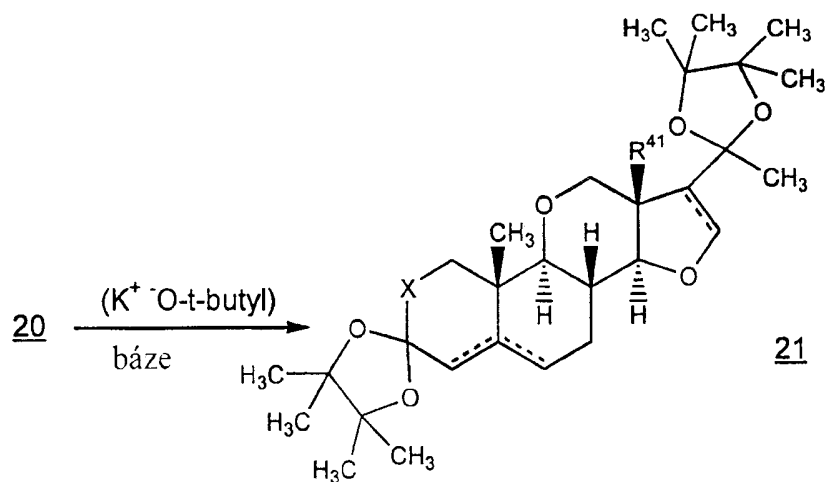
Schéma 11

Sloučeniny obecného vzorce (1) obsahující jeden nebo více heteroatomů v kruhu jsou připraveny podle způsobů uvedeného ve schématech. Ve schématu je X -CH₂-, -NH-, -O- nebo -S-; substituent R⁴⁰ je atom vodíku nebo -Br; substituent R⁴¹ je organická část mající 12 atomů uhlíku nebo méně, typicky C₁-C₈ případně substituovaná alkylová skupina (např., methyl, hydroxymethyl, ethyl, propyl) nebo C₂-C₈ případně substituovaná alkenylová skupina mající jednu dvojnou vazbu (např. vinyl) s 1, 2, 3 nebo více nezávisle vybranými substituenty (např. -OH, -COOH, -O-) a s jakýmkoliv substituenty, které obecně obsahují chráněnou funkční skupinu. Příprava sloučeniny 20 ze sloučeniny 19 je provedena za použití glykolu, např. HOC(CH₃)₂C(CH₃)₂OH v kyselině (H⁺) (B.H. Lipshutz *et al.*, *Synth. Commun.* 12: 267, 1982). Použití objemné chránicí skupiny podporuje vytvoření dvojné vazby spíše v poloze 5-6 než v poloze 4-5.

Schéma 11







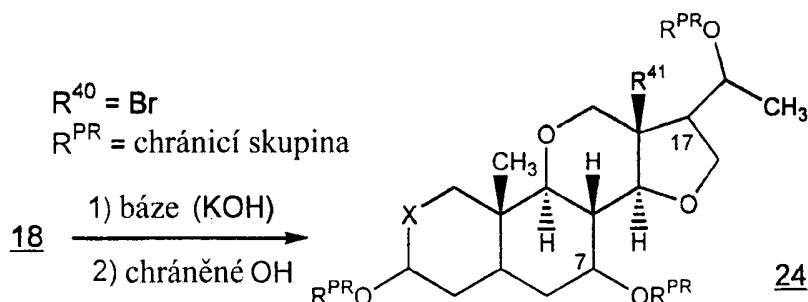
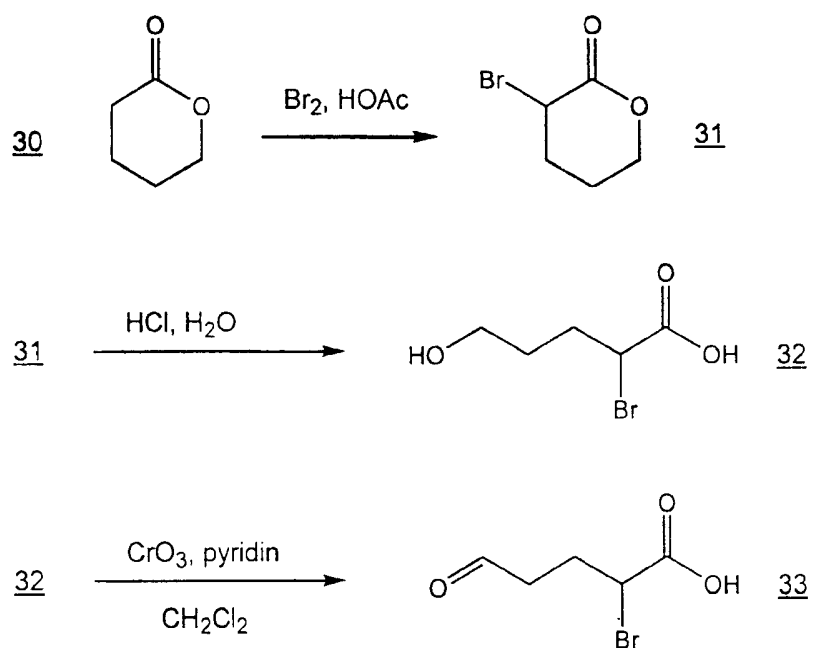
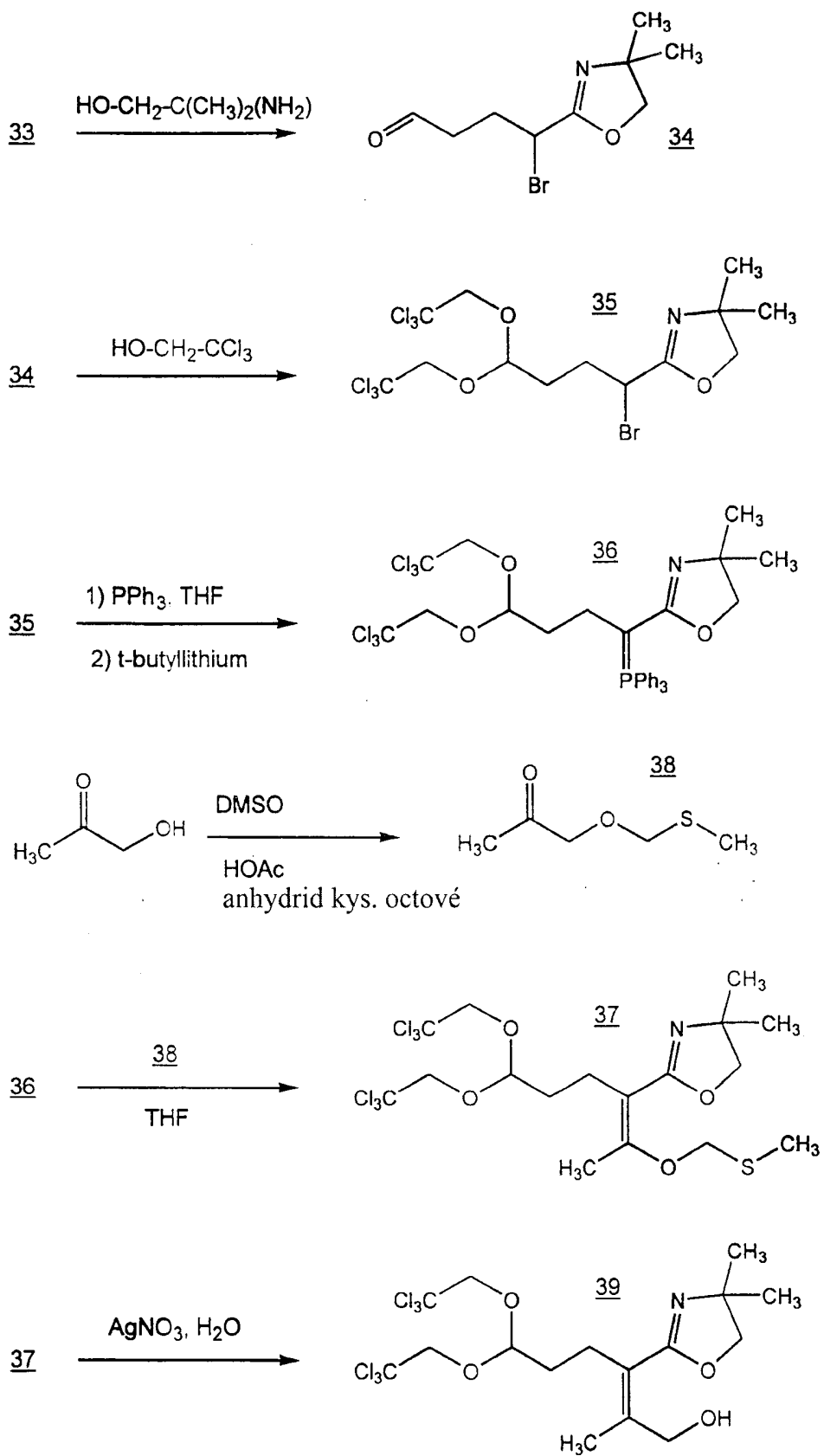
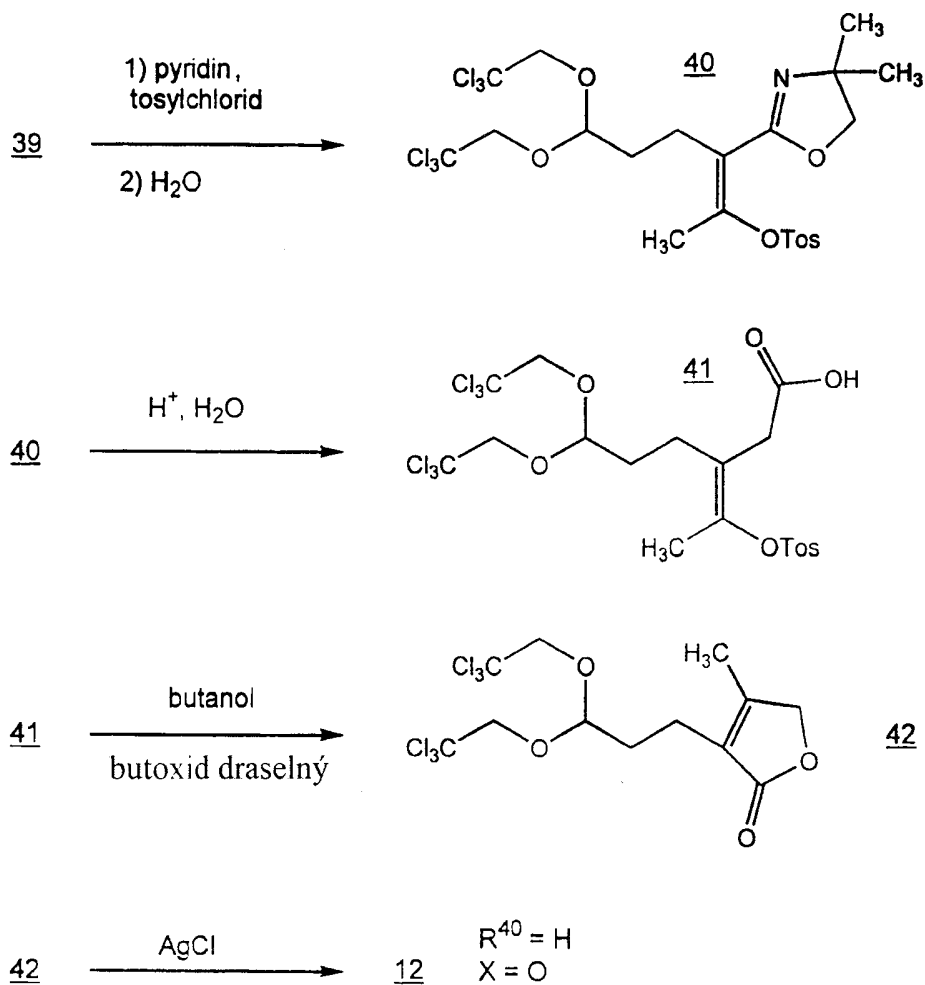


Schéma 12A-12D

Sloučeniny mající strukturu 12 jsou připraveny způsobem, který je uveden ve schématech níže. Většina reakcí je provedena podle popsanych způsobů, viz např. W. D. Langley, *Org. Syn. I*, 122, 1932 (sloučenina 30); R. Ratcliffe *et al.*, *J. Org. Chem.* 35: 4000, 1970 (sloučenina 32); A. I. Meyers *et al.*, *J. Org. Chem.* 39: 2787, 1974 (sloučenina 33, 41); J. L. Isidor *et al.*, *J. Org. Chem.* 38: 544, 1973 (sloučenina 35); G. Wittig *et al.*, *Chem. Ber.* 87: 1318, 1954 (sloučenina 36); P. M. Pojer *et al.*, *Tet. Lett.* 3067, 1976 (sloučenina 38); A. Maercker, *Org. React.* 14: 270, 1965 (sloučenina 37); E. J. Corey *et al.*, *Tet. Lett.* 3269 1975 (sloučenina 37); R. S. Tipson, *J. Org. Chem.* 9: 235, 1944 (sloučenina 39); G. W. Kabalka, *J. Org. Chem.* 51: 2386, 1986; B. B. Carson *et al.*, *Org. Synth.* 1: 179, 1941 (sloučenina 43); H. J. Bestman *et al.*, *Justus Liebigs Ann. Chem.* 693: 132 1966 (sloučenina 39); M. Miyano *et al.*, *J. Org. Chem.* 37: 268, 1972 (sloučenina 51); W. H. Glaze *et al.*, *J. Org. Chem.* 33: 1987, 1968 (sloučenina 52).

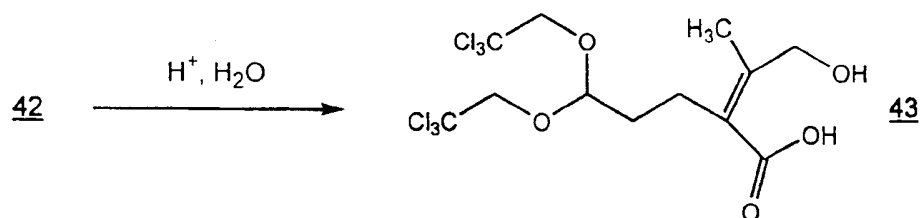
Schéma 12A





Sloučeniny mající strukturu 12, kde X je NH, S a CH₂ jsou připraveny podle způsobu, který je uveden ve schématech 12B, 12C a 12D.

Schéma 12B



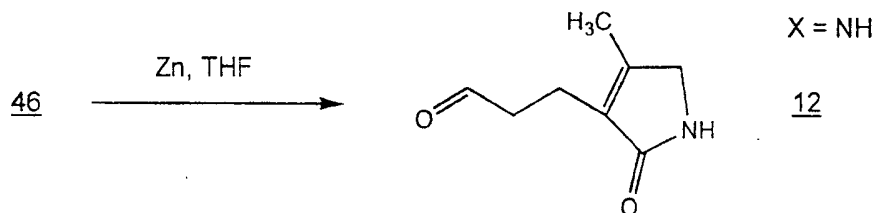
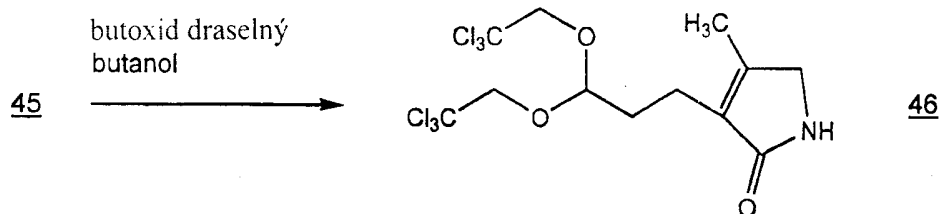
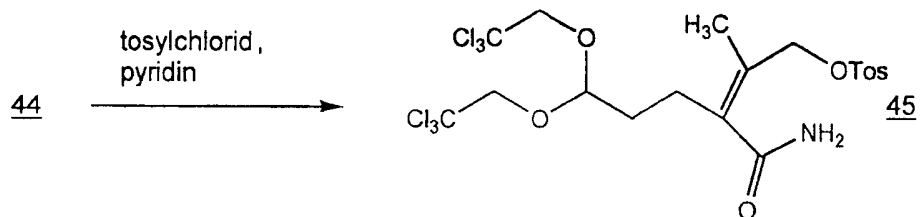
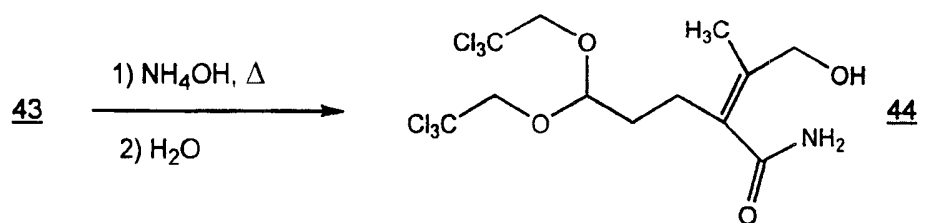
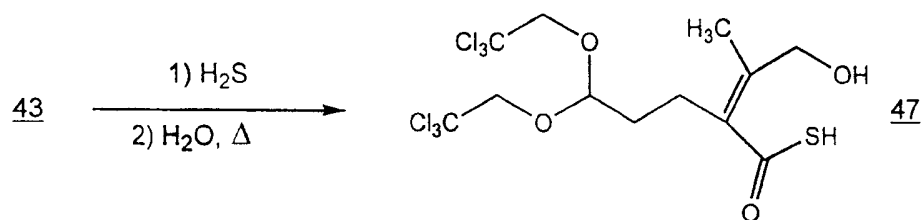


Schéma 12C



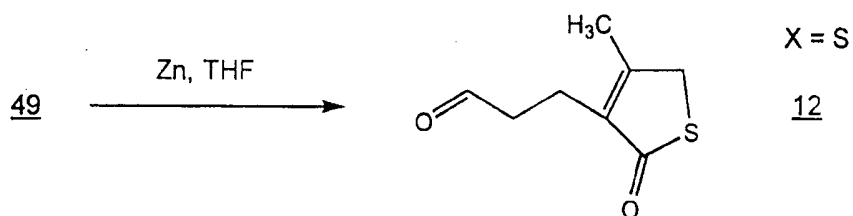
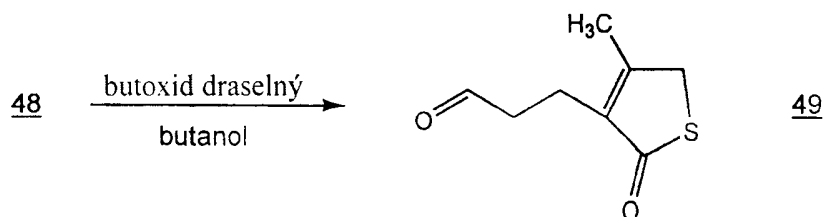
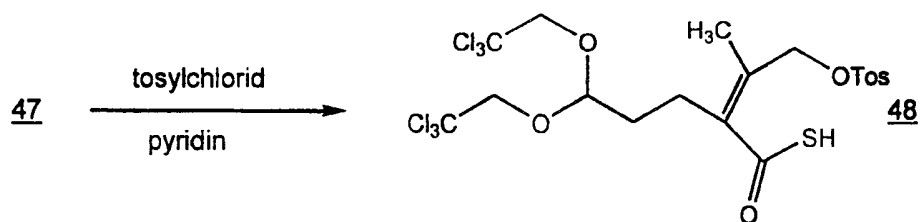
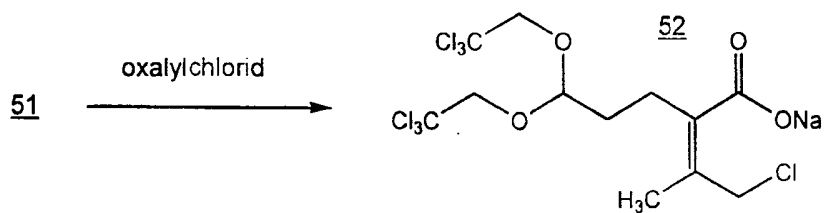
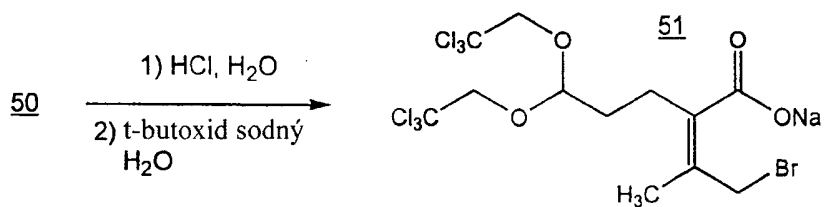
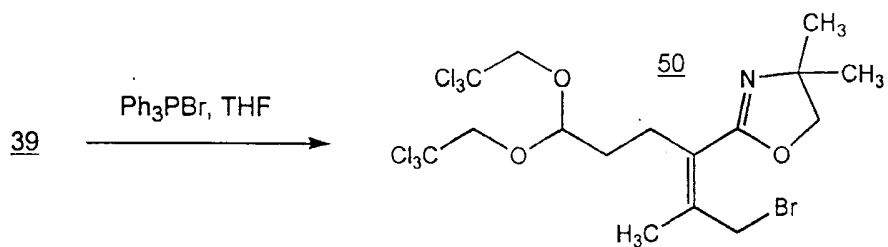
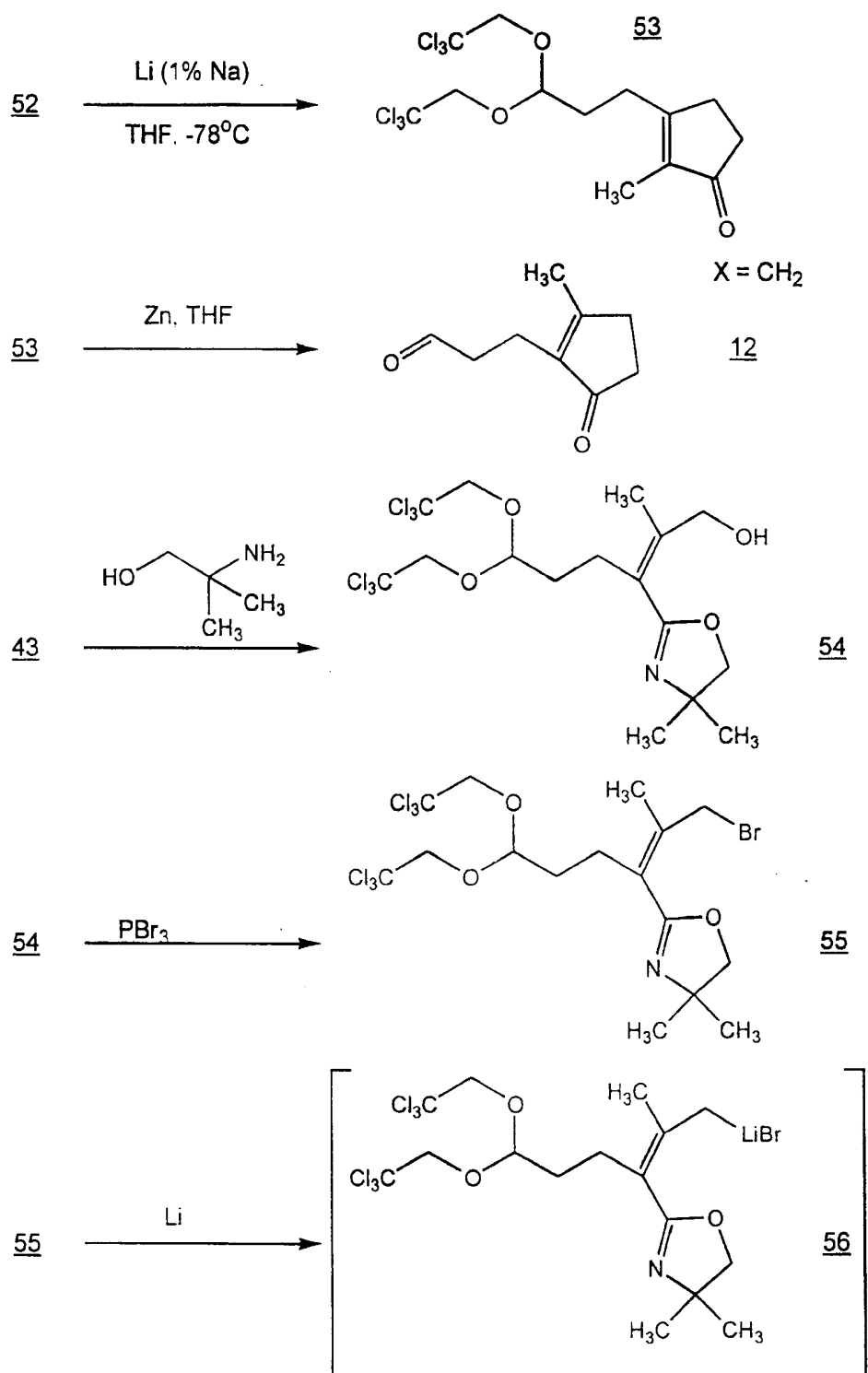


Schéma 12D





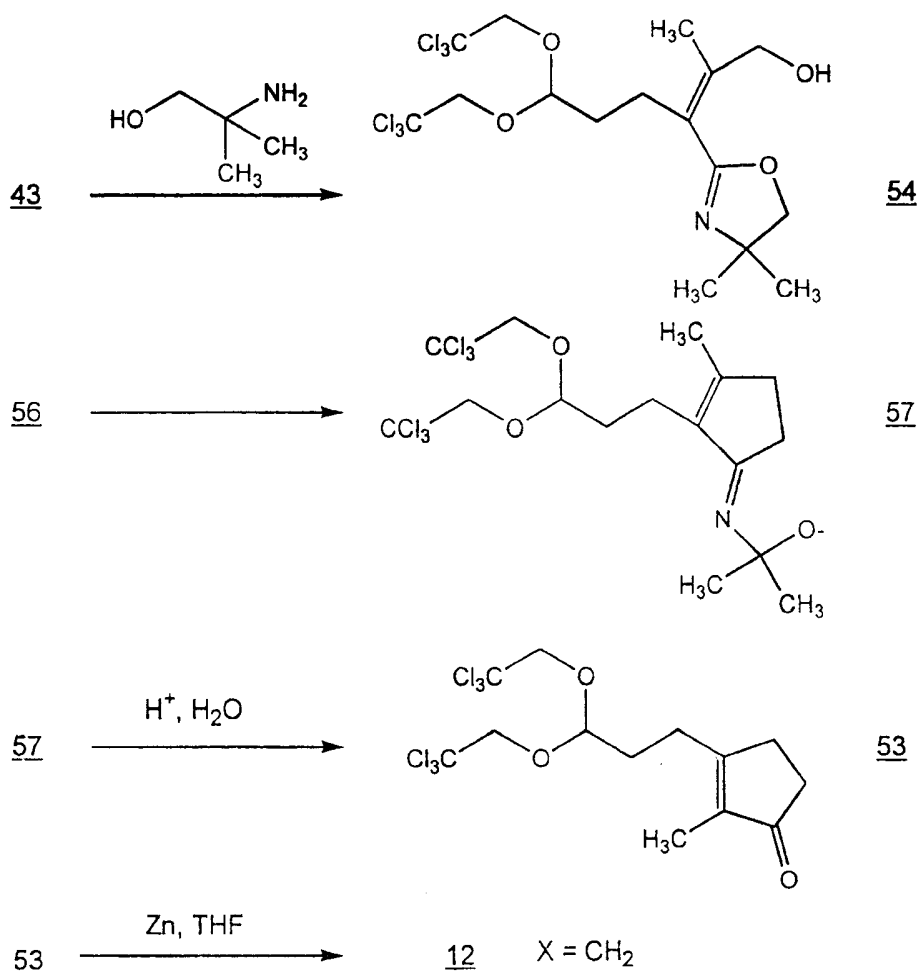
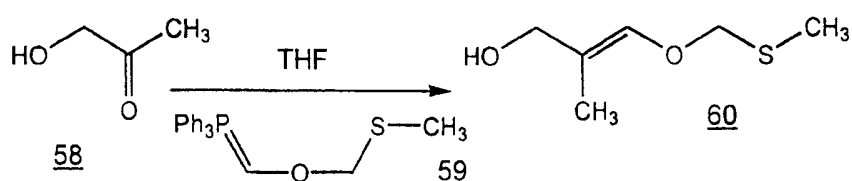
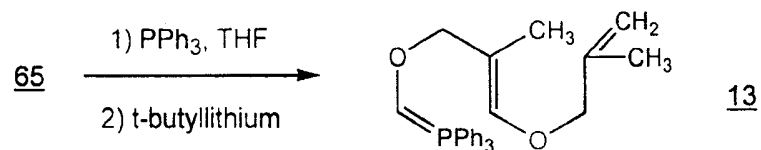
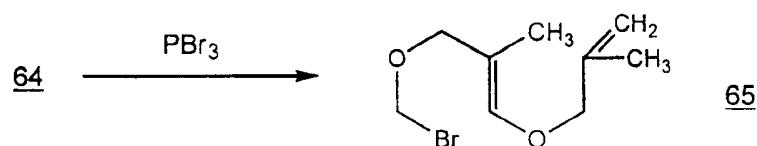
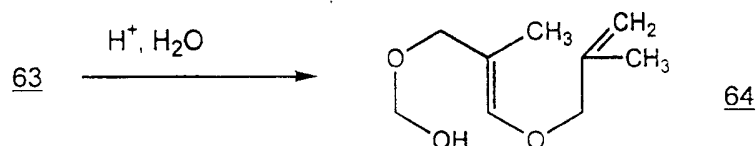
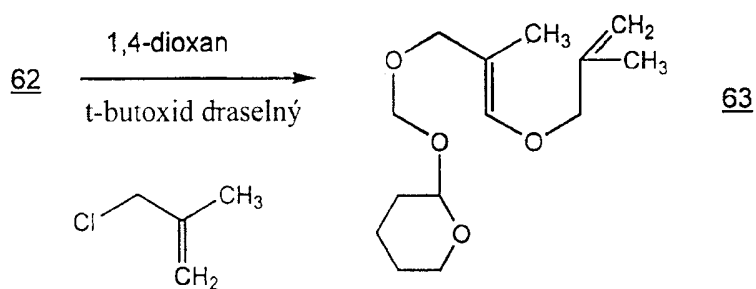
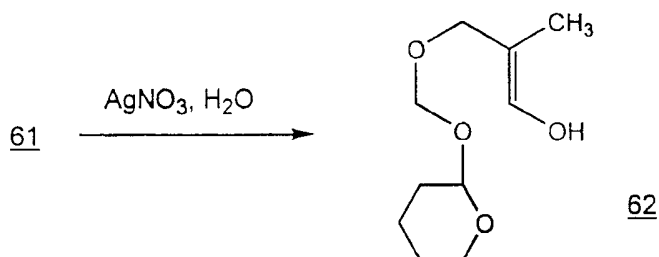
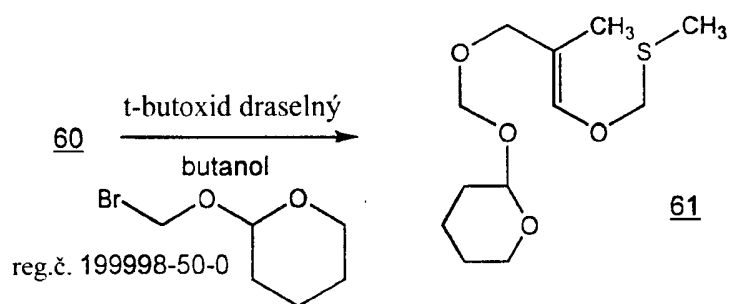


Schéma 13

Schéma a reakce uvedené níže jsou používány k přípravě sloučenin majících strukturu 13 a příbuzných sloučenin, které jsou používány k zavedení kyslíku, uhlíku, dusíku nebo síry do poloh substituentů R⁷ a R⁸ ve sloučeninách obecného vzorce (1). Reaktant při přípravě sloučeniny 63, 3-chlor-2-methylpropen (reg. No. 563-473), je komerčně dostupný (např., Aldrich, Fluka).

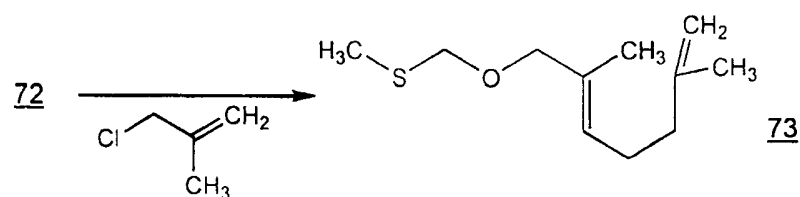
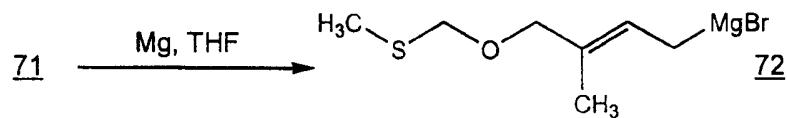
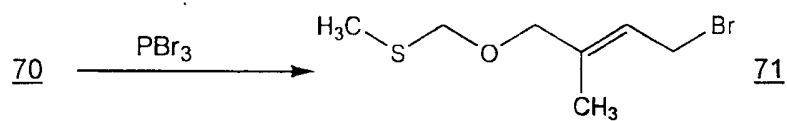
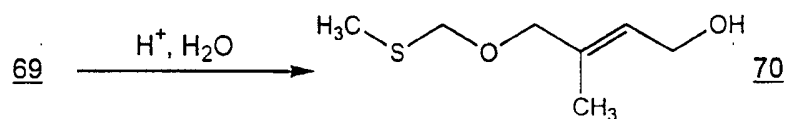
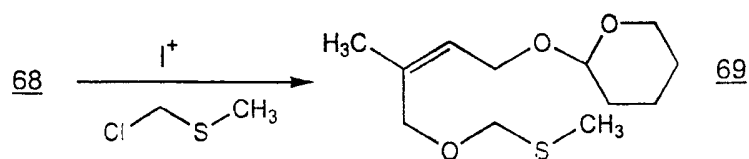
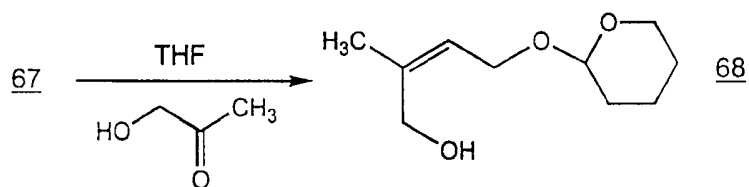
Schéma 13

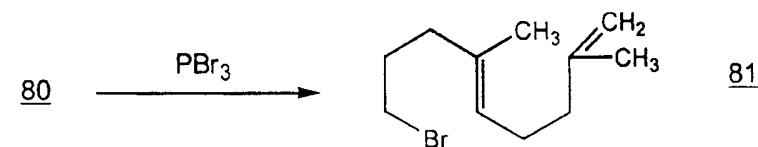
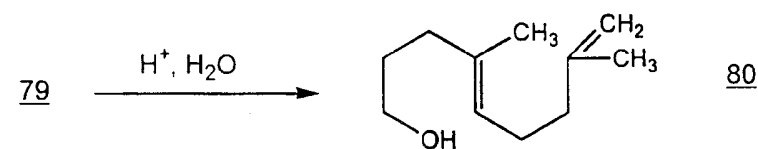
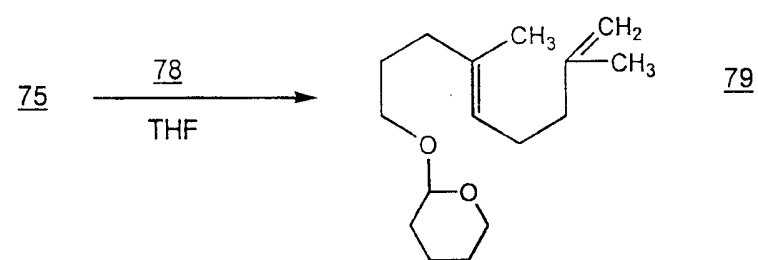
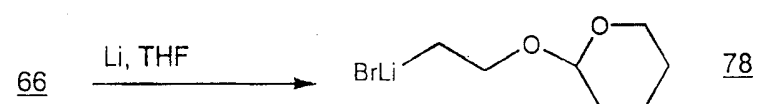
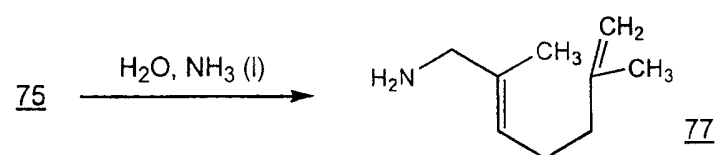
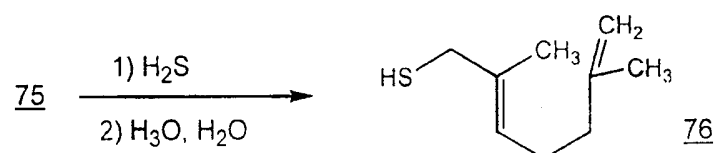
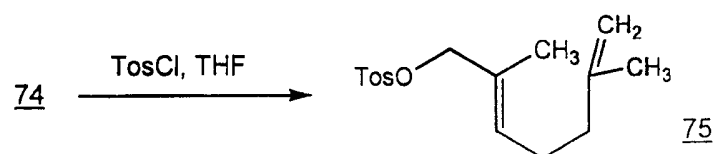
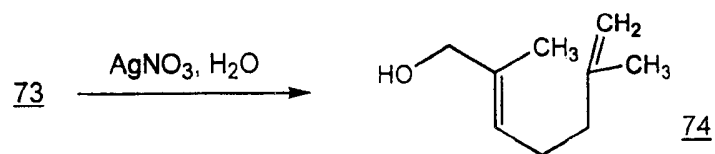


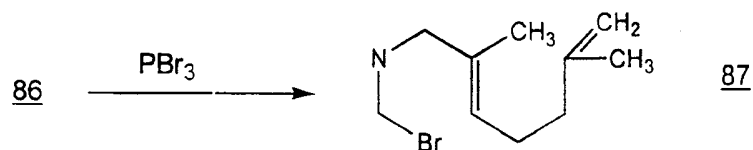
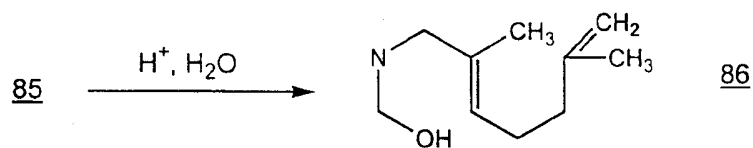
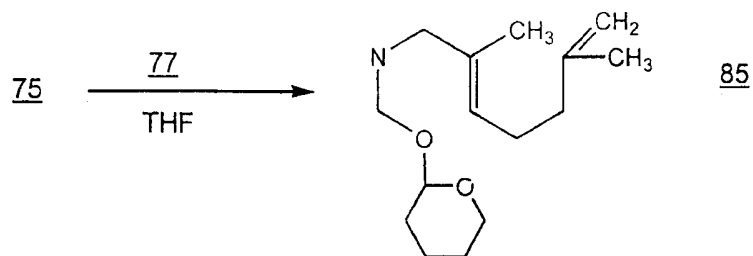
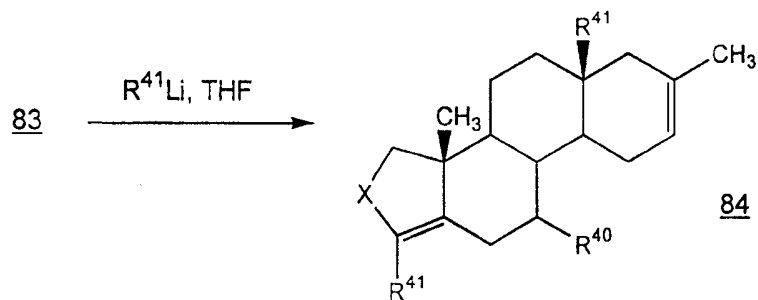
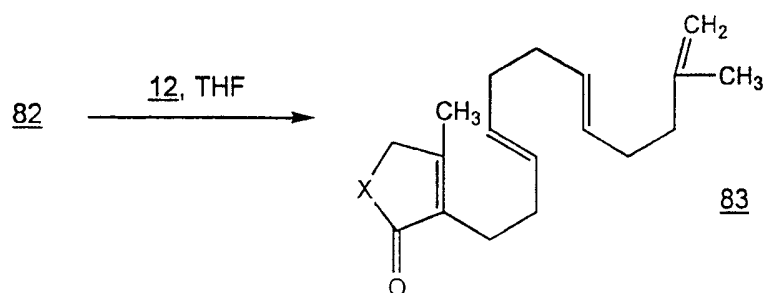
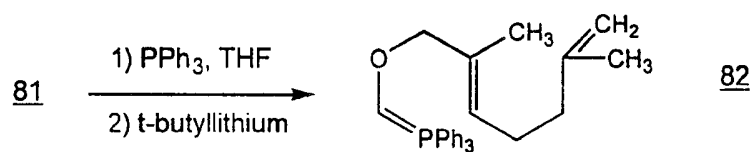


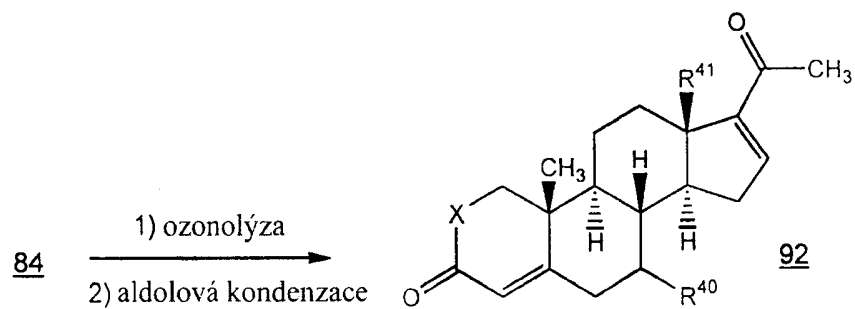
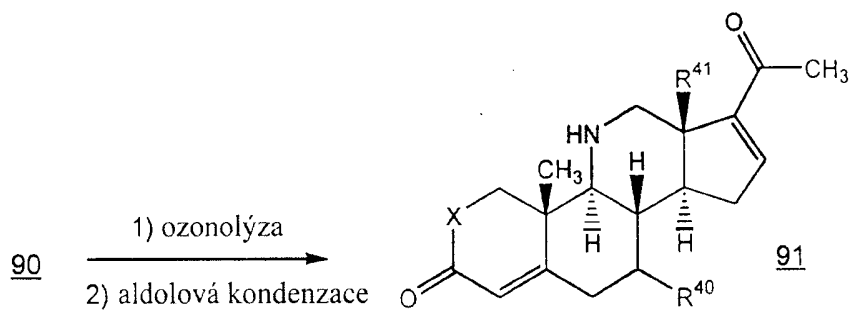
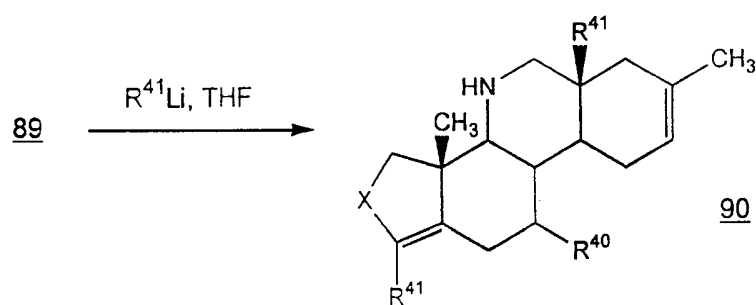
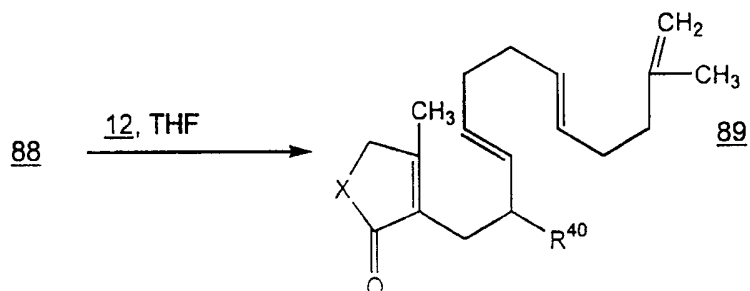
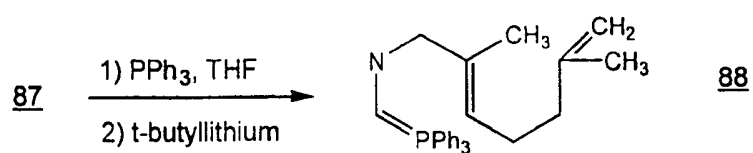
Sloučenina 59 a analoga sloučeniny 59, kde CH₂, S nebo NH CH₂ nahrazuje kyslík jsou připraveny podle způsobu, který je uveden v následujících reakcích. Byly také

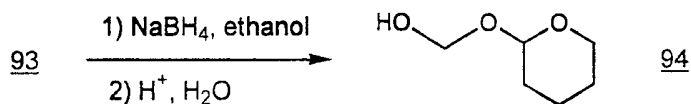
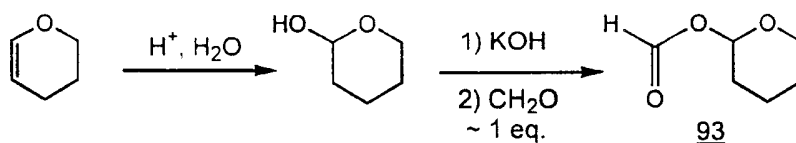
BrCCO + C1=CCCCO1 $\xrightarrow{H^+}$ BrCCOC1CCCCO1



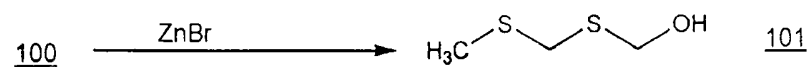
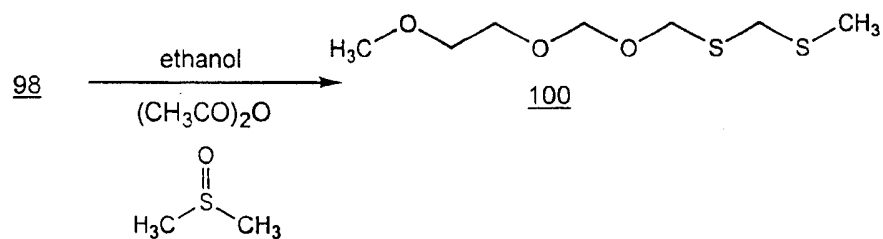
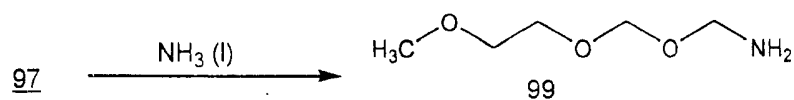
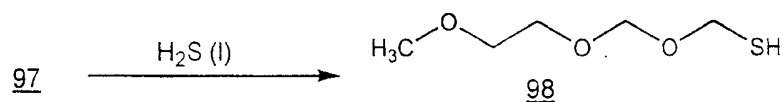
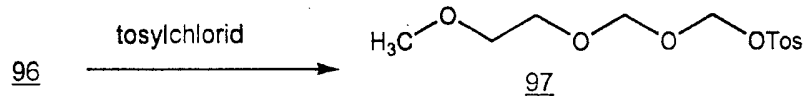
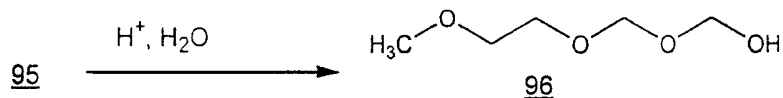
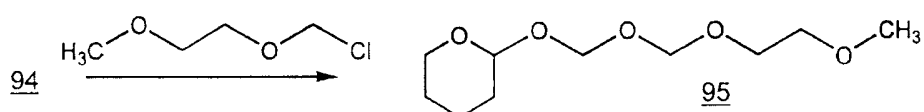


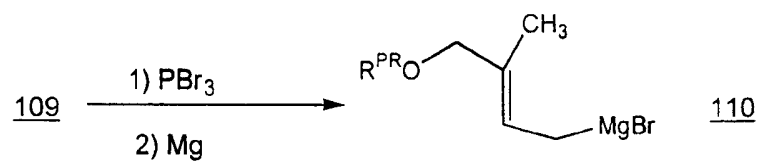
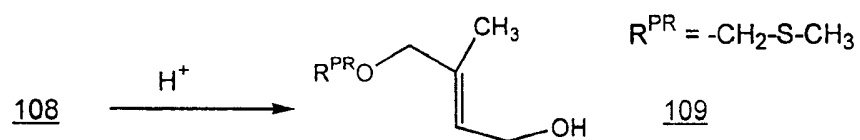
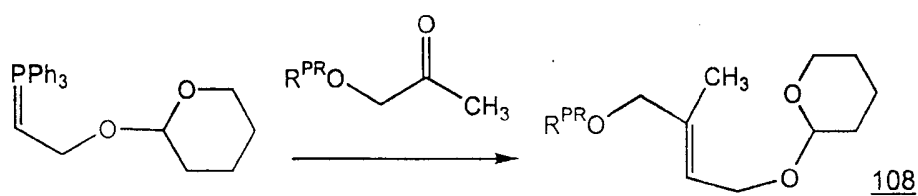
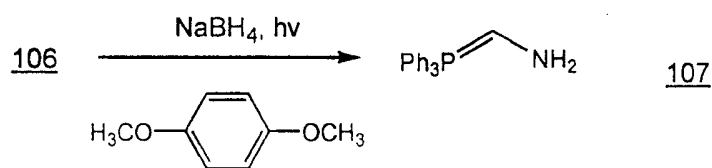
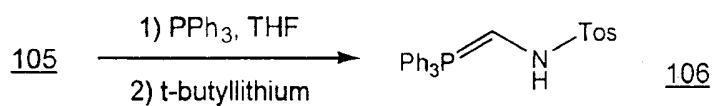
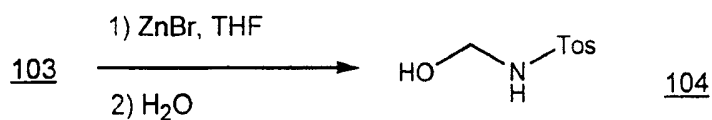
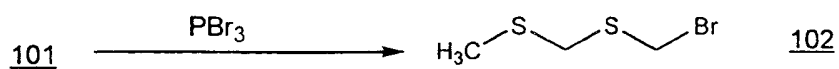


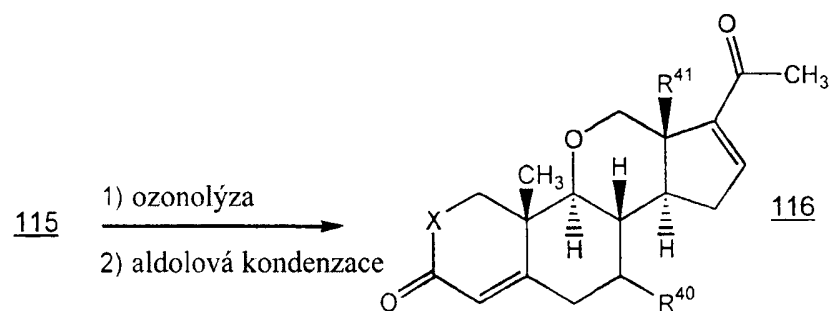
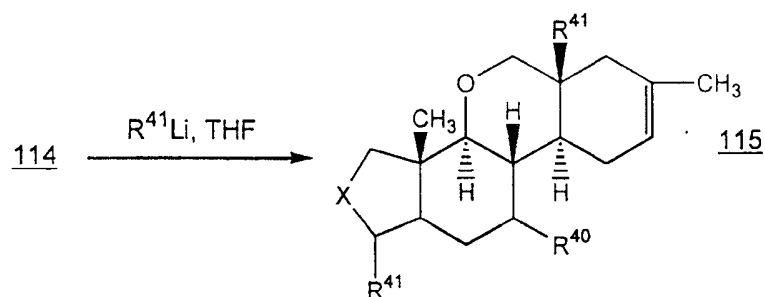
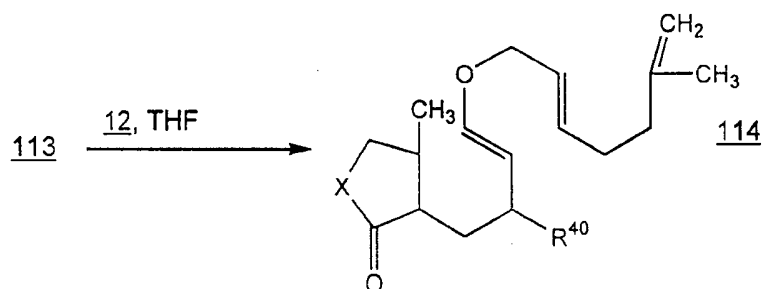
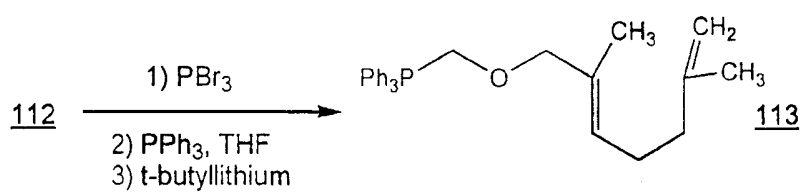
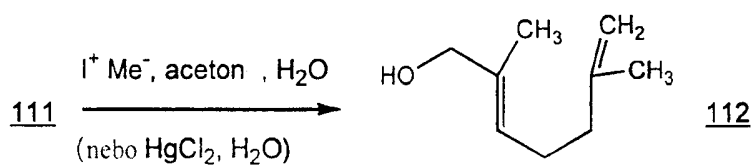
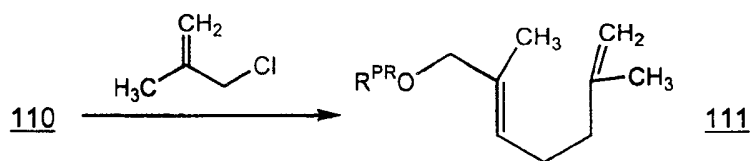


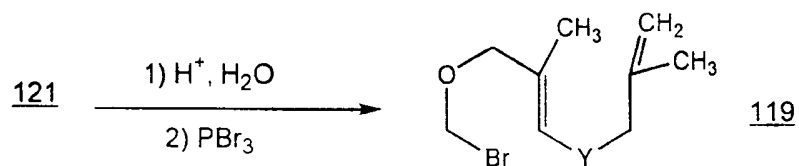
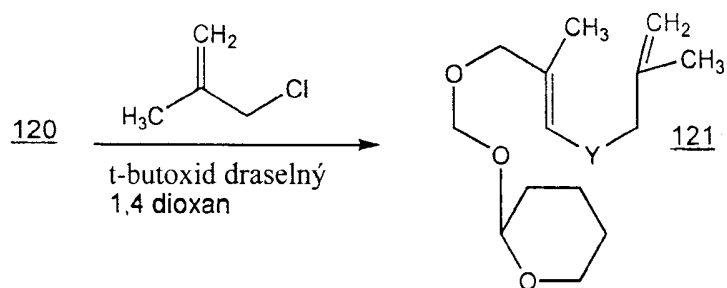
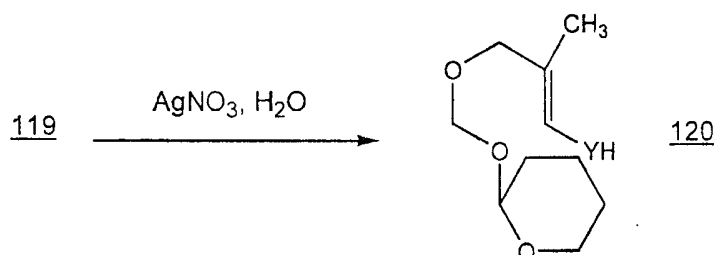
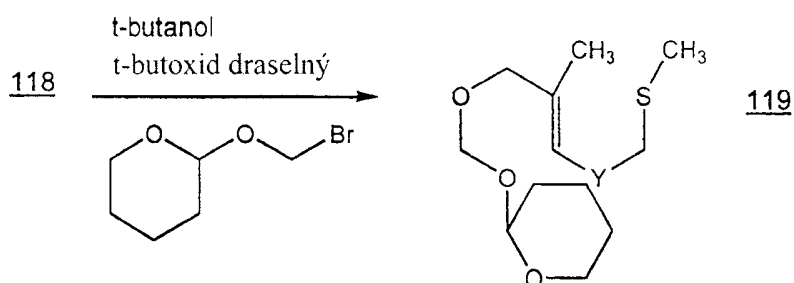
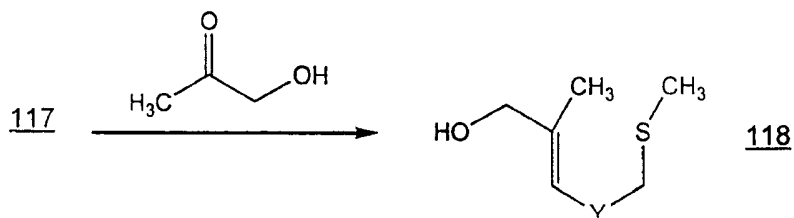
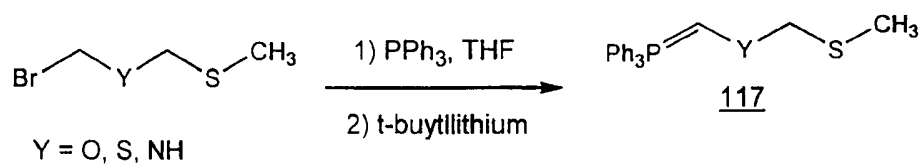


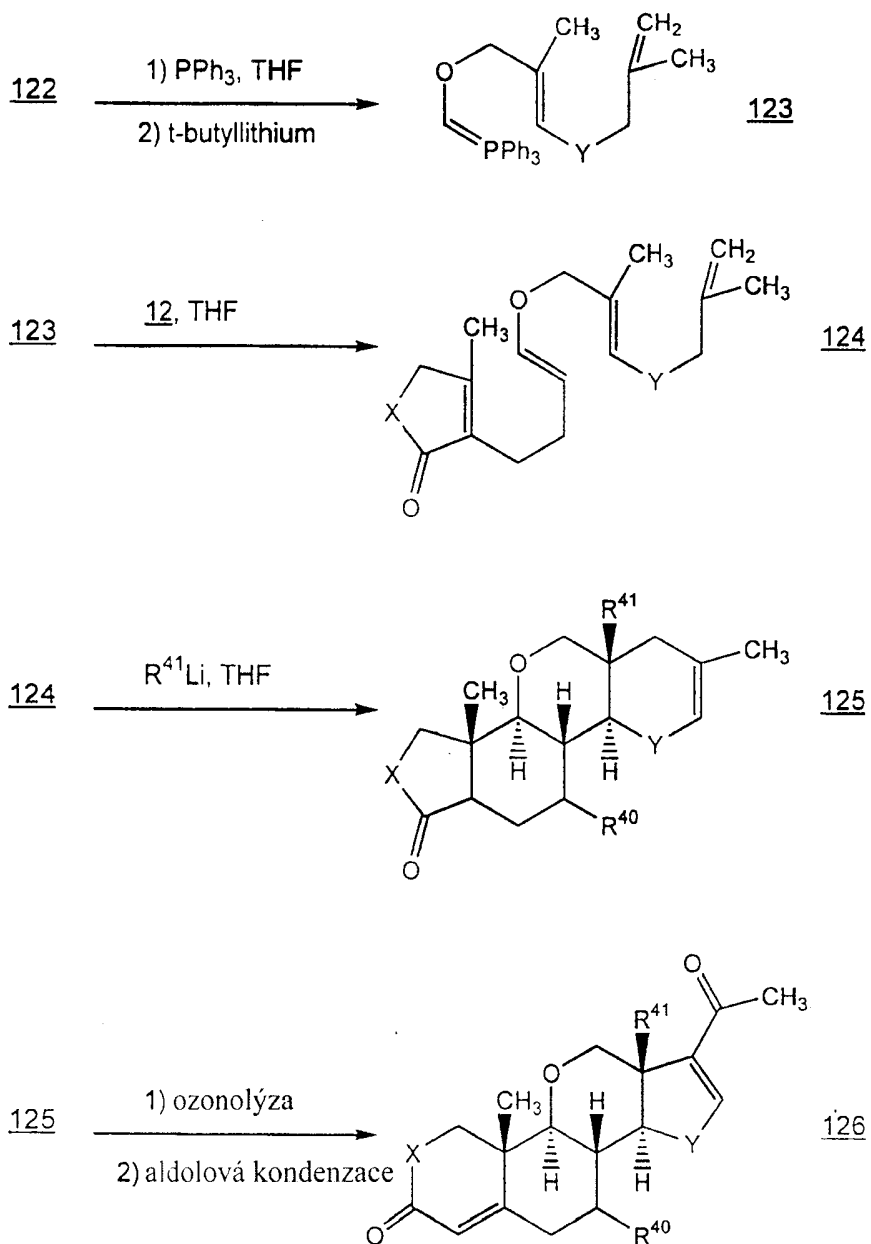
β -methoxyethoxymethylchlorid (MEM-Cl)



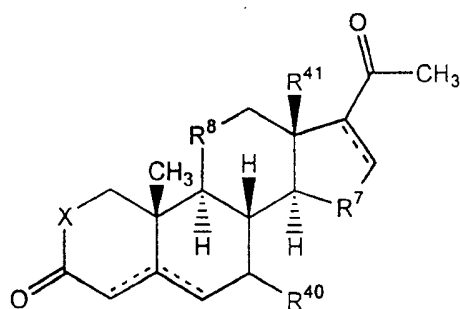








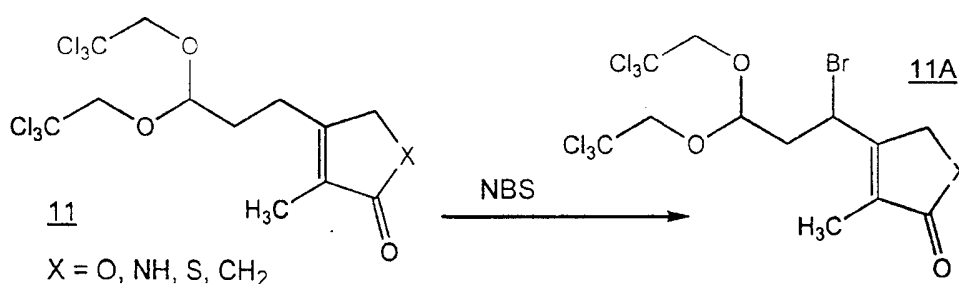
Konverze methylketonové ($-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_3$) části ve sloučeninách majících strukturu



($\text{R}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_3$) na jiné funkční skupiny je provedena následovně: methylketon je štěpen za vzniku karboxylové části pomocí např. Br_2 nebo I_2 v bázi, pote podroben reakci

s kyselinou (H_3O^+) podle popsaného způsobu (S. J. Chakrabarty *Oxidations in Organic Chemistry* Part C. W. Trahnousy, editor, Academic Press, NY, 1987, chapter 5; L. J. Smith *et al.*, *Org. Synth.* III 302,1953) za vzniku R-C(O)-OH . Karboxylová kyselina je redukována na alkohol LiAlH_4 . Konverze karboxylové kyseliny na bromid se provede pomocí např. Br_2 ve vodě, podle postupu popsaného v literatuře (J. S. Meck *et al.*, *Org. Synth.* V, 126, 1973; A. McKillop *et al.*, *J. Org. Chem.* 34: 1172,1969).

Sloučeniny mající strukturu 11 jsou bromovány *N*-bromsukcinimidem, čímž se získají steroidy a analoga s bromem v poloze 7.



Sloučeniny 11A jsou ochráněny za vzniku aldehydicke sloučeniny 12. Jak je uvedeno ve schématu 11 je atom bromu v poloze 7. Brom může být konvertován na hydroxylovou skupinu reakcí steroidu s bází (např. vodný KOH) a hydroxylová skupina může být chráněna pomocí standardních metod, např. použitím $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-Br}$ a báze (KOH). Zavedení a odstranění chránících skupin alkoholu je provedenou podle popsaných způsobů, viz např. W. H. Hartung *et al.*, *Org. React.* 7: 263, 1953; E. J. Rerst *et al.*, *J. Org. Chem.* 29: 3725, 1968; A. M. Felix *et al.*, *J. Org. Chem.* 43: 4194, 1978; D. A. Evans *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 101: 6789, 1979; mezinárodní patentová přihláška zveřejněná pod č. WO 98/02450. Podobné reakce jsou používány v jiných polohách ke konvertování bromu na hydroxylovou skupinu. Jiné substituenty jsou připojeny na steroidy podle způsobů popsaných ve schématech 1-10.

Nebo jiné způsoby zavedení funkční skupiny do polohy 7 jsou také vhodné. Například sloučeniny obecného vzorce (1), které mají dvojnou vazbu v poloze 5-6 a jsou nesubstituované v poloze 7, jsou případně chráněny, např. hydroxylové skupiny jsou chráněny acetátovou skupinou a keton je zaveden do polohy 7 oxidací kyselinou chromovou podle popsaného způsobu (patent US 2170124). Karbonylová skupina ($=\text{O}$) v poloze 7 je redukována na hydroxylovou skupinu za mírných podmínek, např. Al(Oi-Pr)_3 kvůli vyhnutí se redukce dvojně vazby v poloze 5-6. Použití silnějších redukčních podmínek,

např. redukce LiBH_4 v THF, vede ke konverzi 7-karbonylové skupiny na hydroxylovou skupinu a k redukci dvojné vazby poloze 5-6 a jiných dvojných vazeb v molekule.

Selektivní hydrogenace dvojné vazby v poloze 16-17 bez redukce dvojné vazby v poloze 5-6 je provedena H_2 a Pd. Obecně mohou být ketony ($=\text{O}$) před další oxidací nebo redukcí chráněny vytvořením glykolové skupiny, např. reakcí ethylenglykolu v *p*-toluensulfonové kyselině a benzenu,.

Různé, zde popisované části (skupiny), které mohou obsahovat sloučeniny obecného vzorce (1), např. hydroxylové skupiny nebo ketony vázané na steroidní jádro nebo substituované alkylové skupiny, substituované heterocyklické skupiny, aminokyseliny a peptidy, mohou obsahovat jednu nebo více reaktivních částí, např. hydroxylovou, karboxylovou, amino nebo thiolovou skupinu. Jak lze usuzovat, mohou být meziprodukty používané při přípravě sloučeniny obecného vzorce (1) chráněny. Necyklické a cyklické chránicí skupiny a odpovídající štěpící reakce jsou popsány v knize "Protective Groups in Organic Chemistry", Theodora W. Greena (John Wiley & Sons, Inc., New York, 1991, ISBN 0-471-62301-6) (dále "Greene") a nebudou zde detailněji popisovány. V souvislosti s předloženým vynálezem mohou být tyto chránicí skupiny odstraněny z molekuly podle předloženého vynálezu bez nevratné změny kovalentních vazeb nebo oxidace a redukce zbylé molekuly. Například chránicí skupina, $-\text{R}^{\text{PR}}$, která je vázána na $-\text{O}-$ nebo $-\text{NH}-$ skupinu, může být odstraněna za vzniku $-\text{OH}$ nebo $-\text{NH}_2$ skupiny bez ovlivnění jiných kovalentních vazeb v molekule. Občas, pokud je potřeba, může být odstraněna více než jedna chránicí skupina najednou nebo může být odstraněna postupně. Ve sloučeninách podle předloženého vynálezu majících více než jednu chránicí skupinu jsou chránicí skupiny stejné nebo rozdílné.

Chránicí skupiny jsou odstraněny známými způsoby, ačkoliv je zcela jasné, že chráněné meziprodukty spadají rovněž do rozsahu tohoto vynálezu. Odstranění chránicí skupiny může být obtížné nebo jednoduché v závislosti na ekonomických souvislostech a charakteru použitých konverzí. Obecně lze používat chránicí skupiny s exocyklickými aminy nebo s karboxylovými skupinami během syntézy sloučeniny obecného vzorce (1). Pro většinu terapeutických aplikací by měly být aminové skupiny odchráněné. Chránicí skupiny jsou běžně používány k chránění proti kovalentním modifikacím citlivých skupin při reakcích, např. alkylacích nebo acylacích. Běžně jsou chránicí skupiny odstraněny např. hydrolýzou, eliminací nebo aminolýzou. Tudíž k provedení selektivních vratných nebo nevratných zavedení chránicích skupin do jednotlivých poloh ve sloučeninách podle

předloženého vynálezu budou stačit jednoduché úvahy. Vhodné chránicí skupiny a kritéria pro jejich selektivnosti jsou popsána v T. W. Greene a P. G. M. Wuts, Eds. "Protective Groups in Organic Synthesis" 2nd edition, Wiley Press, 10-142, 143-174, 175-223, 224 a 406-454.

Pro určení, zda-li je skupina vhodnou chránicí skupinou, je vhodná např. kniha Kocienski, Filip J. : "*Protecting Groups*" (Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1994) (dále "Kocienski"), kapitola 1.1., str. 2 and Greene kapitola 1, str. 1-9. Zejména je skupina vhodnou chránicí skupinou tehdy, když 90% (molární poměr) této chránicí bylo odstraněno reakcí provedenou za účelem sejmutí chránicí skupiny a ne více než 50%, typicky 25%, lépe 10% odchráněných molekul produktu podle předloženého vynálezu podstoupilo změnám ve svých kovaletních vazbách nebo oxidaci/redukci jiným než požadovaným způsobem k odstranění chránicí skupiny. Pokud jsou v molekule přítomny mnohačetné chránicí skupiny stejného typu, jsou molární poměry stanoveny až po odstranění všech skupin daného typu. Pokud jsou v molekule přítomny mnohačetné chránicí skupiny různého typu, je každý typ chránicí skupiny podroben reakci (a jsou stanoveny molární poměry) nezávisle nebo společně s dalšími v závislosti na tom, zda-li reakční podmínky vhodné pro odstranění jednoho typu chránicí skupiny jsou také vhodné pro jiné přítomné typy. V rámci jednoho provedení předloženého vynálezu je skupina vhodnou chránicí skupinou, v závislosti na molárním poměru stanoveném konvenčními technikami, za předpokladu, že 90% této chránicí skupiny bylo odstraněno konvenční reakcí provedenou za účelem odstranění chránicí skupiny a ne více než 50%, typicky 25%, lépe 10% odchráněných molekul produktu podle předloženého vynálezu podstoupilo nevratným změnám se svých kovaletních vazbách nebo oxidaci/redukci jiným než požadovaným způsobem k odstranění chránicí skupiny. Nevratné změny vyžadují chemické reakce (mimo těch, které jsou výsledkem z vodné hydrolýzy, kyselé/bazické neutralizace nebo konvenční separace, izolace nebo purifikace) k obnovení kovaletních vazeb nebo oxidační nebo redukčních stavů odchráněné molekuly podle předloženého vynálezu.

Chránicí skupiny jsou také popsány detailněji v knize Kocienski, Filip J.; "*Protective Groups*" (Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1994), zde je doplněno jako odkaz. Zejména kapitola 1, chránicí skupiny: přehled, str. 1-20, kapitola 2, hydroxyl chránicí skupiny, str. 21-94, kapitola 3, diol chránicí skupiny, str. 95-117, kapitola 4, karboxyl chránicí skupiny, str. 118-154, kapitola 5, karbonyl chránicí skupiny, str. 155-

184, kapitola 6, amino chránicí skupiny, str. 185-243, kapitola 7, epilog, str. 244-252 a index, str. 253-260, jsou zde doplněny se svojí specifitou v kontextu svých obsahů. Ještě lépe části 2,3 silylethery, 2,4 alkylethery, 2,5 alkoxyalkylethery (acetaly), 2,6 přehled (hydroxy a thiol chránicí skupiny), 3,2 acetaly, 3,3 deriváty silylenu, 3,4 deriváty 1,1,3,3-tetraizopropylidisiloxanylidenu, 3,5 přehled (diol chránicí skupiny), 4,2 estery, 4,3 2,6,7-trioxabicyklo[2,2,2]oktany [OBO] a jiné ortho estery, 4,4 oxazoliny, 4,5 přehled (karboxyl chránicí skupiny), 5,2 *O,O*-acetaly, 5,3 *S,S*-acetaly, 5,4 *O,S*-acetaly, 5,5 přehled (karbonyl chránicí skupiny), 6,2 *N*-Acylderiváty, 6,3 *N*-sulfonylderiváty, 6,4 *N*-sulfenylderiváty, 6,5 *N*-alkylderiváty, 6,6 *N*-silylderiváty, 6,7 iminderiváty a 6,8 přehled (amino chránicí skupiny). jsou zde doplněny se svojí specifitou v kontextu svých obsahů, přičemž zavedení/odstranění nezbytných funkčních skupin je také popsováno. Dále tabulky „Index to the Principal Protecting Groups“ na vnitřním předním obalu a protilehlých a přilehlých stranách, „Abbreviations“ na straně xiv a „reagents and Solvents“ na straně xv, jsou uvedeny v celém svém rozsahu.

Typické hydroxyl chránicí skupiny jsou popsány v knize autora Greena na stranách 14-118 a zahrnují ethery (methyl); substituované methylethery (methoxymethyl, methylthiomethyl, *t*-butylthiomethyl, (fenyldimethylsilyl) methoxymethyl, benzyloxymethyl, *p*-methoxybenzyloxymethyl, (4-methoxyfenoxy)methyl, guajakolmethyl, *t*-butoxymethyl, 4-pentenylloxymethyl, siloxymethyl, 2-methoxyethoxymethyl, 2,2,2-trichlorethoxymethyl, bis(2-chlorethoxy)methyl, 2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl, tetrahydropyranyl, 3-bromtetrahydropyranyl, tetrahydrothiopyranyl, 1-methoxycyklohexyl, 4-methoxytetrahydropyranyl, 4-methoxytetrahydrothiopyranyl, 4-methoxytetrahydrothiopyranyl *S,S*-dioxido, 1-[(2-chlor-4-methyl)fenyl]-4-methoxypiperidin-4-yl, 1,4-dioxan-2-yl, tetrahydrofuran-2-yl); substituované ethylethery (1-ethoxyethyl, 1-(2-chlorethoxy)ethyl, 1-methyl-1-methoxyethyl, 1-methyl-1-benzyloxyethyl, 1-methyl-1-benzyloxy-2-fluorethyl, 2,2,2-trichlorethyl, 2-trimethylsilylethyl, 2-(fenylselenyl)ethyl, *t*-butyl, allyl, *p*-chlorfenyl, *p*-methoxyfenyl, 2,4-dinitrofenyl, benzyl); substituované benzylethery (*p*-methoxybenzyl, 3,4-dimethoxybenzyl, *o*-nitrobenzyl, *p*-nitrobenzyl, *p*-halobenzy, 2,6-dichlorbenzyl, *p*-kyanobenzy, *p*-fenylbenzy, 2- a 4-pikolyl, 3-methyl-2-pikolyl-*N*-oxido, difenylmethyl, *p,p'*-dinitrobenzhydryl, 5-dibenzosuberyl, trifenylmethyl, α -naftylidifenylmethyl, *p*-methoxyfenyldifenylmethyl, di(*p*-methoxyfenyl)fenylmethyl, tri(*p*-methoxyfenyl)

methyl, 4-(4'-bromfenacyloxy)fenyldifenylmethyl, 4,4',4''-tris(4,5-dichlorfthalimido)fenyl)methyl, 4,4',4''-tris(levulinoyloxyfenyl)methyl, 4,4',4''-tris(benzoyloxyfenyl)methyl, 3-(imidazol-1-ylmethyl)bis(4',4''-dimethoxyfenyl)methyl, 1,1-bis(4-methoxyfenyl)-1'-pyrenylmethyl, 9-antryl, 9-(9-fenyl)xanthenyl, 9-(9-fenyl-10-oxo)antryl, 1,3-benzodithiolan-2-yl, benzizothiazolyl, *S,S*-dioxido); silylethery (trimethylsilyl, triethylsilyl, triizopropylsilyl, dimethylizopropylsilyl, diethylizopropylsilyl, dimethylhexylsilyl, *t*-butyldimethylsilyl, *t*-butyldifenylsilyl, tribenzylsilyl, tri-*p*-xylylsilyl, trifenylsilyl, difenylmethylsilyl, *t*-butylmethoxyfenylsilyl); estery (formiát, benzoylformiát, acetát, chloracetát, dichloracetát, trichloracetát, trifluoracetát, methoxyacetát, trifenylmethoxyacetát, fenoxycetát, *p*-chlorfenoxycetát, *p*-poly-fenylacetát, 3-fenylpropionát, 4-oxopentanoát (levulinát), 4,4-(ethylendithio)pentanoát, pivaloát, adamantoát, krotonát, 4-methoxykrotonát, benzoát, *p*-fenylbenzoát, 2,4,6-trimethylbenzoát(mesitoát); karbonáty (methyl, 9-fluorenylmethyl, ethyl, 2,2,2-trichlorethyl, 2-(trimethylsilyl)ethyl, 2-(fenylsulfonyl)ethyl, 2-(trifenylfosfonio)ethyl, izobutyl, vinyl, allyl, *p*-nitrofenyl, benzyl, *p*-methoxybenzyl, 3,4-dimethoxybenzyl, *o*-nitrobenzyl, *p*-nitrobenzyl, *s*-benzylthiokarbonát, 4-ethoxy-1-naftyl, methylthiokarbonát); skupiny s pomocným štěpením (2-jodbenzoát, 4-azidobutyrát, 4-nitro-4-methylpentanoát, *o*-(dibrommethyl)benzoát, 2-formylbenzensulfonát, 2-(methylthiomethoxy)ethylkarbonát, 4-(methylthiomethoxy)butyrát, 2-(methylthiomethoxymethyl)benzoát); různorodé estery (2,6-dichlor-4-methylfenoxycetát, 2,6-dichlor-4-(1,1,3,3-tetramethyl-butyl)fenoxycetát, 2,4-bis(1,1-dimethylpropyl)fenoxycetát, chlordinfenylacetát, izobutyát, monosukcinoát, (*E*)-2-methyl-2-butenóát (tigloát), *o*-(methoxykarbonyl)benzoát, *p*-poly-benzoát, α -naftoát, nitrát, alkyl-*N,N,N',N'*-tetramethylfosforodiamidát, *N*-fenylkarbamát, borát, dimethylfosfíniothiyl, 2,4-dinitro-fenylsulfonát a sulfonáty (sulfát, methansulfonát (mesylát), benzylsulfonát, tosylát (tos)).

Typičtější hydroxy chránicí skupiny zahrnují substituované methylethery, substituované benzylethery, silylethery a estery včetně esterů sulfonové kyseliny, nejtypičtější trialkylsilylethery, tosyláty a acetáty.

Typické 1,2- a 1,3-diol chránicí skupiny jsou popsány v knize autora Greena na stranách 118-142 a zahrnují cyklické acetaly a ketaly (methylen, ethylen, 1-*t*-butylethylen, 1-fenylethylen, (4-methoxyfenyl)ethylen, 2,2,2-trichlorethylen, acetonid (izopropyliden), cyklopentyliden, cyklohexyliden, cykloheptyliden, benzyliden, *p*-methoxybenzyliden, 2,4-dimethoxybenzyliden, 3,4-dimethoxybenzyliden,

2-nitrobenzyliden); cyklické orthoestery (methoxymethylen, ethoxymethylen, dimethoxymethylen, 1-methoxyethyliden, 1-ethoxyethylidin, 1,2-dimethoxyethyliden, α -methoxybenzyliden, deriváty 1-(*N,N*-dimethylamino)ethylidenu, deriváty α -(*N,N*-dimethylamino)benzyliden, 2-oxacyklopentyliden); a silylderiváty (di-*t*-butylsilylenová skupina), deriváty 1,3-(1,1,3,3-tetraizo-propyldisiloxanylidenu), deriváty tetra-*t*-butoxydisiloxan-1,3-diyliden, cyklické karbonáty, cyklické boronáty, ethylboronát, fenyloboronát).

Typičtější 1,2- a 1,3-diol chránicí skupiny zahrnují epoxidy a acetonidy.

Typické amino chránicí skupiny jsou popsány v knize autora Greena na stranách 315-385 a zahrnují karbamáty (methyl a ethyl, 9-fluorenylmethyl, 9-(2-sulfo)fluorenylmethyl, 9-(2,7-dibrom)fluorenylmethyl, 2,7-di-*t*-buthyl-[9-(10,10-dioxo-10,10,10,10-tetrahydrothioxanthyl)]-methyl, 4-methoxy-fenacyl); substituovaná ethylová skupina (2,2,2-trichloroethyl, 2-trimethylsilylethyl, 2-fenylethyl, 1-(1-adamantyl)-1-methylethyl, 1,1-dimethyl-2-halogenethyl, 1,1-dimethyl-2,2-dibromethyl, 1,1-dimethyl-2,2,2-trichloroethyl, 1-methyl-1-(4-bifenylyl)ethyl, 1-(3,5-di-*t*-butylfenyl)-1-methylethyl, 2-(2'- a 4'-pyridyl)ethyl, 2-(*N,N*-dicyklohexylkarboxamido)ethyl, *t*-butyl, 1-adamantyl, vinyl, allyl, 1-izopropylallyl, cinnamyl, 4-nitrocinnamyl, 8-chinolyl, *N*-hydroxypiperidinyl, alkylidithio, benzyl, *p*-methoxybenzyl, *p*-nitrobenzyl, *p*-brombenzyl, *p*-chorobenzyl, 2,4-dichlorbenzyl, 4-methylsulfinylbenzyl, 9-anthrylmethyl, difenylylmethyl); skupiny s asistovaným štěpením (2-methylthioethyl, 2-methylsulfonylethyl, 2-(*p*-toluensulfonyl)ethyl, [2-(1,3-dithianyl)]methyl, 4-methylthiofenyl, 2,4-dimethylthiofenyl, 2-fosfonioethyl, 2-trifenylfosfonioizopropyl, 1,1-dimethyl-2-kyanoethyl, *m*-choro-*p*-acyloxybenzyl, *p*-(dihydroxyboryl)benzyl, 5-benzizoxazolylmethyl, 2-(trifluormethyl)-6-chromonylmethyl); skupiny schopné fotolytického štěpení (*m*-nitrofenyl, 3,5-dimethoxybenzyl, *o*-nitrobenzyl, 3,4-dimethoxy-6-nitrobenzyl, fenyl(*o*-nitrofenyl)methyl); deriváty močovinového typu (fenothiazinyl-(10)-karbonylderivát, *N'*-*p*-toluensulfonylaminokarbonyl, *N'*-fenylaminothiokarbonyl); různorodé karbamáty (*t*-amyl, *S*-benzylthiokarbamát, *p*-kyanobenzyl, cyklobutyl, cyklohexyl, cyklopentyl, cyklopropylmethyl, *p*-decyloxybenzyl, diizopropylmethyl, 2,2-dimethoxykarbonylvinylyl, *o*-(*N,N*-dimethyl-karboxamido)benzyl, 1,1-dimethyl-3-(*N,N*-dimethylkarboxamido)propyl, 1,1-dimethylpropynyl, di(2-pyridyl)methyl, 2-furanylmethyl, 2-jodethyl, 2-izobornyl, izobutyl, izonikotinyl, *p*-(*p'*-methoxyfenylazo)benzyl, 1-methylcyklobutyl,

1-methylcyklohexyl, 1-methyl-1-cyklopropylmethyl, 1-methyl-1-(3,5-dimethoxyfenyl)ethyl, 1-methyl-1-(*p*-fenylazofenyl)ethyl, 1-methyl-1-fenylethyl, 1-methyl-1-(4-pyridyl)ethyl, fenyl, *p*-(fenylazo)-benzyl, 2,4,6-tri-*t*-butylfenyl, 4-(trimethylammonium)benzyl; amidy (*N*-formyl, *N*-acetyl, *N*-chloracetyl, *N*-trichloracetyl, *N*-trifluoracetyl, *N*-fenylacetyl, *N*-3-fenylpropionyl, *N*-pikolinoyl, *N*-3-pyridylkarboxamid, *N*-benzoylfenylalanylderivát, *N*-benzoyl, *N*-*p*-fenylbenzoyl) ; amidy s asistovaným štěpením (*N*-*o*-nitrofenylacetyl, *N*-*o*-nitrofenoxyacetyl, *N*-acetoacetyl, (*N*'-dithiobenzyloxykarbonylamino)acetyl, *N*-3-(*p*-hydroxyfenyl)propionyl, *N*-3-(*o*-nitrofenyl)propionyl, *N*-2-methyl-2-(*o*-nitrofenoxy)propionyl, *N*-2-methyl-2-(*o*-fenylazofenoxi)propionyl, *N*-4-chlorbutyryl, *N*-3-methyl-3-nitrobutyryl, *N*-*o*-nitrocinnamoyl, *N*-acetylmethioninderivát, *N*-*o*-nitrobenzoyl, *N*-*o*-(benzoyloxymethyl)benzoyl, 4,5-difenyl-3-oxazolin-2-on); cyklické imid-deriváty (*N*-ftalimid, *N*-dithiasukcinoyl, *N*-2,3-difenylmaloyl, *N*-2,5-dimethylpyrrolyl, adukt *N*-1,1,4,4-tetramethyldisilylazacyklopentanu, 5-substituovaný 1,3-dimethyl-1,3,5-triazacyklohexan-2-on, 5-substituovaný 1,3-dibenzyl-1,3,5-triazacyklohexan-2-on, 1-substituovaný 3,5-dinitro-4-pyridonyl);

N-alkyl a *N*-arylaminy (*N*-methyl, *N*-allyl, *N*-[2-(trimethylsilyl)ethoxy]methyl, *N*-3-acetoxypopyl, *N*-izopropyl-4-nitro-2-oxo-3-pyrrolin-3-yl), kvarterní amonné soli, *N*-benzyl, *N*-di(4-methoxyfenyl)methyl, *N*-5-dibenzosuberyl, *N*-trifenylmethyl, *N*-(4-methoxyfenyl)difenylmethyl, *N*-9-fenylfiuorenyl, *N*-2,7-dichlor-9-fluorenylmethylen, *N*-ferrocenylmethyl, *N*-2-pikolyloamin-*N*'-oxid); deriváty iminu (*N*-1,1-dimethylthiomethylen, *N*-benzyliden, *N*-*p*-methoxybenzyliden, *N*-difenylmethylen, *N*-[(2-pyridyl)mesityl]methylen, *N*,(*N*',*N*'-dimethylaminomethylen, *N*,*N*'-izopropyliden, *N*-*p*-nitrobenzyliden, *N*-salicyliden, *N*-5-chlorsalicyliden, *N*-(5-chlor-2-hydroxyfenyl)fenylmethylen, *N*-cyklohexyliden); deriváty enaminu (*N*-(5,5-dimethyl-3-oxo-1-cyklohexenyl)); deriváty *N*-kovů (deriváty *N*-boranu, deriváty *N*-difenylborité kyseliny, *N*-[fenyl(pentakarbonylchromium- nebo -wolframium)]karbenyl, *N*-měďné nebo *N*-zinečnaté cheláty); *N*-*N* deriváty (*N*-nitro, *N*-nitroso, *N*-oxid); *N*-P deriváty (*N*-difenylfosfynyl, *N*-dimethylthiofosfynyl, *N*-difenylthiofosfynyl, *N*-dialkylfosforyl, *N*-dibenzylfosforyl, *N*-difenylfosforyl); *N*-Si deriváty; *N*-S deriváty; *N*-sulfenylderiváty (*N*-benzensulfenyl, *N*-*o*-nitrobenzensulfenyl, *N*-2,4-dinitrobenzensulfenyl, *N*-pentachlorbenzensulfenyl, *N*-2-nitro-4-methoxybenzensulfenyl, *N*-trifenylmethylsulfenyl, *N*-3-nitropyridinsulfenyl); a *N*-sulfonylderiváty

(*N-p*-toluensulfonyl, *N*-benzensulfonyl, *N*-2,3,6-trimethyl-4-methoxybenzensulfonyl,
N-2,4,6-trimethoxybenzensulfonyl, *N*-2,6-dimethyl-4-methoxybenzensulfonyl,
N-pentamethylbenzensulfonyl, *N*-2,3,5,6,-tetramethyl-4-methoxybenzensulfonyl,
N-4-methoxybenzensulfonyl, *N*-2,4,6-trimethylbenzensulfonyl, *N*-2,6-dimethoxy-4-
methylbenzensulfonyl, *N*-2,2,5,7,8-pentamethylchroman-6-sulfonyl, *N*-methansulfonyl,
N- β -trimethylsilyethansulfonyl, *N*-9-anthracensulfonyl, *N*-4-(4',8'-
dimethoxynaftylmethyl)benzensulfonyl, *N*-benzylsulfonyl, *N*-trifluormethylsulfonyl,
N-fenacylsulfonyl).

Typičtější amino chránicí skupiny zahrnují karbamáty a amidy, nejtypičtější *N*-acetylové skupiny.

Skupiny schopné biologického štěpení typicky zahrnují prekursory léčiv. Velké množství těchto skupin je popsáno v "Design of Prodrugs", Hans Bundgaard (Elsevier, N. Y., 1985, ISBN 0-444-80675-X) (Bundgaard) a nebude zde detailněji probíráno. Zejména Bungaard popisuje na stranách 1-92 prekursory léčiv a jejich biologické štěpení, které se týká velkého množství typů funkčních skupin. Prekursory léčiv pro karboxylové a hydroxylové skupiny jsou detailněji popsány u Bundgaarda na stranách 3 až 10, pro amidy, imidy a jiné NH-kyselé sloučeniny na stranách 10 až 27, pro aminy na stranách 27 až 43 a cyklická proléčiva na stranách 62 až 70. Tyto části jsou případně vázány na steroid v poloze jednoho, dvou nebo více substituentů R^1 - R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} a R^{18} .

Metabolity

Do rozsahu předloženého vynálezu spadají také *in vivo* metabolity sloučeniny podle vynálezu, pokud tyto produkty jsou nové a nezřejmé vůči dosavadnímu stavu techniky. Tyto produkty mohou být výsledkem např. oxidace, redukce, hydrolýzy, amidace, esterifikace a při podávání sloučeniny obecného vzorce (1) v důsledku enzymatických nebo chemických procesů. Proto předložený vynález zahrnuje nové a evidentně dosud neznámé sloučeniny připravené způsobem zahrnujícím kontakt sloučeniny podle předloženého vynálezu se subjektem, např. lidským subjektem, hlodavcem nebo primátem, po určitou dobu dostačující ke vzniku jejího metabolického produktu. Tyto produkty jsou typicky identifikovány přípravou sloučeniny podle předloženého vynálezu značené radioaktivním izotopem (např. ^{14}C , ^3H , ^{131}I , ^{32}P , ^{35}S nebo ^{99}Tc), parenterálně podány v detegovatelné dávce (např. větší než 0,5 mg/kg) zvířecímu subjektu, např. potkanům, myším, morčatům, primátům nebo lidským subjektům, nechány po dostatečně dlouhou dobu metabolizovat (typicky 30 sekund až 30 hodin) a poté jsou jejich produkty konverze izolovány z moče, krve nebo jiných biologických vzorků. Tyto produkty jsou snadno izolovány, poněvadž jsou značeny (další jsou izolovány pomocí protilátek schopných vázat epitopy zůstávající v metabolitu). Struktury metabolitů jsou stanoveny standardními způsoby, např. pomocí MS, HPLC nebo NMR. Obecně je analýza metabolitů provedena stejným způsobem jako dosud známé standardní analýzy metabolismu léčiv. Produkty konverze, pokud nejsou jinak zjištěny *in vivo*, jsou použitelné při diagnostických zkouškách terapeutických dávek sloučenin podle předloženého vynálezu, i když nemají samy o sobě terapeutickou aktivitu.

Formulace a přípravky

Aktivní složka(y) může být podávána samotně, nicméně obvykle se podává ve formě farmaceutických formulací. Formulace podle předloženého vynálezu pro veterinární i humánní použití zahrnují alespoň jednu aktivní složku, tzn. sloučeninu obecného vzorce (1), společně s jednou nebo více přijatelnými pomocnými látkami a případně jinými terapeutickými složkami.

Další aspekt provedení podle předloženého vynálezu zahrnuje přípravek obsahující jednu nebo více farmaceuticky přijatelných pomocných látek nebo nosičů. Jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1) (také označována jako aktivní složka(y)) je podávána jakýmkoliv vhodným způsobem za účelem ošetření určitého stavu. Vhodné způsoby pro bezvodé tekuté formulace a jiné formulace na bázi sloučeniny obecného vzorce (1) zahrnují perorální, rektální, nazální, místní (včetně bukalního a sublingválního), vaginální a parenterální (včetně subkutánního, intramuskulárního, intravenózního, intradermálního, intratekálního a epidurálního) podání. Obecně jsou bezvodé tekuté formulace podávány parenterálním způsobem.

V rámci dalšího provedení podle předloženého vynálezu, např. způsoby intermitentního dávkování podle předloženého vynálezu, může být sloučenina(y) obecného vzorce (1) ve formě bezvodé tekuté formulace, suchého pevné formulace, což je perorální, místní, parenterální formulace, nebo ve formě vodné tekuté formulace, která je používána parenterálně, perorálně nebo místně. Způsob podání bude záviset např. na patologickém stavu ošetřovaného subjektu, jeho váze nebo zpětné reakci na sloučeninu obecného vzorce (1) nebo jiných okolnostech příslušné terapie.

Formulace mají být vhodné pro výše uvedené způsoby podání. Přípravky také mohou být ve formě jednotkové dávky a mohou být připraveny jakýmkoliv způsoby používanými ve farmacii. Jednotlivé techniky, pomocné látky a formulace mohou být nalezeny např. v *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, PA 1985, 17th edition, Nema *et al.*, PDA, *J. Pharm. Sci. Tech.* 1997 51: 166-171. Způsoby přípravy formulace podle předloženého vynálezu zahrnují krok, ve kterém dochází ke kontaktu aktivní složky (složek) s pomocnou látkou (látkami). Obecně jsou formulace připraveny rovnoměrným a důkladným kontaktem aktivní složky s tekutými pomocnými látkami nebo jemně rozemletými, pevnými, pomocnými látkami nebo oběma, a poté, pokud je třeba, tvarováním produktu.

Formulace podle předloženého vynálezu vhodné pro perorální podání jsou připraveny jako oddělené jednotky, např. kapsle, kachety nebo tablety, přičemž každá obsahuje předem stanovené množství aktivní složky; jako prášky nebo granule; jako roztok nebo suspenze ve vodném nebo bezvodém roztoku; nebo jako tekuté emulze typu olej ve vodě nebo tekuté emulze typu voda ve oleji. Aktivní složka(y) mohou být také ve formě bolusu, lektvaru nebo pasty.

Tablety jsou vyrobeny lisováním případně s jednou nebo více doplňkovými pomocnými látkami. Lisované tablety mohou být vyrobeny ve vhodném lisování aktivní složky (složek) ve své sypké formě, např. prášek nebo granule, případně smíchané s pojivem, lubrikantem, inertním rozpouštědlem, konzervačním prostředkem, povrchově aktivním nebo dispergačním prostředkem. Lisované tablety mohou být vyrobeny ve vhodném stroji lisováním směsi aktivní složky (složek) rozetřené na prášek a zvlhčené interním tekutým rozpouštědlem. Tablety mohou být případně potaženy vrstvou a případně jsou vyrobeny tak, aby poskytovaly pomalé nebo regulované uvolňování aktivní složky (složek).

Při infekcích očí nebo jiných zevních tkání, např. úst nebo kůže, jsou formulace typicky podávány jako místní masti nebo krémy obsahující aktivní složku (složky) v množství např. 0,075 až 20 hmotn.% (včetně aktivní složky (složek) v rozmezí 0,1% až 20% v přírůstcích po 0,1 hmotn.%, např. 0,6 hmotn.%, 0,7 hmotn.%, atd.), často 0,2 až 15 hmotn.% a nejčastěji 0,5 až 10 hmotn.%. Pokud je vyráběna formulace ve formě masti, mohou být aktivní složky používány buď s parafinovým nebo s vodou mísitelný mast'ovým základem. Nebo mohou být aktivní složky vyrobeny ve formě krému s krémovým základem typu olej ve vodě.

Pokud je třeba, může vodná fáze krémového základu zahrnovat např. alespoň 30 hmotn.% vícemocného alkoholu, tzn. alkohol mající dvě nebo více hydroxylových skupin, např. propylenglykol, butan-1,3-diol, mannitol, sorbitol, glycerol a polyethylenglykol (včetně PEG 400) a jejich směsí. Formulace pro místní podání mohou vhodně zahrnovat sloučeninu, které zvyšuje absorpci nebo penetraci aktivní složky (složek) přes kůži nebo jiná postižená místa. Příklady takových dermálních zesilovačů (enhancer) penetrace zahrnují dimethylsulfoxid a příbuzná analoga.

Olejovitá fáze emulzí tohoto vynálezu může být známým způsobem složena ze známých pomocných látek. Zatímco fáze může obsahovat pouze emulgátor (jinak emulgent), vhodně zahrnuje směs alespoň jednoho emulgátoru s tukem nebo olejem nebo oběma. Hydrofilní emulgátory mohou být obsaženy společně s lipofilními emulgátory, které účinkují jako stabilizátory. Některá provedení zahrnují olej i tuk. Společně vytváří emulgátor(y) společně s nebo bez stabilizátoru(ů) takzvané emulgační vosky a vosk společně s olejem a tukem vytváří takzvaný emulgační mast'ový základ, který tvoří olejovitou dispergovanou fázi přípravku ve formě krému.

Emulgátory a stabilizátory emulze vhodné pro použití ve formulaci podle předloženého vynálezu zahrnují Tween60TM, Span80TM, cetostearylalkohol, benzylalkohol, myristylalkohol, glyceryl-monostearát a lauryl-sulfát sodný.

Výběr vhodných olejů nebo tuků pro formulaci záleží na dosažení požadovaných kosmetických vlastností. Krémy jsou obecně nemastné, nebarvicí a omyvatelné produkty s vhodnou konzistencí, aby bylo zamezeno úniku z tub nebo jiných obalů. Mohou být používány rozvětvené nebo nerozvětvené, mono- nebo dibazické alkylestery, např. di-izoadipát, izocetylsteárat, propylenglykoldiester mastných kyselin kokosu, izopropylmyristát, decyloleát, izopropylpalmitát, butylsteárat, 2-ethylhexylpalmitát nebo směs esterů s rozvětveným řetězcem známá jako Crodamol CAP. Tyto látky mohou být používány samotné nebo v kombinaci na základě požadovaných vlastností. Nebo mohou být používány také lipidy s vysokou teplotou tání, např. bílá vazelína a/nebo minerální olej nebo jiné minerální oleje.

Formulace vhodné pro místní podání do očí také zahrnují oční kapky, kde aktivní složka(y) je rozpuštěna nebo suspendována ve vhodné pomocné látce (látkách), zejména vodné rozpouštědlo aktivní složky (složek), které obsahuje jeden nebo více nábojů při neutrálním pH, např. pH 6-8. Aktivní složka(y) je v těchto formulacích typicky v koncentraci 0,5-20 hmotn.%, typicky 1-10 hmotn.%, často 2-5 hmotn.%.

Formulace vhodné pro místní podání pod jazyk zahrnují tabletky obsahující aktivní složku na aromatické bázi, obvykle sacharosa a arabská guma nebo traganth; pastilky obsahující aktivní složku(y) v inertní bázi, např. želatina a glycerin nebo sacharosa a arabská guma; a ústní vody obsahující aktivní složku ve vhodné tekuté pomocné látce (látkách).

Formulace pro rektální podání mohou být přítomny jako rektální čípek s vhodnou bází obsahující např. kakaový tuk nebo salicylát.

Formulace vhodné pro intrapulmonální nebo nazální podání mají velikost částic např. v rozmezí 0,01 až 500 mikronů (včetně průměrné velikosti částic v rozmezí 0,01 až 500 mikronů při 0,1 nebo jiném přírůstku, např. 0,05, 0,1, 0,5, 1, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4, 5, 5,0, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 25, 30, 35, 50, 75, 100, atd. mikronů) a je podáván rychlou inhalací přes jazyk tak, aby dosáhl plicní alveoly. Vhodné jemně rozmělněné přípravky zahrnují vodné nebo olejovité roztoky nebo suspenze aktivní složky (složek). Formulace vhodné pro aerosolové podání a podání ve formě suchého prášku nebo tablet mohou být připraveny standardními způsoby a mohou být podávány s dalšími terapeutickými agens,

např. sloučeniny dříve používané při ošetření nebo profylaxi virových nebo jiných infekcí, jak je popsáno v předloženém vynálezu. Tyto formulace mohou být podávány, např. perorálně, parenterálně (i.v., i.m., s.c.), místně nebo bukálně.

Formulace vhodné pro vaginální podání mohou být ve formě pesarů, tampónů, krémů, gelů, past, pěn nebo sprejů obsahujících kromě aktivních složky (složek), např. vhodné pomocné látky.

Formulace vhodné pro parenterální podání zahrnují vodné a bezvodé sterilní injekční roztoky, které mohou obsahovat antioxidanty, pufry, bakteriostatika a soluty, které činí přípravek izotonický vzhledem ke krvi zamýšleného recipienta; a vodné nebo bezvodé sterilní suspenze, které mohou zahrnovat suspenzační a zahušťovací prostředky.

Formulace jsou ve formě obalů pro jednotkové dávky nebo obalů na více dávek, např. uzavřené ampule a lékovky, a mohou být skladovány za sublimačních (lyofilizace) podmínek vyžadujících pouze přidání sterilní tekuté pomocné látky, např. vody pro injekci, přímo před použitím. Injekční roztoky a suspenze připravující se v čas potřeby jsou vyrobeny ze sterilních prášků, granulí a tablet výše popsaného typu. Formulace jednotkových dávek jsou ty, které obsahují denní dávku nebo jednotkovou denní subdávku, jak je uvedeno v předloženém vynálezu, nebo její příslušný podíl, aktivní složky (složek).

Mělo by být zřejmé, že kromě složek podrobně popsaných výše, mohou formulace tohoto vynálezu zahrnovat jiné standardní agens nebo pomocné látky s ohledem na typ dotyčného přípravku např. přípravky vhodné pro perorální podání mohou zahrnovat chuťové přísady.

Vynález dále zahrnuje přípravky pro veterinární použití obsahující alespoň jednu výše definovanou aktivní složku společně s její pomocnou látkou (látkami) vhodnou pro veterinární použití. Pomocné látky vhodné pro veterinární použití jsou materiály použitelné pro účely podání přípravku a mohou to být pevné, tekuté nebo plynné materiály, které jsou jinak inertní nebo přijatelné při veterinárním použití a jsou slučitelné s aktivní složkou (složkami). Tyto přípravky vhodné pro veterinární použití mohou být podávány perorálně, parenterálně nebo jakýmkoliv jiným požadovaným způsobem.

Formulace podle předloženého vynálezu zahrnují farmaceutické formulace s regulovaným uvolňováním obsahující aktivní složku(y) („přípravky s regulovaným uvolňováním“), ve kterých je uvolňování aktivní složky (složek) řízeno a regulováno, aby se snížila frekvence dávkování nebo zlepšila farmakokinetický nebo toxický profil dané aktivní složky (složek).

Účinná dávka aktivní složky (složek) závisí alespoň na charakteru stavu, který je ošetřován, toxicitě, zdali je sloučenina(y) používána profylakticky (nižší dávky) nebo proti aktivní infekci nebo stavu, způsobu podání a farmaceutické formulaci. Účinná dávka bude stanovena ošetřujícím lékařem na základě standardních technik. Lze předpokládat, že dávka se bude pohybovat v rozmezí od 0,05 až 30 mg/kg tělesné váhy denně. Například při místním podání se bude denní potenciální dávka pro dospělého člověka vážícího přibližně 70 kg pohybovat v rozmezí 1 mg až 500 mg, obecně mezi 5 až 40 mg, a může mít formu jednorázové nebo mnohočetných dávek nebo aplikačních míst.

Provedení zahrnují formulace, která obsahují lipozómy nebo lipidové komplexy, jenž obsahují sloučeninu(y) obecného vzorce (1), např. BrEA, nebo její ester, karbamát, karbonát, aminokyselinu nebo peptid. Tyto formulace jsou připraveny známými způsoby, např. popsány v patentech US 4427649, 5043165, 5714163, 5744158, 5783211, 5795589, 5795987, 5798348, 5811118, 5820848, 5834016 a 5882678. Lipozómy případně obsahují další terapeutická agens, např. amfotericin B, cis-platin, adriamycin, inhibitory proteasy, analoga nukleosidů nebo nukleotidů, např. některé z výše uvedených. Formulace, které obsahují lipozómy mohou být podány subjektu jakýmkoliv standardním způsobem, např. perorálně, parenterálně nebo ve formě aerosolu (např. s.c., i.v. nebo i.m.).

Terapeutické aplikace

Sloučeniny obecného vzorce (1) nebo biologicky aktivní látky vznikající z těchto sloučenin hydrolýzou nebo metabolismem *in vivo* mají několi klinických a neklinických aplikací. Sloučeniny jsou obecně použitelné ke zvýšení Th1 imunitní odpovědi nebo k redukci Th2 imunitních odpovědí. Odkazy na Th1 nebo Th2 imunitní odpovědi, jak jsou používány v předloženém vynálezu, označují odpovědi obecně pozorované u savců a nikoliv odpovědi pozorované u myší, u kterých byla tato terminologie původně použita. Tudiž u lidských subjektů Th1 buňky přednostně vykazují receptory chemokinů CXCR3 a CCR5, zatímco Th2 buňky přednostně exprimují CCR4 molekulu a menší množství CCR3 molekuly.

Aspekty předloženého vynálezu zahrnují přípravky, které obsahují určité množství alespoň jedné sloučeniny obecného vzorce (1) účinné ke zvýšení relativního podílu požadované podskupiny imunitních buněk, např. CD4⁺ T-buněk, NK-buněk nebo dendritických buněk, nebo k modulaci jedné nebo více funkcí podskupin imunitních

buněk, a farmaceuticky přijatelný nosič. Typická imunitní modulace se zaměřuje na modulaci exprese genu(ů), které zesilují Th1 imunitní odpovědi nebo redukují Th2 imunitní odpovědi. Funkce, které sloučeniny obecného vzorce (1) ovlivňují, zahrnují expresi CD molekul nebo změnu podílu podskupin buněk, např. $CD4^+$ nebo $CD8^+$ T-buněk, nebo jejich relativního počtu v krvi nebo tkáni subjektu. CD molekuly participují při činnosti různých podskupin imunitních buněk a mohou být použitelné jako markery pro imunitní funkci *in vivo*. V některých aspektech sloučeniny obecného vzorce (1) aktivují imunitní buňky, jenž obecně mění (zvyšují nebo snižují) expresi nebo změny množství buněk, které exprimují kombinace CD4, CD6, CD8, CD25, CD27, CD28, CD30, CD38, CD39, CD43, CD45RA, CD45RO, CD62L, CD69, CD71, CD90 nebo HLA-DR molekul. Často množství buněk, které exprimují tyto molekuly, je zvýšeno, např. CD25, CD 16 nebo CD69. Typicky jsou tato zvýšení pozorována jako zvýšení podílu cirkulujících bílých krvinek, které exprimují jednu nebo více těchto molekul. V některých případech množství takových molekul na buňku je detegovatelně pozměněno.

Expresi jednoho nebo více adhezivních molekul CD2, CD5, CD8, CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD29, CD31, CD44, CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD49e, CD49f, CD50, CD54, CD58, CD103 nebo CD104 je také detegovatelně ovlivněno po podání sloučenin obecného vzorce (1) subjektu. Často je množství buněk, které exprimují tyto molekuly, zvýšeno, např. CD5 nebo CD56. Adhezivní molekuly působí v různých aspektech imunitních odpovědí, např. vazbě na MHC molekuly třídy I, signální transdukce mezi buňkami nebo vazbě na molekuly v extracelulární matrici asociované s endoteliálními nebo jinými typy buněk. Podání sloučenin obecného vzorce (1) subjektu také ovlivňuje množství určitých podskupin imunitních buněk, např. NK buňky (např. $CD8^-$, $CD56^+$ nebo $CD8^+$, $CD56^+$) nebo lymfokinem aktivované K-buňky (LAK). Typicky je pozorována zvýšená cirkulace NK nebo LAK-buněk, která se odrazí ve zvýšeném množství buněk, jenž exprimují jednu nebo více CD16, CD38, CD56, CD57 nebo CD94. Také je pozorováno zvýšené množství cirkulujících prekursorů dendritických buněk, což se projevuje zvýšením buněk, které exprimují jednu nebo více CD11c, CD80, CD83, CD106 nebo CD123. Ačkoliv lze pozorovat zvýšený podíl cirkulujících bílých krvinek, které exprimují jednu nebo více z těchto molekul, v některých případech je množství těchto molekul na buňku detegovatelně pozměněno. Množství buněk a hustota CD molekuly na buňku může být detegovatelně modulována. Modulace podskupin imunitních buněk se typicky vyskytují při režimu intermitentního dávkování sloučeniny obecného vzorce (1).

Expres jedného nebo více naváděcích („homing“) receptorů, např. CD62L, může být také detegovatelně ovlivněna po podání sloučenin obecného vzorce (1) subjektu. Často množství buněk, které exprimují tyto molekuly je zvýšeno, např. CD62L.

Jiné CD molekuly, které jsou modulovány přítomností sloučenin obecného vzorce (1) v subjektu, zahrnují molekuly receptoru cytokinu, např. CD115, CDW116, CD117, CD118, CDW119, CD120a, CD120b, CD121a, CD121b, CD122, CD123, CD124, CD125, CD126, CDW127, CDW128 nebo CDW130. Často bude množství molekul receptoru na buňku modulováno. Například počet receptorů pro cytokiny, které zprostředkovávají Th1 imunitní odpovědi (např. IL-2, γ IFN) bude typicky zvýšen u buněk, které zprostředkovávají Th1 imunitní odpovědi. Modulace těchto molekul může být přímá interakcemi s receptorem(y) v buňkách, které exprimují receptor cytokinu, nebo nepřímá modulací syntézy cytokinu v ovlivněných buňkách nebo v jiných buňkách, typicky imunitních buňkách, které mohou interagovat s buňkami, jejichž syntéza receptoru je modulována.

Ošetření subjektu sloučeninou obecného vzorce (1) může vést ke změně alespoň 25-50% nad nebo pod (např. alespoň 30% nebo alespoň 40% nad nebo pod) kontrolní nebo základní hladinu některých podskupin imunitních buněk. Například více než 30% nárůst celkového počtu aktivovaných $CD8^+$ T-buněk, např. $CD8^+$, $CD69^+$, $CD25^+$ T-buněk, $CD8^+$, $CD69^+$, $CD25^-$ T-buněk nebo $CD8^+$, $CD69^-$, $CD25^+$ T-buněk, se obvykle objevuje 7 dní po podání jednorázové dávky sloučeniny obecného vzorce (1) subjektu. Tyto přírůstky mohou být větší než 50 %, 60% nebo 100% celkového počtu aktivovaných $CD8^+$ T-buněk nebo podskupiny aktivovaných $CD8^+$ T-buněk u jednotlivých subjektů. Typicky se tyto přírůstky celkového počtu aktivovaných $CD8^+$ T-buněk nebo podskupin aktivovaných $CD8^+$ T-buněk pohybují průměrně mezi 30-40% s individuálními zkušenostními přírůstky více než 100% počtu aktivovaných $CD8^+$ T-buněk na jednotkový krevní objem v porovnání se základní hladinou.

Podání sloučenin obecného vzorce (1) může ovlivnit jiné podskupiny imunitních buněk. Například koncentrace cirkulujících $CD4^+$, $CD69^+$, $CD25^-$ (Th1 pomocných buněk) a $CD8^+$, $CD16^+$, $CD38^+$ LAK-buněk nebo $CD8^-$, $CD16^+$, $CD38^+$ LAK-buněk se typicky zvyšuje během nebo po dávkování sloučeniny obecného vzorce (1). Také $CD8^-$, $CD16^+$, $CD38^+$ a $CD8^+$, $CD16^+$, $CD38^+$ (ADCC efektorové buňky) a s nižším bočním rozptylem Lin^- , DR^+ , $CD123^+$ (dendritické prekurzory) nebo s nižším bočním rozptylem Lin^- , DR^+ ,

CD11c⁺ (dendritické buňky nebo prekurzory) mohou vykazovat mírné až výrazné přírůstky.

Subjekty, u kterých došlo k imunosupresci, např. důsledkem infekce (např. virovou (HIV, HCV), bakteriální infekcí nebo infekcí parazitem) nebo chemoterapií (např. antivirovou terapií, rakovinovou chemoterapií nebo radioterapií), má podání sloučenin obecného vzorce (1) vede k příznivé změně rovnováhy Th1 nebo Th2 odpovědí. Pokud jsou Th1 odpovědi suboptimální nebo nedostatečné, vede ošetření sloučeninou obecného vzorce (1) ke zvýšení Th1 odpovědí nebo redukci Th2 odpovědí. A opačně, pokud jsou Th2 odpovědi suboptimální nebo nedostatečné, vede ošetření sloučeninou obecného vzorce (1) ke zvýšení Th2 odpovědí nebo redukci Th1 odpovědí. Sloučeniny obecného vzorce (1) tak mohou být používány ke změně charakteru imunitních odpovědí subjektu, aby se vyrovnaly imunitní odpovědi při imunosupresci. Nebo mohou sloučeniny selektivně potlačovat nepřiměřené nebo nežádoucí imunitní odpovědi. Zvýšené Th1 odpovědi se vyskytují alespoň částečně díky jedné nebo více z následujících vlastností: (i) snížení biologické obrany, např. vysoké hladiny IL-4 nebo IL-10, vůči Th1 funkcím preexistujících primárně imunizovaných Th1 efektorových buněk, (ii) zvýšení diferenciace Th0 buněk na Th1 buňky nebo zvýšení odpovědí zprostředkovaných Th1 buňkami, (iii) zvýšení funkce průvodních buněčných funkcí, např. předávání antigenu prekurzory dendritických buněk nebo makrofágy, (iv) zvýšení proliferace a diferenciace Th1 prekurzoru nebo progenitorních buněk, (v) zvýšení exprese IL-12 v dendritických buňkách nebo jejich prekurzorech, což má za následek zvýšení diferenciace Th1 buněk od Th0 prekurzorů, (vi) zvýšení exprese nebo aktivity faktorů souvisejících s Th1 funkcemi, např. IL-2, gama interferon (γ IFN) nebo lymfotoxin.

Aspekty způsobů podle předloženého vynálezu zahrnuje změnu exprese IL-4 nebo IL-10, která se vyskytuje po podání sloučeniny obecného vzorce (1), např. BrEA, subjektu. Bylo konzistentně pozorováno, že extracelulární hladiny IL-4 nebo IL-10 rychle se rychle snižují na úroveň, která není detegovatelná technikou ELISA. Intracelulární hladiny IL-10 jsou redukovány na hladiny, které jsou skoro nebo níže než meze detekce proudové cytometrie. Podání sloučeniny obecného vzorce (1) subjektu tudíž poskytuje prostředky k inhibici jednoho nebo obou těchto interleukinů. Tato inhibice může být spojena se zvýšením Th1 imunitních odpovědí vzhledem k Th2 nebo Th0 odpovědím, např. subjekty, u kterých jsou Th1 odpovědi potlačeny (např. v důsledku virové, bakteriální infekce nebo infekce parazitem (HIV, HCV, atd.) nebo chemoterapií) nebo jsou jinak suboptimální. U

mnoha subjektů jsou hladiny buď IL-4 anebo IL-10, obvykle IL-10, před podáním sloučeniny obecného vzorce (1) nízké nebo nedetegovatelné. U takových subjektů má podání sloučeniny obecného vzorce (1) k rapidnímu poklesu interleukinu, který je detegovatelný, obvykle IL-4.

V některých provedení je sloučenina(y) obecného vzorce (1) podávána subjektu trpícímu infekcí patogenem, např. infekce virem, bakteriální infekcí nebo infekcí parazitem. Sloučenina obecného vzorce (1) by mohla být používána na široké spektrum infekcí (viz např. J. B. Peter, editor, *Use and Interpretation of Laboratory Tests in Infectious Disease*, 5th edition, Specialty Laboratories, Santa Monica, CA 90404, 1998, str. 1-271), poněvadž obecně zvyšuje Th1 imunitní odpovědi a/nebo redukuje Th2 imunitní odpovědi. Potíže při ošetření některých infekcí, např. progresivní toxoplazmická encefalitida, malárie, tuberkulóza, leishmanióza a schistosomiáza, jsou často spojeny s nežádoucími Th2 imunitními odpověďmi. Typicky jsou nežádoucí Th2 imunitní odpovědi spojeny s nebo způsobeny zvýšenou expresí jednoho nebo více cytokinů nebo interleukinů, např. IL-4 a IL-10. Podání sloučeniny obecného vzorce (1) nebo jiné uvedené sloučeniny bude obecně redukovat expresi jednoho nebo více cytokinů nebo interleukinů spojených s Th2 imunitními odpověďmi. A zároveň sloučeniny podle předloženého vynálezu zvyšují expresi jednoho nebo více cytokinů nebo interleukinů spojených s Th1 imunitními odpověďmi. Vzhledem k jejich schopnostem modulovat Th1 a Th2 imunitní odpovědi jsou sloučeniny podle předloženého vynálezu použitelné při různých klinických stavech, např. infekci, imunosupresi nebo rakovině, kde je potřeba zvýšit Th1 imunitní odpovědi. Například při diseminované nebo difuzní tuberkulóze by mohlo být žádoucí umožnit pacientovi zpomalit progresi onemocnění nebo účinněji vypudit infikované buňky.

Aspekt předloženého vynálezu provedení, ve kterých sloučenina obecného vzorce (1) a inhibitor glutathionreduktasy, např. buthathionsulfoximin [$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_3-\text{S}(=\text{O})(=\text{NH})-(\text{CH}_2)_2-\text{CHNH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{OH}$], jsou podávány subjektu při léčení infekcí, např. infekce parazitem, např. malárie, *Toxoplasma*, *Cryptosporidium*, nebo k léčení rakoviny nebo zhoubného bujení. Snížení přívodu dodání redukovaného glutathionu může zvýšit fagocytózu makrofágem, možná díky zvýšenému oxidačnímu poškození v infikovaných buňkách nebo při nahrazování maligních buněk. Nebo použití inhibitoru glutathionreduktasy může vést k zlepšenému rozpoznání infikovaných nebo maligních buněk imunitním systémem. Sloučenina obecného vzorce (1), např. BrEA, a buthathionsulfoximin jsou používány např. ke zvýšení clearance „kruhového stádia“

malárie od infikovaných buněk nebo ke zvýšení rozpoznávání maligních buněk imunitním systémem v porovnání s použitím samotné sloučeniny obecného vzorce (1). Infekce a zhoubná bujení, kde jsou tato provedení aplikována, jsou popsána v předloženém vynálezu.

Další aspekt předloženého vynálezu zahrnuje použití sloučeniny obecného vzorce (1) a flavonoidu, např. naraginový flavonoid, ke zvýšení biologické dostupnosti sloučeniny obecného vzorce (1). V těchto provedeních je účinné množství flavonoidu podáváno subjektu současně s podáním sloučeniny obecného vzorce (1). Typicky je subjektu podáváno 1-10 mg flavonoidu na kg tělesné váhy, např. bavachinin A, didymin (izosakuranetin-7-rutinosid nebo neoponcirin), flavanomorein (izookanin-7-glukosid), flavanon-azin, flavanon-diacetylhydrazon, flavanon-hydrazon, silybin, silychristin, izosilybin nebo silandrin. Flavonoidní sloučenina je typicky podávána společně se sloučeninou obecného vzorce (1) nebo několik hodin, např. 1, 2 nebo 3 hodiny, před podáním sloučeniny obecného vzorce (1) subjektu.

Formulace na bázi lipozómů mohou být používány ke zvýšení dostupnosti sloučenin(y) obecného vzorce (1) do určitých typů buněk, např. nádorových buněk (viz např. patent US č. 5714163) nebo do buněk retikuloendoteliálního systému („RES“). RES zahrnuje makrofágy, mononukleární fagocytární buňky, buňky výstelky sleziny, lymfatických uzlin a kostní dřeně a fibroblastických retikulárních buněk hematopoetických tkání. Obecně jsou RES buňky fagocytární a jsou objektem pro cílené *in vitro* nebo *in vivo* podání sloučenin(y) obecného vzorce (1) pomocí lipozómů nebo jiných přípravků nebo formulací. Tudíž lze podávat sloučeninu obecného vzorce (1) do neoplazmy, která je odvozena od retikuloendoteliální tkáně (retikuloendoteliom). Lipozómy mohou také případně obsahovat peptid z infekčního agens, např. z parazita malárie. Peptidy mohou usnadňovat tvorbu molekul MHC třídy II a odpovědí B-buněk.

Vakcinace

Sloučeniny uvedené v předloženém vynálezu mohou být také používány jako vakcinační adjuvans při vakcinaci imunogeny nebo komponentami imunogenních přípravků k přípravě protilátek schopných specifické vazby na sloučeniny obecného vzorce (1), na jejich metabolické produkty, které zachovávají imunologicky rozpoznatelné epitopy (místa pro vazbu protilátky) nebo k standardizaci antigenů, proti kterým jsou používány, např. infekčním agens nebo maligním buňkám. Z tohoto důvodu jsou imunogenní

přípravky použitelné jako meziprodukty při přípravě protilátek, které se vážou na sloučeniny obecného vzorce (1), např. v diagnostice, kontrole kvality, atp., metodách nebo testech sloučenin nebo jejich nových metabolických produktů. Navíc jsou sloučeniny použitelné při vyvolávání protilátek proti jinak neimunogenním polypeptidům, poněvadž sloučeniny mohou sloužit jako hapténická místa stimulující imunitní odpověď.

Příslušné produkty hydrolýzy zahrnují produkty hydrolýzy výše uvedených chráněných kyselých nebo bazických skupin. V některých provedeních jsou jako imunogeny použitelné kyselé nebo bazické amidy zahrnující imunogenní polypeptidy, např. albumin, hemocyanin kuželnatky a jiné uvedené níže, které jsou obecně použitelné jako imunogeny. Výše popsané metabolické produkty si mohou ponechávat značný stupeň imunologické zkřížené reaktivity se sloučeninami podle předloženého vynálezu. Například protilátky podle předloženého vynálezu budou schopné vazby na nechráněné sloučeniny podle vynálezu bez vazby na chráněné sloučeniny; nebo metabolické produkty budou schopné vazby na chráněné sloučeniny a/nebo metabolické produkty bez vazby na chráněné sloučeniny podle vynálezu nebo budou schopné specifické vazby na kteroukoliv nebo všechny z těchto skupin. Je žádoucí, aby protilátky podstatně zkříženě nereagovaly s přírodními látkami. Podstatná zkřížená reaktivita je reaktivita za konkrétních testovacích podmínek, postačujících k interferenci konkrétních analytů s výsledky testu.

Imunogeny podle předloženého vynálezu zahrnují sloučeninu podle předloženého vynálezu vykazující požadovaný epitop ve spojení s imunogenní látkou. V kontextu předloženého vynálezu znamená toto spojení kovalentní vazbu za vzniku imunogenního konjugátu (vyskytuje-li se) nebo směs nekovalentně vázaných látek nebo kombinaci výše zmíněných. Imunogenní látky zahrnují adjuvantia, např. Freundovo adjuvans, imunogenní proteiny, např. virové, bakteriální, kvasinkové, rostlinné nebo zvířecí polypeptidy, zejména hemocyanin kuželnatky, sérumalbumin, bovinní thyreoglobulin nebo sojový inhibitor trypsinu a imunogenní polysacharidy. Typicky je sloučenina mající strukturu požadovaného epitopu kovalentně konjugována na imunogenní polypeptid nebo polysacharid použitím polyfunkčních (běžně bifunkčních) zesíťovadel. Způsoby přípravy hapténových imunogenů jsou obecně známy. Pro konjugaci hapténů na imunogenní polypeptidy apod. podle vynálezu jsou vhodné jakékoliv doposud používané způsoby konjugace s ohledem na funkční skupiny na prekurzorech nebo hydrolytických produktech, které jsou dostupné pro zesíťování, a pravděpodobnost tvorby specifických protilátek na dotýčný epitop na rozdíl od imunogenní látky.

Typicky je polypeptid konjugován do místa na sloučenině podle předloženého vynálezu vzdáleného od epitopu, který má být rozpoznán.

Konjugáty jsou připraveny standardním způsobem. Například zesíťovadla *N*-hydroxysukcinimid, anhydrid kyseliny jantarové nebo C_{2-8} alkyl-N=C=N- C_{2-8} alkylová skupina jsou použitelné při přípravě konjugátů tohoto vynálezu. Konjugáty zahrnují sloučeninu podle předloženého vynálezu připojenou vazbou nebo spojovací skupinou mající 1-100, typicky 1-25, typičtěji 1-10 atomů uhlíku na imunogenní látku. Konjugáty jsou separovány od výchozích látek a vedlejších produktů chromatografií, poté jsou za sterilní podmínek filtrovány a nalévány do nádob pro skladování. Byly popsány syntetické metody k přípravě imunogenů nesoucích haptenu např. G. T. Hermanson, *Bioconjugate Techniques Academic Press*, 1996, 419-493.

Sloučeniny tohoto vynálezu jsou zesíťovány např. pomocí jedné nebo více z následujících skupin: hydroxylové skupiny, karboxylové skupiny, atomu uhlíku nebo aminu. Do této skupiny patří také amidy polypeptidů, kde polypeptidy slouží jako výše zmíněné chránicí skupiny.

Zvířata jsou typicky imunizována proti imunogenním konjugátům nebo derivátům a antiséra nebo monoklonální protilátky jsou přípravy standardními způsoby.

V provedeních, kde sloučeniny obecného vzorce (1) jsou používány jako adjuvans ke zvýšení imunitní odpovědi subjektu na antigeny, např. proteiny, peptidy nebo viry nebo buněčné formulace, je sloučenina obecného vzorce (1) podávána současně s aplikovaným antigenem subjektu, např. v rozmezí 7 dnů, kdy je antigen podáván subjektu. V některých provedeních je sloučenina obecného vzorce (1) podávána 1, 2, 3 nebo 4 dny před aplikací antigenu subjektu. V jiných provedeních je sloučenina obecného vzorce (1) podána ve stejný den jako antigen je podán subjektu. V některých provedeních je sloučenina obecného vzorce (1) podávána 1, 2 nebo 3 dny po aplikaci antigenu subjektu. Sloučenina obecného vzorce (1) může být podávána subjektu pomocí jakýchkoliv formulací nebo způsobů podání zmíněných výše nebo v citovaných odkazech. Aspekty předloženého vynálezu zahrnují přípravky nebo formulace, které obsahují sloučeninu obecného vzorce (1), jeden nebo více pomocných látek a antigen nebo preparát antigenu, např. porušené buňky nebo viry nebo např. oslabené viry nebo DNA vakcínu.

Související provedení obsahují způsob zahrnující podání nebo podání do tkáně (např. savec, např. lidský subjekt nebo primát) účinného množství sloučeniny obecného vzorce (1) a specifického antigenu subjektu. Tyto způsoby jsou účinné ke zvýšení

imunitních odpovědí subjektu na antigen. Imunitní odpovědi, které jsou zvýšeny, zahrnují mukózní imunitní odpovědi na antigen, např. protein, peptid, polysacharid, mikroorganismus, nádorový buněčný extrakt nebo letálně ozářený nádor nebo patogenní buňky (např. antigeny nebo buňky melanomu, renální buněčný karcinom, karcinom prsou, prostaty, benigní hypertrofie prostaty, vir nebo bakterie nebo jiný nádor nebo patogen popsáný v předloženém vynálezu). Aspekty těchto provedení zahrnují zvýšení imunitních odpovědí subjektu, kdy antigen nebo imunogen je podáván intranazálně nebo perorálně. V těchto aspektech je sloučenina obecného vzorce (1) podávána současně s antigenem nebo v rozmezí 3-72 hodin aplikace antigenu. Použití agens s imunomodulačními schopnostmi ke zvýšení imunitních odpovědí na vakcinu již bylo popsáno např. v patentu US 5518725.

Jiná použití sloučenin(y) obecného vzorce (1) zahrnují podání sloučenin(y) subjektu, který trpí patologickým stavem(y). Ošetření může léčit nebo zlepšit původ stavu a/nebo symptomů spojených s patologickým stavem(y), např. infekce patogenem(y) (viry, bakterie, houby), zhoubné bujení, nežádoucí imunitní odpovědi, tzn. imunitní odpovědi, které způsobují patologické stav a/nebo symptomy, např. autoimunní choroba nebo alergie nebo onemocnění, např. hypoproliferaci, např. normální nebo porušený růst tkáně, nebo léčení poranění nebo popálenin, nebo při imunosupresi, např. onemocnění charakteristických absencí potřebných odpovědí a/nebo neadekvátním stupněm potřebných odpovědí.

Mnoho rakovin nebo zhoubných bujení je spojeno s nežádoucími Th2 imunitními odpověďmi nebo deficitem Th1 odpovědí. Nedostačující Th1 imunitní odpovědi mohou hrát roli při schopnosti maligních buněk uniknout imunitní kontrole. Tato onemocnění zahrnují nemalobuněčný plicní karcinom, bronchogenní karcinom, rakovinu renálních buněk nebo karcinom, lymfom, gliom, melanom, pankreatický nebo gastrický adenokarcinom, lidský papilomavir související s cervikální intraepiteliální neoplazií, karcinom děložního krčku, jaterní adenom nebo kožní lymfom T-buněk (mykóza fungoides, Sezary syndrom).

V některých z těchto provedení může být hyperproliferace nebo zhoubný nádor subjektu souviset s jedním nebo více patogeny. Například hepatocelulární karcinom související s HCV nebo HBV, Kaposiho sarkom souvisejícím s HIV-1 nebo HIV-2, leukémie T-buněk související s HTLV I, Burkittův lymfom související s virem Epstein-Barrové nebo papilomem nebo karcinomem souvisejícím s papilomaviry (HPV 6, HPV 11,

HPV 16, HPV 18, HPV 31, HPV 45) nebo gastrický adenokarcinom nebo gastrický MALT lymfom související s infekcí *Helicobacter pylori*. V dalších provedeních je sloučenina(y) obecného vzorce (1) podávána subjektu trpícímu hyperproliferací, u které není předpoklad, že by souvisela s patogenem, např. melanomem, karcinomem, prekarcinomem vznikajícím v krku, jícnu, žaludku, tenkém a tlustém střevu, vaječníku, plicích, prsou nebo centrálním nervovém systému.

V názorných provedeních jsou lidské subjekty, které trpí melanomem nebo prekurzorovou lézí melanomu, ošetřeny formulací na bázi krému pro místní podání obsahující 2-20 hmotn.% BrEA. Krém je aplikován do primární nevi (dysplastické nevi nebo běžně získané nevi), primárního kožního melanomu, sekundárního kožního melanomu a kůže obklopující nevi nebo melanomy. Místa, která mají být ošetřena, jsou před aplikací krému, pokud je to praktické, omyta mýdlem nebo setřena alkoholem (např. ethanol nebo izopropanol). Asi 0,1-0,4 g krému, v závislosti na velikosti ošetřovaného místa, je aplikováno jednou nebo dvakrát denně na ošetřované místo nebo lézi po dobu asi 10-20 dnů. Před obnovením normální aktivity subjektu se krém nechá v klidu působit na aplikovaném místě po dobu 15-30 minut. Progrese nevi a melanomů je zpomalována u větší pacientů a u některých lézí je pozorována signifikantní regrese. Následuje počáteční ošetření, kdy formulace je aplikována každý druhý den po dobu alespoň 1 až 4 měsíců stejným dávkovacím režimem, který byl popsán pro počáteční kolo ošetření. Tato skupina pacientů je případně podrobena standardní terapii k léčbě prekurzorové léze nebo melanomu, např. dimethyltriazenoimidazolkarboxamid nebo nitrosomočovina (např. BCNU, CCNU), nebo v tomto léčení je pokračováno podle doporučení ošetřujícího lékaře a se souhlasem pacienta. V případech, kde nádor nebo prekurzorová léze je chirurgicky odstraněna a místo bylo dostatečně ošetřeno, se případně pokračuje v ošetření pacienta místní formulací v dané oblasti postižení a přiléhajících míst každý druhý den alespoň 1 až 4 měsíce. V některých z těchto provedení je sloučenina(y) obecného vzorce (1) aplikována denně kontinuálně jako perorální přípravek nebo formulace, např. sloučenina(y) obecného vzorce (1), která je sama o sobě nová. BrEA je případně také aplikován soustavně pomocí např. formulace popsané v příkladech níže k podání 1-5 mg/kg/den každý druhý den po dobu 1 týdne až 4 měsíců, např. v případech maligního melanomu.

Nedostatečné Th1 imunitní odpovědi jsou často spojeny s infekcí virem. Virové infekce mohou vznikat v důsledku DNA nebo RNA virů, např. herpesviry, hepadnaviry, adnoviry, retroviry, togaviry, alfaviry, arboviry, flaviviry, rinoviry, papilomaviry a/nebo

pestiviry. Typické viry byly popsány např. v B. N. Fields, *et al.*, editors, *Fundamental Virology*, 3rd edition, 1996, Lippencott-Raven Publishers, viz kapitola 2 na str. 23-57, včetně tabulky 4 na str. 26-27, tabulky 5 na str. 28-29, kapitola 17 na str. 523-539, kapitola 26-27 na str. 763-916, kapitola 32 na str. 1043-1108 a kapitola 35 na str. 1199-1233. Termín „retroviry“, jak je používán zde, zahrnuje lidské a zvířecí viry, např. HIV-1, HIV-2, LAV, virus I lidské leukémie T-buněk ("HTLV I"), HTLV II, HTLV III, SIV, SHIV, FIV, FeLV. Další viry, včetně jejich genoskupin, obalů, izolátů, kmenů atd., které mohou etablovat infekci virem, zahrnují virus lidské hepatitidy C ("HCV"), virus lidské hepatitidy B ("HBV"), virus lidské hepatitidy A ("HAV"), virus kachní hepatitidy, virus svišťové hepatitidy, lidský ("HPV", např. HPV 6, HPV 11, HPV 16, HPV 18, HPV 31, HPV 45) nebo zvířecí papilomavir, Poliovir, virus 1 Herpes simplex ("HSV-1"), virus 2 Herpes simplex ("HSV-2"), lidský herpesvirus 6 ("HHV-6"), lidský herpesvirus 8 ("HHV-8"), virus horečky dengue (typy 1-4), vir západní encefalitidy koní, virus japonské encefalitidy koní, virus žluté zimnice a virus bovinní virové diarey.

Další onemocnění zahrnující imunitní nerovnováhu nebo přebytek Th2 imunitních odpovědí, jsou autoimunní poruchy, např. SLE (systémový lupus erythematosus), osteroporóza, roztroušená skleróza, těžká myastenie, Gravesovo onemocnění, vředovitá dermatitida související s roztoči, revmatoidní artritida a osteoartritida. Přebytek Th2 imunitních odpovědí je také spojen s nežádoucími symptomy nebo patologickým stavem, např. únava, bolest, horečka nebo zvýšený výskyt infekcí, který souvisí se stárnutím, alergií a záněty, např. alergická bronchopulmonární aspergilóza u pacientů s cystickou fibrózou, atopické astma, alergické respirační onemocnění, alergická rinitida, atopická dermatitida, subepiteliální fibróza při hypersenzitivitě dýchacích cest, chronická sinusitida, pereniální alergická rinitida, Chronovo onemocnění (místní enteritida), ulcerativní kolitida, zánětlivé onemocnění střev, fibrotická alveolitida (fibróza plic).

Další klinické indikace, které mají souvislost nebo mají symptom(y), které jsou v souladu s přebytkem Th2 imunitních odpovědí, např. únava, bolest, horečka nebo zvýšená incidence infekce, zahrnují schizofrenii, akutní myelitidy, sarkoidózu, popáleniny, trauma (např. fraktura kosti, hemoragie, chirurgie) a imunitní odpovědi na xenotransplantaci. Tato běžná základní imunitní komponenta v alespoň části patologie všech těchto stavů umožňuje jednotlivému agens být účinněji používán k ošetření stavů nebo k ošetření jednoho nebo více symptomů, které souvisejí nedostatkem Th1 odpovědi nebo přebytkem Th2 odpovědí. Ve všech stavech, kde je nedostatek Th1 imunitních

odpovědi nebo se vyskytují nežádoucích Th2 odpovědi, je zlepšení jednoho nebo více symptomů souvisejících se stavem dosaženo podáním účinného množství sloučeniny obecného vzorce (1) podle způsobů popsaných v předloženém vynálezu. Tudiž lze intermitentně podávat sloučeninu obecného vzorce (1) pomocí formulace a způsobu podání popsaných v předloženém vynálezu.

V některých aplikacích může sloučenina(y) obecného vzorce (1) přímo a/nebo nepřímo interferovat s replikací, vývojem nebo přenosem patogenu mezi buňkami, např. virus nebo parazit (malárie). Vylepšení klinického stavu subjektu může být důsledkem přímého účinku na infekční agens nebo maligní buňku. Zásah do celulární replikace může být důsledkem inhibice jednoho nebo více enzymů, které parazit nebo infikované buňky používá pro normální replikaci nebo metabolismus, např. glukosa-6-fosfát dehydrogenasa, které ovlivňuje celulární generaci NADPH (viz např. Raineri *et al.*, *Biochemistry* 1970 9: 2233-2243). Tento účinek může přispívat k cytostatickým účinkům, které mohou některé sloučeniny obecného vzorce (1) mít. Modulace exprese celulárních enzymů nebo aktivity může také zasahovat do replikace nebo vývoje patogenu, např. HIV parazitů způsobujících malárii nebo replikací nebo vývojem neoplastických buněk, např. inhibice angiogeneze. Klinická zlepšení budou také obecně důsledkem zvýšení Th1 imunitních odpovědí.

V dalších aplikacích zahrnují provedení způsob, ve kterém dochází ke kontaktu sloučenin(y) obecného vzorce (1) s buňkou (buňkami), přičemž sloučenina(y) obecného vzorce (1) vytváří komplex s receptorem steroidního hormonu nebo vede k modulaci biologické aktivity. Receptor steroidního hormonu může být receptor „orphan“ receptor nukleárního hormonu, který vykazuje střední nebo vysokou vazebnou afinitu na sloučeninu(y) obecného vzorce (1). V některých provedeních je receptor steroidu známý receptor steroidu. Biologické účinky interakce sloučeniny obecného vzorce (1) a receptoru mohou vést k zásahu do replikace nebo vývoje patogenu nebo samotné buňky (buněk). Například exprese transkriptů HIV v buňkách infikovaných HIV mohou být pozměněny. Komplex mezi receptorem a sloučeninou obecného vzorce (1) může přímo zasahovat do LTR-dependentní transkripce HIV genů, což má za následek snížení virové replikace.

Provedení předloženého vynálezu zahrnují přípravky obsahující částečně purifikovaný nebo purifikovaný komplex obsahující sloučeninu obecného vzorce (1) a receptor steroidu. Tento steroidní receptor(y) může být „orphan“ receptor steroidu nebo popsaný receptor steroidu, kde kterýkoli typ váže sloučeninu obecného vzorce (1) se střední nebo vysokou vazebnou aktivitou, např. menší než $0,5-10 \times 10^{-6}$ M, obvykle menší

než 1×10^{-7} M, nebo, při vyšší afinitě, menší než $0,01-10 \times 10^{-9}$ M. Sloučenina(y) mohou také zvyšovat imunitní odpovědi tak, že obě imunitní odpovědi a pozměněné intracelulární stavy současně existují, aby se zlepšil jeden nebo více patologických stavů popsanych v předloženém vynálezu.

Sloučeniny obecného vzorce (1) mohou být používány k identifikaci receptorů, které modulují biologické odezvy, např. receptory, které participují při zvyšování syntézy Th1 cytokinu. Provedení vynálezu zahrnují způsob „způsob 1“, který umožňuje stanovení jednoho nebo více účinků testované sloučeniny na receptor steroidu v různých biologických systémech. Obecně je testovaná sloučenina sloučeninou obecného vzorce (1). Tyto systémy zahrnují buňky obsahující DNA konstrukt, který konstitutivně nebo indukovatelně exprimuje určený receptor(y) steroidu, např. SXR, CAR β , RXR, PXR, PPAR α nebo směsi nebo jejich dimery, např. SXR/RXR. V dalších biologických systémech může být receptor steroidu pod transkripční kontrolou regulovatelného promotoru. Nebo expresi dalšího genu, např. steroidem indukovatelný gen, např. steroidem indukovatelný cytochrom P-450. Při tomto způsobu zdroj vzniku receptorů steroidu je obecně kombinován s prostředky jejich monitorování, např. měřením transkripce genu regulovatelného receptorem. Buňky, které obsahují receptor steroidu a případně monitorovací prostředky, jsou někdy v předloženém vynálezu označovány jako „biologický systém“. Zdroje receptorů steroidu zahrnují buněčné linie a buněčné populace, které normálně exprimují určený receptor steroidu, a extrakty získané z těchto buněk. Další zdroj biologického systému použitelného pro účely tohoto způsobu jsou tkáně z experimentálních zvířat, která exprimují receptory.

V jednom aspektu umožňuje způsob 1 stanovit jeden nebo více účinků sloučeniny obecného vzorce (1) na receptor steroidu pomocí způsobu, který zahrnuje (a) získání biologického systému, např. buněčný extrakt, buňky nebo tkáň obsahující buňky, které mají většinu receptorů steroidu zahrnujících monomery, homodimery nebo heterodimery, které obsahují receptor steroidu, např. SXR, CAR- β , RXR, PPAR α , PXR nebo dimery, které obsahují jeden nebo více z výše uvedených; (b) aktivaci nebo inhibici většiny monomerů, homodimerů nebo heterodimerů, které obsahují receptoru steroidu, kontaktem buněk s agonistou nebo antagonistou receptoru steroidu (např. SXR, CAR- β , RXR, PPAR α nebo PXR); (c) odstraněním podstatně všech agonistů nebo antagonistů receptoru steroidu z buněk; (d) stanovení aktivity několika monomerů, homodimerů nebo heterodimerů, které obsahují receptor steroidu, během aktivovaného stavu za přítomnosti

agonistů nebo antagonistů; (e) vystavení buněk testované sloučenině; (f) stanovení alespoň jednoho účinku testované sloučeniny na aktivitu několika monomerů, homodimerů nebo heterodimerů, které obsahují jeden nebo více receptorů steroidu, zatímco zůstávají v podstatě prosté agonistů a antagonistů; a (g) případně klasifikaci testované sloučeniny jako agonisty nebo antagonisty receptoru steroidu nebo neutrální sloučeniny mající nízký nebo žádný detegovatelný účinek.

Účinky, které lze způsobem 1 měřit, zahrnují stanovení nebo měření účinku na gen, jehož exprese je ovlivněna receptorem steroidu. Gen by mohl souviset s patologickým stavem, např. infekčním agens, imunní chorobou nebo hyperproliferací.

Tudíž další aspekt způsobu 1, „způsob 1A“ je stanovení, zdali chemická látka, která dosud nebyla známa jako modulátor biosyntézy proteinu, může transkripčně modulovat expresi genu, který kóduje protein související se zachováním nebo ošetřením jednoho nebo více symptomů patologického stavu. Tento způsob zahrnuje: (a) kontakt vzorku, který obsahuje eukaryotické buňky, se sloučeninou obecného vzorce (1), přičemž eukaryotické buňky obsahují většinou proteiny receptoru steroidu a DNA konstrukt obsahující směrem od 5' k 3' (i) modulovatelný transkripční regulační sekvenci genu kódující určený protein, (ii) promotor genu kódujícího určený protein a (iii) reportérový gen, který exprimuje polypeptid schopný produkce detegovatelného signálu, vázat se a za regulace promotoru, za podmínek, při nichž je látka, pokud je schopná působit jako transkripční modulátor genu kódujícího určený protein, způsobí měřitelný nebo detegovatelný signál, který má být produkován polypeptidem exprimovaným reportérovým genem; (b) kvantitativní stanovení množství signálu tímto způsobem produkovaného; a (c) případně srovnání množství tímto způsobem stanoveného s množstvím produkovaného signálu detegovaného za absence jakékoliv chemické látky, která je testována nebo po kontaktu vzorku s jinými chemickými látkami, aby se indentifikovala chemická látka, jenž způsobuje změnu detegovatelnosti signálu produkovaného polypeptidem, a stanovení, zdali chemická látka specificky transkripčně moduluje expresi genu souvisejícího se zachováním nebo ošetřením jednoho nebo více symptomů patologického stavu.

Při provádění způsobu 1A lze typicky kontaktovat vzorek obsahující předem definované množství identických nebo podstatně identických eukaryotických buněk s předem stanovenou koncentrací sloučeniny obecného vzorce (1). Eukaryotické buňky obsahují DNA konstrukt, který je vytvořen pomocí konvenčních způsobů a postupů v molekulární biologii. Obecně DNA konstrukt obsahuje směrem od 5' k 3' (i) transkripční

regulační sekvenci, která participuje na modulaci exprese genu souvisejícího se zachováním nebo ošetřením jednoho nebo více patologických stavů, (ii) promotor genu a (iii) reportérový gen, který exprimuje polypeptid schopný produkce detegovatelného signálu, spřažený s promotorem a pod jeho kontrolou. Konstrukt je udržován za takových podmínek, že sloučenina obecného vzorce (1), pokud je schopná působit jako transkripční modulátor genu kódujícího určený protein, způsobuje měřitelný nebo detegovatelný signál, který má být produkován polypeptidem exprimovaným reportérovým genem. Jakmile uplyne dostatečná doba pro generaci detegovatelné odezvy nebo signálu, lze stanovit množství produkovaného signálu. Typicky je odpověď nebo signál kvantitativně měřen, nicméně pro účely rychlého screeningu může být použitelné kvantitativní měření.

U způsobu 1A lze také případně srovnat detegovatelný signál s množstvím produkovaného signálu, který (1) lze detegovat za absence jakékoliv sloučeniny obecného vzorce (1) nebo (ii) při kontaktu vzorku s jinými chemickými látkami, které indentifikují sloučeninu obecného vzorce (1) jako chemickou látku, která způsobuje změnu v detegovatelném signálu, jenž polypeptid produkuje. Poté je možno typicky stanovit, zdali sloučenina obecného vzorce (1) specificky transkripčně moduluje expresi genu souvisejícího se zachováním nebo ošetřením jednoho nebo více symptomů patologického stavu.

Další aspekty způsobu 1 a 1A zahrnují screening způsobu zahrnujícího separátní kontakt většiny identických, podstatně identických nebo rozdílných vzorků, každý vzorek kontaktuje předem definované množství takových buněk s předem stanovenou koncentrací každé odlišné sloučeniny obecného vzorce (1), která má být testována, např. kde většina vzorků zahrnuje více než 1×10^3 nebo více než 1×10^4 vzorků nebo $0,5-5 \times 10^5$ vzorků. V dalších aspektech je možno stanovit množství RNA kvantitativní řetězovou reakcí polymerasy. V kterémkoliv ze způsobů 1 nebo 1A může být použita sloučenina obecného vzorce (1), např. jakákoliv sloučenina popsaná nebo uvedená v předloženém vynálezu.

Aspekty předloženého vynálezu zahrnují další způsob, „způsob 2“, který se zaměřuje na identifikaci genu, jehož exprese je modulována potenciálním vazebným partnerem pro terapeutické agens infekčního onemocnění. Typicky je vazebný partner receptor steroidu, např. monomer, homodimer nebo heterodimer, který obsahuje SXR, CAR- β , PXR, PPAR α nebo RXR nebo jejich homolog nebo izoformu. Receptor steroidu je typicky ve formě komplexu, který obsahuje, např. sloučeninu obecného vzorce (1) a regulovanou DNARS genu, kterou receptor steroidu nebo komplex, jenž obsahuje receptor

steroidu, rozpozná a specificky se na ni naváže. Tyto komplexy mohou také obsahovat transkripční faktor, který se váže na receptor steroidu nebo na sekvence nukleové kyseliny sousedící s DNARS nebo blízko ní. Příklady transkripčních faktorů, které mohou být přítomny, zahrnují jeden nebo více ARA54, ARA55, ARA70, SRC-1, NF- κ B, NFAT, AP1, Ets, p300, CBP, p300/CBP, faktor související s p300/CPB, SWI/SNF a lidská homologa SWI/SNF, CBP, SF-1, RIP140, GRIP1 a Vpr. Obecně lze získat první a druhou skupinu buněk *in vivo* nebo *in vitro* a uvést první skupinu buněk v kontakt s terapeutickým agens infekčního onemocnění, ale neuvést druhou skupinu buněk v kontakt s terapeutickým agens infekčního onemocnění. Izolace RNA z buněk nebo izolace cDNA odvozených od RNA je provedena konvenčními způsoby. Analýza RNA nebo cDNA odvozené od RNA první a druhé skupiny buněk zjistí rozdíly mezi nimi, které lze použít k identifikaci genu, jehož regulace je modulována potenciálním vazebným partnerem pro terapeutické agens infekčního onemocnění nebo jakékoliv DNARS související s genem.

Jedním aspektem způsobu 2 je stanovení schopnosti sloučeniny obecného vzorce (1) modulovat nebo participovat při modulaci, transkripci genu souvisejícího se zachováním nebo ošetřením jednoho nebo více symptomů patologického stavu. Dá se očekávat, že obecně budou sloučeniny obecného vzorce (1) způsobovat zvýšení transkripce takových genů. Patologický stav typicky souvisí s infekčním agens, např. virem, parazitem nebo bakterií, ale také může zahrnovat imunitní stav, např. autoimunní stav nebo imunitní nedostatečnost. Patologický stav mohou být také nedostatečné imunitní odpovědi na infekci nebo nedostatečné odpovědi na hyperproliferaci nebo zhoubné bujení. Další patologické stavy, na které lze aplikovat způsob podle předloženého vynálezu, jsou zánětlivé stavy.

V některých aspektech budou sloučeniny obecného vzorce (1) použité ve způsobu 2 značeny. Tyto sloučeniny jsou připraveny konvenčními způsoby pomocí standardních technik značení sloučenin, např. značení radioaktivním izotopem, fluorescenčním značením nebo jiná značení popsaná v předloženém vynálezu a v citovaných odkazech.

Jedno provedení způsobu 2 zahrnuje analýzu RNA nebo cDNA od ní odvozené pomocí subtrakční hybridizace. V tomto provedení je RNA nebo cDNA získaná z první a druhé skupiny buněk hybridizována a vzniklé duplexy jsou odstraněny. To umožňuje izolaci nukleových kyselin, které kódují geny, jejichž transkripce je modulována potenciálním vazebným partnerem, kterým je obvykle receptor steroidu. Je možno také použít konvenční způsoby k amplifikaci a získání nukleové kyseliny a informace o

sekvenci proteinu z nukleových kyselin izolovaných tímto způsobem. Sekvence nukleových kyselin, které jsou transkripčně indukovány nebo potlačeny sloučeninou obecného vzorce (1), jsou potenciálními vazebnými partnery.

Skupina buněk 1 ošetřená sloučeninou obecného vzorce (1) bude bohatší na transkripčně indukovaný gen(y), zatímco jakýkoliv potlačený gen(y) bude odstraněn nebo zcela chybět. V těchto provedeních je RNA izolovaná po odstranění duplexů typicky amplifikována standardními postupy RT-PCR nebo PCR. Tyto postupy typicky používají specifické skupiny náhodných párů primerů a následnou analýzu amplifikovaných nukleových kyselin gelovou elektroforézou. Nukleové kyseliny, které jsou indukovány sloučeninou obecného vzorce (1), budou vypadat jako pás(y), obvykle duplex DNA, který není v kontrolní nebo druhé skupině buněk. Nukleové kyseliny, které jsou transkripčně potlačeny vazebným partnerem sloučeniny obecného vzorce (1), budou v minoritě nebo zcela chybět v první skupině buněk. Jakmile jsou tyto potenciální geny identifikovány, mohou být klonovány a exprimovány a schopnost DNARS související s genem vytvářet komplex, který obsahuje potenciální vazebný partner a případně značenou sloučeninu obecného vzorce (1), je analyzována konvenčními způsoby, např. rovnovážnou dialýzou, afinitní chromatografií pomocí, např. DNARS imobilizovaných na sloupci, nebo koprecipitací komplexů, které obsahují případně značenou DNARS a potenciální vazebný partner, pomocí protilátek protivazebného partnera. Analýza sekvence nukleové kyseliny je obvykle používána k identifikaci oblastí sousedících s kódujícími oblastmi regulovaného genu k identifikaci jakékoliv DNARS související s genem. Původ DNARS může být prokázán vazbou DNARS duplexy, které obsahují potenciální vazebný partner, např. receptor steroidu, a případně také obsahují sloučeninu obecného vzorce (1). Lokalizace a původ DNARS může být proveden mapováním oligonukleotidů DNA nebo jinými způsoby detekce vazebných interakcí. V obměnách tohoto způsobu 2 může být značena DNARS, receptor nebo sloučenina obecného vzorce (1).

Druhá skupina buněk bude obecně totožná nebo podstatně totožná s první skupinou buněk. V provedeních (pro oba způsoby 1 a 2), ve kterých jsou buňky „výrazně totožné“, se mohou první nebo druhá skupina buněk navzájem lišit přítomností nebo absencí DNA konstruktů, které exprimují (i) receptor steroidu a/nebo (ii) snadno detegovatelný protein, např. β -galaktosidasu, peroxidasu, fosfatasu nebo chloramfenikol acetyltransferasu, jejichž transkripční regulace je obvykle modulována receptorem steroidu. V těchto provedeních je rozdíl mezi první a druhou skupinou buněk používán k

usnadnění analýzy biologických účinků sloučeniny obecného vzorce (1) a vazebného partnera receptoru steroidu. Skupiny buněk jsou brány jako „totožné“, pokud nevykazují známé nebo zjevné morfologické nebo genetické rozdíly.

Obvykle bude druhá skupina buněk sloužit jako kontrola, a tudíž před získáním RNA nebo cDNA nebude vystavena působení jakékoliv sloučeniny obecného vzorce (1). Nicméně v některých provedeních je možno vystavit druhou skupinu buněk známým agonistům nebo antagonistům vazebného partnera receptoru steroidu, což umožňuje srovnat účinnost sloučeniny obecného vzorce (1) s účinností agonistů nebo antagonistů.

V dalších provedeních lze modifikovat způsob 2 třetí skupinou buněk, která je případně používána jako neošetřovaná kontrolní skupina, pokud druhá skupina buněk je ošetřována agonistou nebo antagonistou receptoru steroidu. V těchto provedeních je možno typicky srovnávat účinek sloučeniny obecného vzorce (1) a agonisty nebo antagonisty exprese genu nebo DNA konstruktů. DNA konstrukt by mohl obsahovat promotér nebo jiné regulační sekvence, které jsou předmětem transkripční modulace, obvykle zvýšení transkripce, sloučeninou obecného vzorce (1) ve shodě s jejím vazebným partnerem.

Příklady savčích a jiných receptorů steroidu, včetně „orphan“ receptorů steroidu, jejich homologů, izoformů a kofaktorů (např. korepresor, transkripční faktory, oblasti nebo sekvence genového promotoru), které tyto komplexy mohou obsahovat, zahrnují steroidogenní faktor-1 (SF-1), slepičí ovalbuminový přední promotor-transkripční faktor (COUP-TFI) a jeho savčí homologa, utlumující mediátor pro receptor tyreoidálního a retinoidálního hormonu (SMRT) a jeho savčí homologa, NF-E3, CKOUP-TFII a jeho savčí homologa, testikulární „orphan“ receptor TR2, tyreoidální hormon $\alpha 1$ (TR $\alpha 1$), retinoidální X receptor α , TR $\alpha 1$ /RXR α heterodimer, přímý element odpovědi repetice-4 tyreoidálního hormonu (DR4-TRE), receptor estrogenu (ER), příslušný α receptor estrogenu (ERR α), příslušný β receptor estrogenu (ERR β), xenobiotický receptor steroidu (SXR), hepatocytový jaderný faktor 4 (HNF-4), hepatocytový jaderný faktor 3 (HNF-3), jaderní X receptory (LXR α), LXR α , α receptor estrogenu (ER α), konstitutivní receptor- β androstanu (CAR- β), RXR/CAR- β heterodimer, krátký heterodimerový partner (SHP), SHP/ER α heterodimer, β receptor estrogenu, SHP/ER β heterodimer, testikulární „orphan“ receptor TR4, TR2/TR4 heterodimer, X receptor pregnanu (PXR) a izoformy, oblast a izoformy genového promotoru cytochromu P-450 monooxygenasy 3A4, oblast a izoformy genového promotoru komplexu HNF-4 a cytochromu P-450 monooxygenasy 3A4, HIV-1

dlouhá koncová repetice (LTR), HIV-2 LTR, komplex TR2/HIV-1 LTR, komplex TR4/HIV-1 LTR, komplex TR α 1/TR4/HIV-1 LTR, TR2 izoformy (TR2-5, TR7, TR9, TR11), DAX-1, DAX-1/ oblast genového promotoru steroidogenního akutního regulačního proteinu, RevErb, RevErb α , Rev-erb β , koaktivátor receptoru steroidu amplifikovaných při karcinomu prsu (AIB 1), p300/CREB vazebný protein-interagující protein (p/CIP), receptor tyreoidálního hormonu (TR, T3R), elementy odpovědi tyreoidálního hormonu (T3REs), konstitutivní receptor androstanu (CAR), *Xenopus* xSRC-3 a savčí (humánní) homologa, TAK1, komplex TAK1/proliferátorem aktivovaného α receptoru peroxizomu (PPAR α), komplex PPAR α /RXR α , komplex TAK-1/RIP140, receptor retinové kyseliny (RAR), RAR β , komplex TR4 a RXRE, SF-1/oblast genového promotoru steroidní hydroxylasy, SF-1/oblast genového promotoru oxytocinu, SF-1/oblast genového promotoru receptoru ACTH, potkání Ear-2 a savčí homologa, humánní TR3 „orphan“ receptor (TR3), RLD-1 OR-1, receptor androgenu, receptor glukokortikoidu, receptor estrogenu, receptor progesteronu, receptor mineralokortikoidu, OR1, komplex OR1/RXR α , TIF-1, komplex CBP/P300, komplex TRIP1/SUG-1, RIP-140, komplex SRC1 α /P160 a komplex TIF-2/GRIP-1, komplex RAR/N-CoR/RIP13, komplex RAR, SMRT a TRAC-2, DNARS5'AGGTCANAGGTCA 3' nebo 5'TGCACGTCA 3'. Jeden z těchto komplexů může být zahrnut do způsobů podle předloženého vynálezu, např. v bezbuněčných testech. Tvorba těchto komplexů v buňkách je usnadněna inzercí DNA konstruktu(ů) do buněk, které exprimují jeden nebo více z těchto proteinů, např. buňky savců nebo kvasinek obsahující stabilní DNA konstrukt nebo konstrukt používaný pro dočasné transfekční testy. Způsoby provedení testů nebo indukce biologických odpovědí *in vitro* nebo *in vivo* pomocí sloučenin obecného vzorce (1) jako agonistů, antagonistů nebo jako referenční standardy jsou popsány, viz např. patenty US 5080139, 5696133, 5932431, 5932555, 5935968, 5945279, 5945404, 5945410, 5945412, 5945448, 5952319, 5952371, 5955632, 5958710, 5958892, 5962443; mezinárodní přihláška vynálezu zveřejněná pod číslem WO 96/19458, WO 99/41257, WO 99/45930. Komplexy nebo testovací systémy, které obsahují sloučeninu obecného vzorce (1) a jsou používány při provádění těchto způsobů, jsou zahrnuty jako aspekty předloženého vynálezu.

Sloučeniny obecného vzorce (1) typicky interagují s jedním nebo více biologickými ligandy, čímž ovlivňují biologické odpovědi. K usnadnění identifikace potenciálních vazebných partnerů sloučenin obecného vzorce (1) je možno použít sloučeninu obecného

vzorci (1) značenou radioaktivním izotopem, která je připojena na nosič, obvykle pevný nosič, jako prostředek k izolaci potenciálních vazebných partnerů. Sloučenina obecného vzorce (1) může být připojena na nosič v poloze např. 3, 7, 16 nebo 17 steroidního jádra. Pro tato použití jsou známá vazebná činidla a zahrnují homobifunkční a heterobifunkční agens. Mnoho z nich je komerčně dostupných. Použitý linker bude typicky zahrnovat 2-20 spojených atomů, které obvykle obsahují hlavně uhlík, s jedním, dvěma nebo třemi atomy kyslíku, síry nebo dusíku, které nahrazují jeden nebo více atomů uhlíku. Je možno také použít expresní knihovnu cDNA, která byla vytvořena z vhodných buněk a tkání jako zdroj potenciálních vazebných partnerů. Buňky nebo tkáně mohou být získány ze savců nebo obratlovců, např. lidí, myší, ptáků, primátů nebo z jiných zdrojů, např. hmyzu (např. *Drosophila*), jiných bezobratlovců (např. kvasinek, bakterií, mikroorganismů *Mycoplasma sp.*, *Plasmodium sp.*, *Tetrahymena sp.*, *C. elegans*) nebo z jiných skupin nebo species uvedených v předloženém vynálezu nebo citovaných odkazech. Vhodné tkáně zahrnují kůži, jaterní tkáň nebo buňky, včetně hepatocytů a kupferových buněk, fibrocytů, monocytů, dendritických buněk, ledvinovou tkáň nebo buňky, mozkové buňky a tkáně nebo buňky a tkáně nervového systému, včetně neuronů, astrocytů a gliových buněk, tkáně periferního nervového systému, plíce, vnitřnosti, placentu, prsa, vaječníky, testes, svaly, včetně buněk nebo tkáně srdce, bílých krvinek, včetně T-buněk, B-buněk, buněk nebo tkáně kostní dřeně, lymfatické tkáně nebo tekutiny a chondrocyty.

Typicky potenciální vazebný partner, který lze izolovat z nehumánních zdrojů, bude mít lidský homolog, jenž má podobné vazebné vlastnosti pro sloučeninu obecného vzorce (1). Nehumánní potenciální vazebné partnery tudíž mohou být používány k usnadnění izolace lidských homolog, např. přípravou antiséra pro precipitaci lidského homologa z roztoku, který obsahuje lidský homolog nebo srovnáním sekvence nehumánního potenciálního vazebného partnera se známou lidskou genovou sekvencí. Jakmile je získán zdroj potenciálního vazebného partnera, může být uveden v kontakt se značenou sloučeninou obecného vzorce (1), obvykle značenou radioaktivním izotopem, např. ^{14}C nebo ^3H , a komplexy, které obsahují značenou sloučeninu obecného vzorce (1) a potenciální vazebný partner, jsou izolovány pomocí např. afinitní chromatografie nebo technikou precipitace protilátek. Izolace komplexu poskytuje zdroj alespoň částečně purifikovaného potenciálního vazebného partnera, tzn. potenciální vazebný partner je získán ve větším množství, např. 10x větším, nebo alespoň 100x větším nebo alespoň 500x

větším v porovnání s množstvím přítomným v původním výchozím materiálu potenciálního vazebného partnera.

Aspekty vynálezu zahrnují přípravek obsahující částečně purifikovaný (čistší alespoň dvakrát až desetkrát více než přírodní zdroje, např. buňky nebo buněčný lyzát) komplex nebo purifikovaný (čistší alespoň dvacetkrát až pětisíckrát více než přírodní zdroje, např. buňky nebo buněčný lyzát) komplex (příčemž částečně purifikovaný nebo purifikovaný komplex je případně izolován) obsahující sloučeninu obecného vzorce (1) a receptor steroidu, sérum proteinu vázající steroidy (např. lidský sérumalbumin, α 1-kyselé glykoprotein, globulin vázající pohlavní hormony, globulin vázající testosteron, globulin vázající kortikosteroidy, androgenní vazebný protein (potkanní) nebo jiné vazebné partnery, např. transkripční faktor nebo DNARS. Aspekty těchto přípravků zahrnují produkt vyrobený způsobem, ve kterém dochází ke kontaktu částečně purifikovaného nebo purifikovaného přípravku s jednou nebo více buňkami, jednou nebo více tkáněmi, plazmou nebo krví.

Další aspekty zahrnují způsob stanovení biologické aktivity sloučeniny obecného vzorce (1) zahrnující: (a) uvedení sloučenin(y) obecného vzorce (1) v kontakt s buňkami nebo buněčnou populací; (b) změření jednoho nebo více (i) komplexů mezi vazebným partnerem a sloučeninou obecného vzorce (1), (ii) proliferaci buněk nebo buněčné populace; (iii) diferenciaci buněk nebo buněčné populace, (iv) aktivitu proteinkinasy C, (v) hladinu fosforylace substrátu proteinkinasy C, (vi) transkripci jednoho nebo více z cílových genů, (vii) inhibici celulárních odpovědí na steroidy, např. glukokortikoidy, (viii) inhibici transkripce indukované steroidem, např. glukokortikoidy, pohlavní steroidy, (ix) inhibici transkripce řízené HIV LTR; a (c) případně srovnání výsledků získaných v kroku (b) s příslušnou kontrolní skupinou. Aspekty tohoto provedení zahrnují (i) způsob, ve kterém je vazebný partner receptor steroidu, transkripční faktor nebo DNARS, (ii) způsob, ve kterém je biologická aktivita stanovena modulací aktivity sloučeniny obecného vzorce (1) pro replikaci nebo cytopatické účinky souvisejících s retrovirem, virem hepatitidy nebo parazitem typu protozoa, (iii) způsob, ve kterém stanovená biologická aktivita je modulační aktivita sloučeniny obecného vzorce (1) pro replikaci, cytopatické účinky související s retrovirem, virem hepatitidy nebo parazitem typu protozoa nebo stanovená biologická aktivita je metabolismus (testy absorpce ^3H -thymidinu nebo jiné testy, které jsou popsány v předloženém vynálezu nebo je na ně odkazováno) buněk nebo buněčné populace zahrnující NK buňky, fagocyty, monocyty, makrofágy, bazofily,

eosinofily, dendritické buňky, synoviocyty, mikrogliální buňky, fibrocyty, transformované (neoplastické) buňky, buňky infikované virem, buňky infikované bakterií nebo parazitem a (iv) způsob, ve kterém cílový gen je gen viru, bakterie, parazitu, gen související s rakovinou, např. kde gen viru je gen DNA nebo RNA polymerasy, gen reverzní transkriptasy, obálkový gen, gen proteasy nebo gen související s replikací virové nukleové kyseliny nebo gen s virovou strukturou.

Jedním provedením je způsob zahrnující uvedení komplexu, který obsahuje receptor steroidu a sloučeninu obecného vzorce (1), v kontakt s transaktivačním proteinem, čímž vznikne komplex zahrnující protein receptoru steroidu, sloučeniny obecného vzorce (1) a transaktivačního proteinu, kde transaktivační protein je v (1) buňce nebo tkáňovém extraktu (např. jádru, lyzátu obsahujícím jádra nebo lyzátu bez jader z buňky (buněk) nebo tkáně(i)), (2) částečně purifikovaný nebo purifikovaný buněčný nebo tkáňový extrakt, (3) buňka(y) v tkáňové kultuře nebo (4) buňka(y) v subjektu, kde jakýkoliv z bodů (1)-(4) případně obsahuje cílový gen (přírozený gen nebo zavedený standardními technikami), jehož hladina exprese je případně stanovena po vzniku komplexu. V některých z těchto provedení je transaktivační protein částečně purifikovaný nebo purifikovaný a je v buněčném nebo tkáňovém extraktu nebo částečně purifikovaném nebo purifikovaném buněčném nebo tkáňovém extraktu. Transaktivační protein může být TIF-1, CBP/P300, TRIP1/SUG-1, RIP-140, SRC1 α /P160 nebo TIF-2/GRIP-1. V jakémkoliv z těchto provedení může komplex, který zahrnuje protein receptoru steroidu, sloučeninu obecného vzorce (1) a transaktivační protein, zvyšovat nebo snižovat transkripci cílového genu v porovnání s vhodnou kontrolní skupinou (kontrola za stejných podmínek, nicméně bez jakékoliv přidané sloučeniny, která odpovídá sloučenině obecného vzorce (1), nebo kde jiná sloučenina (např. steroid známý svou vazbou na receptor steroidu) je používána jako standard nebo referenční standard měnící expresi cílového genu). V těchto způsobech může cílový gen být gen patogenu (např. viru, bakterie, parazita, houby, kvasinky) nebo gen související s patologickým stavem (autoimunita, zánět, hyperproliferace).

Sloučeniny obecného vzorce (1) jsou vhodné pro použití v určitých popsanych způsobech, ve kterých jsou steroidy používány k modulaci biologických aktivit v buňkách nebo tkáních. Například sloučenina(y) obecného vzorce (1) mohou být používány k selektivní interakci se specifickými receptory steroidu nebo „orphan“ receptorem steroidu nebo jiných podtypů, které souvisejí s patologickým stavem(y) v subjektu, jak je uvedeno v patentu US 5668175. V těchto aplikacích může sloučenina obecného vzorce (1)

reagovat jako ligand receptoru k modulaci abnormální exprese genových produktu(ů), které korelují s patologickým stavem (steroidní hormon odpovídající onemocnění). Tyto geny jsou normálně regulovány steroidními hormony. V jiných aplikacích lze použít sloučeniny obecného vzorce (1) ke screeningu ligandů, které se vážou na receptor steroidu nebo „orphan“ receptor steroidu a jeden nebo více transkripčních faktorů (nebo kofaktorů), např. AP-1 a/nebo s DNA sekvencí (sekvencemi), podle patentu US 5643720. V zásadě mohou být sloučeniny obecného vzorce (1) používány podobně jako ve způsobech popsaných v patentech US 5597693, 5639598, 5780220, 5863733 a 5869337. V některých z těchto provedeních je sloučenina obecného vzorce (1) značena. Vhodná značení jsou z dosavadního stavu techniky známa a zahrnují značení radioaktivním izotopy (např. ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , ^{131}I , ^{99}Tc a jiné izotopy halogenů), fluorescenční značení (např. fluorescein, resorufin, Texas Red, rhodamin, BODIPY, arylsulfonát-cyaniny), chemiluminiscenční značení (např. ester akridinia), kovové chelátory, biotin, avadin, peptidové tagy (např. hexamer histidinu, peptid rozpoznávaný monoklonálními nebo polyklonálními protilátkami), kovalentní zesíťování. Značené sloučeniny lze připravit pomocí standardních způsobů.

V následujících odkazech byly popsány způsoby vhodné k měření biologických účinků různých sloučenin, na buňky imunitního systému, např. aktivace (např. NK buňky, fagocyty, monocyty, makrofágy, neutrofily, eosinofily, dendritické buňky, synoviocyty, mikrogliální buňky, fibrocyty), např. Jakob *et al.*, *J. Immunol.* 1998 161: 3042-3049, Pierson *et al.*, *Blood* 1996 87: 180-189, Cash *et al.*, *Clin. Exp. Immunol.* 1994 98: 313-318, Monick *et al.*, *J. Immunol.* 1999 162: 3005-3012, Rosen *et al.*, *Infect. Immun.* 1999 67: 1180-1186, Grunfeld *et al.*, *J. Lipid Res.* 1999 40: 245-252, Singh *et al.*, *Immunol. Cell Biol.* 1998 76: 513-519, Chesney *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997 94: 6307-6312, Verhasselt *et al.*, *J. Immunol.* 1999 162: 2569-2574, Avice *et al.*, *J. Immunol.* 1999 162: 2748-2753, Cella *et al.*, *J. Exp. Med.* 1999 189: 821-829, Rutalt *et al.*, *Free Radical Biol. Med.* 1999 26: 232-238, Akbari *et al.*, *J. Exp. Med.* 1999 189: 169-178, Hryhorenko *et al.*, *Immunopharmacology* 1998 40: 231-240, Fernvik *et al.*, *Inflamm. Res.* 1999 48: 28-35, Cooper *et al.*, *J. Infect. Dis.* 1999 179: 738-742, Betsuyaku *et al.*, *J. Clin. Invest.* 1999 103: 825-832, Brown *et al.*, *Toxicol. Sci.* 1998 46: 308-316, Sibelius *et al.*, *Infect. Immunol.* 1999 67: 1125-1130. Mezi další aspekty předloženého vynálezu patří použití sloučenin obecného vzorce (1) v takových způsobech a umožňuje, např. změření biologických

účinků sloučenin obecného vzorce (I) na genech, jejichž exprese je regulována sloučeninou obecného vzorce (1) a receptorem steroidu.

Provedení zahrnují jakékoliv výše popsané způsoby, např. způsob 1, ve kterém zahrnují buňky nebo biologický systém NK buňky, fagocyty, monocyty, makrofágy, neutrofile, eosinofily, dendritické buňky, synoviocyty, mikrogliální buňky, gliální buňky, fibrocyty nebo hepatocyty, které případně obsahují DNA konstrukt, jenž exprimuje jeden nebo více klonovaných receptorů steroidu. Metoda případně analyzuje účinek sloučeniny obecného vzorce (1) na buňky v porovnání s kontrolními skupinami. Kontrolní skupiny zahrnují použití známých agonistů nebo antagonistů pro receptor steroidu nebo srovnání buněk vystavených sloučenině obecného vzorce (1) s kontrolními buňkami (obvykle stejný typ buněk jako ošetřované buňky), které nejsou vystaveny sloučenině obecného vzorce (1). Odpověď, např. aktivace receptoru steroidu, může být měřena pomocí známých způsobů porovnáním s kontrolními skupinami.

Sloučenina obecného vzorce (1) bude v některých případech modulovat (zvyšovat či snižovat) transkripci jednoho nebo více genů v buňkách. V jiných případech bude sloučenina obecného vzorce (1) zvyšovat pohyb lysozomu v jedné nebo více NK buněk, fagocytech, monocytech, makrofázích, neutrofilech, eosinofilech, dendritických buňkách synoviocytech, mikrogliálních buňkách nebo fibrocytech. Tyto účinky budou typicky zprostředkovány přímo či nepřímo receptory steroidu, které působí modulačně na transkripci genu, např. způsobí zvýšení aktivity proteinkinasy C (PKC) v buňkách používaných při testech, např. PKC α , PKC β , PKC γ nebo PKC ζ .

Další související provedení zahrnují přípravek obsahující částečně purifikovaný nebo purifikovaný komplex, jenž se sestává ze sloučeniny obecného vzorce (1) a receptoru steroidu, α 1-kyselé glykoprotein, globulin vázající pohlavní hormony, globulin vázající testosteron, globulin vázající kortikosteroid, androgenní vazebný protein (potkání) nebo jiné vazebné partnery, např. transkripční faktor nebo DNARS. Aspekt těchto přípravků zahrnuje produkt vyrobený způsobem, ve kterém dochází ke kontaktu částečně purifikovaného nebo purifikovaného přípravku s jednou nebo více buňkami, jednou nebo více tkáněmi, plazmou nebo krví.

Další provedení zahrnuje způsob stanovení biologické aktivity sloučeniny obecného vzorce (1) zahrnující: (a) uvedení sloučenin(y) obecného vzorce (1) v kontakt s buňkami nebo buněčnou populací; (b) změření jednoho nebo více (i) komplexů mezi vazebným partnerem a sloučeninou obecného vzorce (1), (ii) proliferaci buněk nebo buněčné

populace; (iii) diferenciaci buněk nebo buněčné populace, (iv) aktivitu proteinkinasy C, (v) hladinu fosforylace substrátu proteinkinasy C, (vi) transkripci jednoho nebo více z cílových genů, (vii) inhibici celulárních odpovědí na steroidy, např. glukokortikoidy, (viii) inhibici transkripce indukované steroidem, např. glukokortikoidy, pohlavní steroidy, (ix) inhibici transkripce řízenou HIV LTR; a (c) případně srovnání výsledků získaných v kroku (b) s příslušnou kontrolní skupinou. Aspekty tohoto provedení zahrnují (i) způsob, ve kterém je vazebný partner receptor steroidu, transkripční faktor nebo DNARS, (ii) způsob, ve kterém je biologická aktivita stanovena modulací aktivity sloučeniny obecného vzorce (1) pro replikaci nebo cytopatickými účinky souvisejících s retrovirem, virem hepatitidy nebo parazitem typu protozoa, (iii) způsob, ve kterém stanovená biologická aktivita je modulační aktivita sloučeniny obecného vzorce (1) pro replikaci, cytopatické účinky související s retrovirem, virem hepatitidy nebo parazitem typu protozoa nebo stanovená biologická aktivita je metabolismus (testy absorpce ^3H -thymidinu nebo jiné testy, které jsou popsány v předloženém vynálezu nebo je na ně odkazováno) buněk nebo buněčné populace zahrnující NK buňky, fagocyty, monocyty, makrofágy, bazofily, eosinofily, dendritické buňky, synoviocyty, mikrogliální buňky, fibrocyty, transformované (neoplastické) buňky, buňky infikované virem, buňky infikované bakterií nebo parazitem a (iv) způsob, ve kterém cílový gen je gen viru, bakterie, parazitu, gen související s rakovinou, např. kde gen viru je gen DNA nebo RNA polymerasy, gen reverzní transkriptasy, obálkový gen, gen proteasy nebo gen související s replikací virové nukleové kyseliny nebo gen s virovou strukturou.

Další provedení je způsob zahrnující uvedení komplexu, který obsahuje receptor steroidu a sloučeninu obecného vzorce (1), v kontakt s transktiváčním proteinem, čímž vznikne komplex zahrnující protein receptoru steroidu, sloučeniny obecného vzorce (1) a transaktivačního proteinu, kde transaktivační protein je v (1) buňce nebo tkáňovém extraktu (např. jádru, lyzátu obsahujícím jádra nebo lyzát bez jader z buňky (buněk) nebo tkáně(i)), (2) částečně purifikovaný nebo purifikovaný buněčný nebo tkáňový extrakt, (3) buňka(y) v tkáňové kultuře nebo (4) buňka(y) v subjektu, kde jakýkoliv z bodů (1)-(4) případně obsahuje cílový gen (přirozený gen nebo zavedený standardními technikami), jehož hladina exprese je případně stanovena po vzniku komplexu. V některých z těchto provedení je transaktivační protein částečně purifikovaný nebo purifikovaný a je v buněčném nebo tkáňovém extraktu nebo částečně purifikovaném nebo purifikovaném buněčném nebo tkáňovém extraktu. Transaktivační protein může být TIF-1, CBP/P300,

TRIP1/SUG-1, RIP-140, SRC1 α /P160 nebo TIF-2/GRIP-1. V jakémkoliv z těchto provedení může komplex, který zahrnuje protein receptoru steroidu, sloučeninu obecného vzorce (1) a transaktivační protein, zvyšovat nebo snižovat transkripci cílového genu v porovnání s vhodnou kontrolní skupinou (srovnání za stejných podmínek, nicméně bez jakékoliv přidané sloučeniny, která odpovídá sloučenině obecného vzorce (1), nebo kde jiná sloučenina (např. steroid známý svou vazbou na receptor steroidu) je používána jako standard nebo referenční standard měnící expresi cílového genu). V těchto provedeních může cílový gen být gen patogenu (např. viru, bakterie, parazitu, houby, kvasinky) nebo gen související s patologickým stavem (autoimunity, zánětu, hyperproliferace).

Předpokládá se, že biologické účinky zjištěné při provádění způsobů podle předloženého vynálezu obvykle zahrnují vznik komplexů, které obsahují dva nebo více komponent. Tyto komponenty mohou zahrnovat jeden nebo více transkripčních faktorů nebo koregulatorů nebo korepresorů transkripce a jejich homologa a izoformy. Tyto faktory a komplexy je obsahující zahrnují členy rodiny koaktivátoru 1 receptoru steroidu (SRC-1, SRC-1/sérový faktor odpovědi), NF- κ B, NFAT, p300, CBP, p300/CBP, faktor související s p300/CP, SWI/SNF a lidská nebo jiná homologa, BRG-1, OCT-1/OAF, AP1, Ets, protein 54 související s receptorem androgenu (ARA54), protein 55 související s receptorem androgenu (ARA55), protein 70 související s receptorem androgenu (ARA70), RAC3/ACTR, protein vázající CREB (CPB), SRC-1 α , protein-140 interagující s receptorem (RIP-140), aktivátorový protein-1 transkripčního faktoru, aktivacím funkce-2, protein-1 interagující s receptorem glukokortikoidu (GRIP-1), protein-160 interagující s receptorem (RIP-160), supresor gal4D lézí (SUG-1), transkripční intermediální faktor-1 (TIF-1), transkripční intermediální faktor-2 (TIF-2), SMRT, N-CoR, N-CoA-1, p/CIP, steroidogenní faktor-1 (SF-1), p65 (RelA) a Vpr kódovaný lidským virem selhání imunity a jeho izoformy a homologa. Jeden nebo více z těchto faktorů mohou být přítomny v komplexech, které obsahují sloučeninu obecného vzorce (1) a receptor steroidu, např. SXR, PPAR α , CAR- β , RXR a/nebo PXR.

V souvisejícím provedení je sloučenina obecného vzorce (1) používána k vyvolání cytostatického účinku na savčí buňky *in vitro*. Typicky tyto buňky jsou lymfatické buňky, např. T-buňky populace získané např. z krve nebo orgánů, které jsou bohaté na lymfatické buňky (např. slezina, lymfatická tkáň nebo mízní uzliny), nebo transformované T buněčné linie. Tato aktivita umožňuje určení účinnosti sloučenin obecného vzorce (1) zprostředkovávat imunologické účinky, např. zvýšení Th1 imunitních odpovědí nebo

potlačení exprese jednoho nebo více cytokinů spojených s Th2. Tudiž způsob podle předloženého vynálezu zahrnuje (a) uvedení sloučeniny obecného vzorce (1) v kontakt s lymfatickými buňkami *in vitro*, (b) stanovení stupně cytostatického účinku, který sloučeniny vyvolávají, k identifikaci cytostatické sloučeniny a (c) případně podání cytostatické sloučeniny subjektu s potlačenou imunitou za účelem stanovení účinku sloučeniny na jednu nebo více imunitních odpovědí subjektu způsobem popsáním v předloženém vynálezu, např. zvýšené Th1 cytokinní nebo buněčné odpovědi nebo snížená exprese cytokinu související s Th2. Typicky jsou tyto způsoby prováděny s různými koncentracemi sloučenin obecného vzorce (1) a s vhodnými kontrolními skupinami, např. známá cytostatika nebo slepý pokus, který obsahuje rozpouštědlo beze sloučeniny obecného vzorce (1). Inhibice buněčné proliferace je měřena standardními způsoby. Způsoby měření cytostatických účinků sloučenin zahrnují měření počtu živých buněk v ošetřovaných a neošetřovaných kulturách nebo měření syntézy DNA pomocí např. inkorporace ^3H -thymidinu do DNA v ošetřovaných a neošetřovaných kulturách. Typické rozmezí koncentrací sloučeniny obecného vzorce (1) v buněčném růstovém médiu je 0,1 μM až 100 μM , při 4-6 různých koncentracích sloučenin s pevným počtem buněk (např. $0,4 \times 10^5$ - 5×10^5). Sloučenina obecného vzorce (1) se uvede po dostačující dobu v kontakt s buňkami v tkáňové kultuře k pozorování cytostatického účinku, např. 16 hodin až 6 dnů, typicky 24-72 hodin. V těchto provedeních lze případně sledovat modulaci biologické aktivity receptoru steroidu, např. aktivace $\text{PPAR}\alpha$, která může souviset s indukovaným cytostatickým účinkem sloučeniny.

V některých aplikacích vypadá, že sloučenina(y) obecného vzorce (1) způsobuje zlepšení jednoho nebo více symptomů souvisejících s infekcí nebo daným stavem. Například ošetření subjektů, u kterých je potlačena imunita, např. v důsledku infekce retrovirem, chemoterapií karcinomu nebo jiné příčiny, obecně vykazuje zlepšení jednoho nebo více doprovodných symptomů, např. váhový úbytek, horečka, anémie, únava nebo snížené infekční symptomy, které souvisejí s druhotnou infekcí (infekcemi), např. HSV-1, HSV-2, papilomavirus, lidský cytomegalovirus („CMV“), infekce mikroorganismy *Pneumocystis* (např. *P. carinii*) nebo *Candida* (*C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*). Sloučeniny obecného vzorce (1) jsou také použitelné při podpoře zotavení imunitního systému při autologním transplantátu kostní dřeně nebo kmenových buněk. V některých provedeních je sloučenina obecného vzorce (1) podávána jako bezvodá tekutá formulace podle předloženého vynálezu nebo sloučenina(y) obecného vzorce (1) je podávána podle

jakéhokoliv režimu intermitentního podávání popsaného v předloženém vynálezu pomocí pevné nebo tekuté formulace(i). V případě, kdy subjekt trpí infekcí retrovirem, se symptomy zahrnujícími jeden nebo více z následující skupiny: relativně nízký počet CD4 (např. 10-200, obvykle 20-100), jeden nebo více dalších infekcí patogenem (HSV-1, HSV-2, HHV-6, HHV-8, CMV, HCV, a HPV, *P. carinii* nebo infekce mikroorganizmem *Candida*) a jeden nebo více z následujících: anémie, únava, Kaposiho sarkom, horečka nebo vůli neovladatelný váhový úbytek (alespoň 5% tělesné váhy), podání 0,1-10 mg/kg denně (obvykle 0,4-5 mg/kg denně) sloučenin(y) obecného vzorce (1) subjektu má typicky za výsledek patrné zlepšení jednoho nebo více symptomů v průběhu 1-4 týdnů. V dalších provedeních je sloučenina(y) obecného vzorce (1) podávána subjektu, který trpí stavem spojeným s infekcí virem, např. pneumonie nebo retinitida spojená s CMV, nazofaryngeální karcinom nebo perorální leukoplazie související s virem Epstein-Barrové, progresivní pancefalitidou nebo diabetes související s virem Rubella nebo aplastická krize při hemolytické anémii související s Parvovirem 19.

V příkladném provedení je lidským pacientům infikovaným HCV podávána vodná izotonická α -cyklodextrinová nebo β -cyklodextrinová formulace obsahující 20 mg/ml BrEA. Formulace je podávána intravenózně v jednorázové denní dávce nebo dvou subdávkách denně. Pacientovi je aplikována dávka 1-10 mg/kg denně po dobu 4 až 10 dnů, poté jsou dávky vysazeny na 5 až 30 dnů a dále opětovné nasazením dávek cyklodextrinové formulace po dobu 4 až 10 dnů. Dávkovací režim je opakován jednou, dvakrát nebo vícekrát. Klinické markery pro infekci HCV jsou během ošetření sledovány, např. virová nukleová kyselina v krvi nebo plazmě, hladiny jaterního enzymu v krvi nebo plazmě (např. AST/SGOT, ALT/SGPT, alkalická fosfatasa). U těchto pacientů je standardní ošetření protiatom vodíkuCV, např. interferon α /nebo ribavirin, případně započato nebo v něm pokračováno podle doporučení pacientova doktora a s pacientovým informovaným souhlasem. V některých z těchto provedení je sloučenina(y) obecného vzorce (1) kontinuálně denně podávána jako komponenta v perorálním nebo parenterálním přípravku nebo formulaci. BrEA je případně také podáván soustavně pomocí např. formulace podle příkladu 1 v množství 1-5 mg/kg denně každý druhý den po dobu 1 až 4 měsíců nebo pomocí perorální formulace k podání 5-40 mg/kg denně každý druhý den po dobu asi 1 až 4 měsíců.

V jakémkoliv provedení uvedeném v předloženém vynálezu lze případně poskytovat další terapeutické ošetření společně, tzn. před, během nebo po, s podáním

sloučenin(y) obecného vzorce (1) subjektu(ům). Například u subjektů, kteří trpí infekcí virem nebo parazitem a probíhá u nich aplikace dávek sloučeniny obecného vzorce (1), mohou probíhat také další ošetření, např. analogy nukleosidů pro infekce virem nebo chlorochinem pro malárii. Tato další ošetření budou typicky zahrnovat standardní terapie patologického stavu(ů) subjektu, nicméně mohou také zahrnovat experimentální nebo jiná ošetření. Například je možno koaplikovat vitaminy (multivitaminy, jednotlivé vitaminy), antioxidanty nebo jiná agens (vitamin E, allopurinol), nutriční suplementy (tekuté proteinové nebo karbohydrátové preparáty) nebo jiné terapie v závislosti na charakteru nemoci pacienta a doporučení jeho lékaře. Jakákoliv z těchto ošetření mohou být spojena s podáním jakékoliv sloučeniny obecného vzorce (1), např. BrEA nebo jeho esteru, karbamátu, karbonátu, aminokyseliny nebo konjugátu peptidu, v jakémkoliv z provedení popsaném v předloženém vynálezu.

Tato další ošetření jsou zcela zřejmá odborné veřejnosti a jsou vybrána na základě stavu, který má být ošetřen, zkřížených reakcí složek a farmakologických vlastností složených přípravků. Například při ošetření lidí nebo jiných subjektů zasažených infekcemi retroviry jsou sloučeniny obecného vzorce (1) kombinovány s jedním nebo více inhibitory reverzní transkriptasy, inhibitory proteasy, antibiotiky nebo analgesiky. Vhodné sloučeniny obecného vzorce (1) zahrnují ty sloučeniny, které jsou popsány např. ve skupinách 1 až 42-25-20-6 a kdekoli jinde v předloženém vynálezu. Názorné příklady inhibitorů reverzní transkriptasy jsou AZT, 3TC, D4T, ddI, ddC, adefovir dipivoxil, 9-[2-(R)-[[bis[[izopropoxykarbonyl]oxy]methoxy]fosfinoyl]methoxy]propyl]adenin, (R)-9-[2-(fosfonomethoxy)propyl]-adenin a adefovir. Názorné příklady inhibitorů proteasy zahrnují indinavir, nelfinavir, ritonavir, crixivan a sequanavir. Inhibitory fúze mohou být také používány, např. inhibitory fúze HIV. Při ošetření virových infekcí dýchacího systému nebo jiných systémů, např. virus hepatitidy C („HCV“) nebo infekce virem influenzy (např. influenza typu A nebo B), jsou přípravky podle předloženého vynálezu případně používány společně s antiviroty (např. γ -interferon, amantidin, rimantadin, ribavirin nebo sloučeniny uvedené v patentových nárocích US 5763483 (zejména sloučeniny uvedené ve výčtu nároků 1 a 2) a 5866601, mukolytiky, expektorancií, bronchodilatancií, antibiotiky, antipyretiky nebo analgetiky.

V některých provedeních jsou sloučeniny obecného vzorce (1) podávány subjektům, kteří byli infikováni parazitem nebo bakterií, k zpomalení progresu infekce, zasažení do replikace nebo vývoje infekčního agens nebo ke zlepšení jednoho nebo více

souvisejících symptomů, např. váhový úbytek, anémie nebo druhotné infekce. Parazity zahrnují parazity malárie, trypanosomiázy a parazity související s gastrointestinálními infekcemi. Parazity a bakterie zahrnují species, skupiny, genotypy, kmeny nebo izoláty gastrointestinálních helmintů, mikrosporidia, isospory, cryptosporidia (*Cryptosporidium parvum*), *Mycobacterium* (*M. avium*, *M. bovis*, *M. leprae*, *M. tuberculosis*, *M. pneumoniae*, *M. penetrans*), *Mycoplasma* (*M. fermentans*, *M. penetrans*, *M. pneumoniae*), *Trypanosoma* (*T. brucei*, *T. gambiense*, *T. cruzi*, *T. evansi*), *Leishmania* (*L. donovani*, *L. major*, *L. braziliensis*), *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. knowlesi*, *P. vivax*, *P. berghel*), *Ehrlichia* (*E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. phagocytophila*, *E. equi*, *E. sennetsu*), *Babesia microti*, *Haemophilus* (*H. somnus*, *H. influenzae*), *Brucella* (*B. militensis*, *B. abortus*), *Bartonella* (*B. henselae*), *Bordetella* (*B. bronchiseptica*, *B. pertussis*), *Escherichia* (*E. coli*), *Salmonella* (*S. typhimurium*), *Shigella* (*S. flexneri*), *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*), *Neisseria* (*N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*), *Streptococcus*, *Staphylococcus* (*S. aureus*), *Rickettsia* (*R. rickettsii*), *Yersinia* (*Y. enterocolitica*), *Legionella pneumonia* and *Listeria* (*L. monocytogenes*).

Jeden nebo více režimů intermitentního dávkování podle předloženého vynálezu nebo jeden nebo více tekutých, bezvodých formulací popsaných v předloženém vynálezu mohou být aplikovány standardní experimentální způsobem při jakémkoliv použití nebo aplikacích popsaných v předloženém vynálezu. Například sloučenina(y) obecného vzorce (1), což je sama o sobě nová sloučenina, může být podávána subjektu režimem(y) intermitentního dávkování podle předloženého vynálezu nebo jinými režimy, např. souvislým denním dávkování jednorázové dávky nebo dvou nebo více subdávky denně. Navíc jakékoliv sloučeniny obecného vzorce (1), např. jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1), které jsou samy o sobě nové, mohou být přítomny v jakékoliv pevné nebo tekuté formulaci popsané v předloženém vynálezu. Tyto formulace a režimy dávkování mohou být aplikovány standardním experimentální způsobem při jakémkoliv použití nebo aplikacích popsaných v předloženém vynálezu.

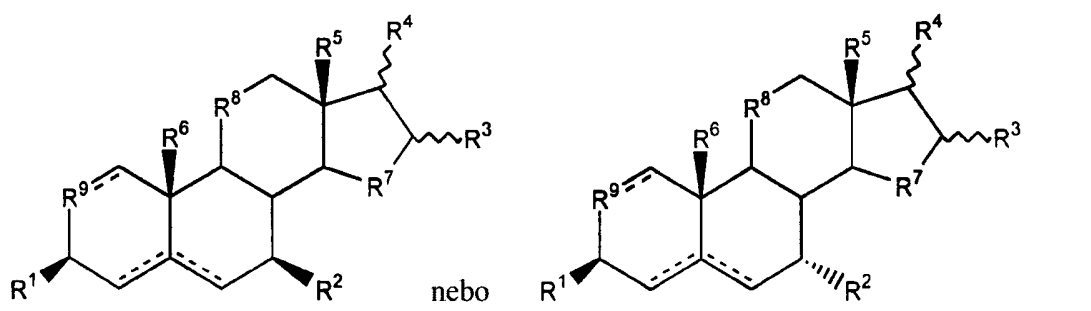
Očíslovaná provedení

Několik aspektů předloženého vynálezu a souvisejících předmětů zahrnují následující očíslovaná provedení.

V některých aspektech popisuje předložený vynález bezvodé tekuté formulace, které obsahují sloučeninu obecného vzorce (1). Názorná provedení jsou následující:

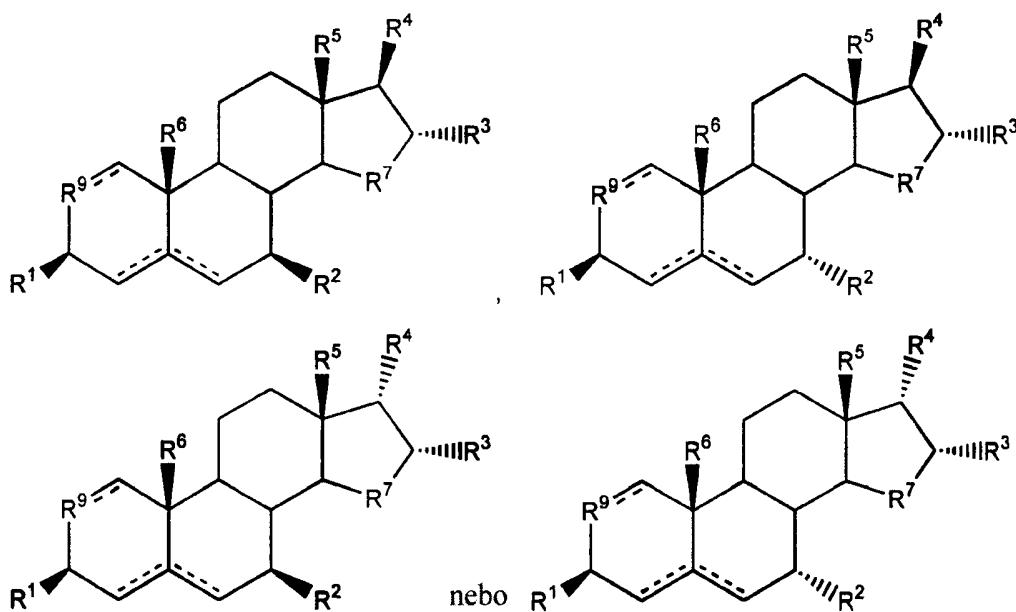
1. Přípravek obsahující jednu nebo více sloučenin obecného vzorce (1) nebo obecného vzorce (2) a jednu nebo více bezvodých tekutých pomocných látek, kde přípravek obsahuje méně než 3 obj.% vody.

2. Přípravek podle provedení 1, kde jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1) má následující strukturu



kde substituenty R^7 a R^9 jsou nezávisle $-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{CH}_2$ -, $-\text{CH}=\text{}$ -, $-\text{O}$ -, $-\text{S}$ - nebo $-\text{NH}$ -, kde substituent R^{10} je $-\text{OH}$ -, $-\text{SH}$ -, C_{1-10} případně substituovaná alkylová skupina, C_{1-10} případně substituovaná alkoxy skupina, C_{1-10} případně substituovaná alkenylová skupina nebo C_{1-10} případně substituovaná alkynylová skupina; a substituent R^8 je $-\text{CH}_2$ -, $-\text{O}$ -, $-\text{S}$ - nebo $-\text{NH}$ -, kde atomy vodíku v poloze 5 (pokud jsou přítomny), 8, 9 a 14 jsou $\alpha.\alpha.\alpha.\alpha$ (tzn., 5α , 8α , 9α , 14α), $\alpha.\alpha.\alpha.\beta$, $\alpha.\alpha.\beta.\alpha$, $\alpha.\beta.\alpha.\alpha$, $\beta.\alpha.\alpha.\alpha$, $\alpha.\alpha.\beta.\beta$, $\alpha.\beta.\alpha.\beta$, $\beta.\alpha.\alpha.\beta$, $\beta.\alpha.\beta.\alpha$, $\beta.\beta.\alpha.\alpha$, $\beta.\beta.\alpha$, $\alpha.\beta.\beta.\beta$, $\beta.\alpha.\beta.\beta$, $\beta.\beta.\alpha.\beta$, $\beta.\beta.\beta.\alpha$ nebo $\beta.\beta.\beta.\beta$, typicky $\alpha.\alpha.\beta.\alpha$ nebo $\beta.\alpha.\beta.\alpha$.

3. Přípravek podle provedení 2, kde jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1) má následující strukturu



kde atomy vodíku v poloze 5 (pokud jsou přítomny), 8, 9 a 14 jsou $\alpha.\alpha.\alpha.\alpha.$, $\alpha.\alpha.\alpha.\beta.$, $\alpha.\alpha.\beta.\alpha.$, $\alpha.\beta.\alpha.\alpha.$, $\beta.\alpha.\alpha.\alpha.$, $\alpha.\alpha.\beta.\beta.$, $\alpha.\beta.\alpha.\beta.$, $\beta.\alpha.\alpha.\beta.$, $\beta.\alpha.\beta.\alpha.$, $\beta.\beta.\alpha.\alpha.$, $\alpha.\beta.\beta.\alpha.$, $\alpha.\beta.\beta.\beta.$, $\beta.\alpha.\beta.\beta.$, $\beta.\beta.\alpha.\beta.$, $\beta.\beta.\beta.\alpha.$ nebo $\beta.\beta.\beta.\beta.$, typicky $\alpha.\alpha.\beta.\alpha.$ nebo $\beta.\alpha.\beta.\alpha.$

4. Přípravek podle provedení 1, 2 nebo 3, ve kterém jedna, dvě, tři nebo čtyři sloučeniny obecného vzorce (1) jsou přítomny.

5. Přípravek podle provedení 1, 2, 3 nebo 4, kde přípravek obsahuje méně než 0,3 obj.% vody.

6. Přípravek podle provedení 1, 2, 3, 4 nebo 5, kde jedna nebo více bezvodých tekutých pomocných látek je jedna, dvě nebo více sloučeniny vybraných z alkoholu, polyethylenglykolu, propylenglykolu nebo benzylbenzoátu.

7. Přípravek podle kteréhokoliv z provedení 1-6 (provedení 1, 2, 3, 4, 5 nebo 6), kde sloučenina obecného vzorce (1) je 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-on, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstan-17-on, 16 α -brom-3 α ,7 β ,7 β -trihydroxy-5 α -androsten, 16 α -brom-3 β ,7 α -dihydroxy-5 α -androstan-17-on, 16 α -brom-3 β ,7 α ,17 β -trihydroxy-5 α -androsten, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstan, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androsten, 16 α -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androstan, 16 β -brom-3 β ,17 β -dihydroxy-5 α -androstan, 16 β -brom-3 β ,17 β -dihydroxy-5 α -androsten, 16 β -3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androstan, 16 β -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-on, brom-3 β -hydroxy-5 α -androsten-17-on, 16 β -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstan-17-on, 16 β -brom-3 β ,7 β -

dihydroxy-5 α -androst-17-on, 3 β ,7 α ,-dihydroxyepiandrosteron, 3 β ,7 β ,-dihydroxyepiandrosteron, 3 β ,-hydroxy-7-oxoepiandrosteron.

8. Přípravek podle provedení 7, kde sloučenina obecného vzorce (1) je 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androst-17-on.

9. Přípravek podle kteréhokoliv z provedení 1-8, kde přípravek obsahuje dva, tři, čtyři nebo pět bezvodých tekutých pomocných látek.

10. Přípravek podle provedení 9, kde přípravek obsahuje tři nebo více bezvodých tekutých pomocných látek.

11. Přípravek podle kteréhokoliv z provedení 1-10, kde sloučenina obecného vzorce (1) zahrnuje 0,0001-99% (hmotn./obj.) přípravku.

12. Přípravek podle kteréhokoliv z provedení 1-11, kde přípravek zahrnuje jednotkovou dávku.

13. Přípravek podle provedení 12, kde jednotková dávka obsahuje 0,5-100 mg/ml sloučeniny obecného vzorce (1).

14. Přípravek podle provedení 10, kde přípravek zahrnuje 1,0-60 mg/ml sloučeniny obecného vzorce (1).

15. Přípravek podle provedení 14, kde sloučenina obecného vzorce (1) je 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androst-17-on, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androst-17-on, 16 α -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androst-17-on, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androst-17-on, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androst-17-on, 16 α -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androst-17-on, 16 β -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androst-17-on, 16 β -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androst-17-on, 16 β -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androst-17-on, 16 β -brom-3 β -hydroxy-5 α -androst-17-on, 16 β -brom-3 β ,7 β ,-dihydroxy-5 α -androst-17-on nebo 16 β -brom-3 β ,7 β ,-dihydroxy-5 α -androst-17-on.

16. Přípravek podle provedení 1, kde jedna nebo více bezvodých tekutých pomocných látek zahrnuje polyethylenglykol, propylenglykol a benzylbenzoát.

17. Přípravek podle provedení 16, kde přípravek obsahuje méně než 0,3 obj.% vody.

18. Přípravek podle provedení 17, kde sloučenina obecného vzorce (1) je 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androst-17-on, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androst-17-on, 16 α -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androst-17-on, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androst-17-on, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androst-17-on, 16 α -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androst-17-on,

16 β -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstan, 16 β -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androsten, 16 β -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androstan, 16 β -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-on, 16 β -brom-3 β -hydroxy-5 α -androsten-17-on, 16 β -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstan-17-on nebo 16 β -brom-3 β ,7 β ,-dihydroxy-5 α -androsten-17-on.

19. Přípravek podle provedení 18, kde sloučenina obecného vzorce (1) je 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-on.

20. Přípravek podle provedení 16, který dále obsahuje alkohol.

21. Přípravek podle provedení 20, kde sloučenina obecného vzorce (1) je 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-on, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstan-17-on, 16 α -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androsten, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstan, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androsten, 16 α -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androstan, 16 β -brom-3 β ,17 β -dihydroxy-5 α -androstan, 16 β -brom-3 β ,17 β -dihydroxy-5 α -androsten, 16 β -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androstan, 16 β -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-on, 16 β -brom-3 β -hydroxy-5 α -androsten-17-on, 16 β -brom-3 β ,7 β ,-dihydroxy-5 α -androstan-17-on nebo 16 β -brom-3 β ,7 β ,-dihydroxy-5 α -androsten-17-on.

22. Přípravek podle provedení 1, kde jedna nebo více bezvodých tekutých pomocných látek zahrnuje benzylobenzoát, polyethylenglykol, alkohol a případně další bezvodou tekutou pomocnou látku.

23. Přípravek podle provedení 22, kde přípravek obsahuje méně než 0,3 obj.% vody.

24. Přípravek podle provedení 22 nebo 23, kde sloučenina obecného vzorce (1) je 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-on, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstan-17-on, 16 α -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androsten, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstan, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androsten, 16 α -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androstan, 16 β -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androstan, 16 β -brom-3 β ,17 β -dihydroxy-5 α -androstan, 16 β -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androsten, 16 β -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androstan, 16 β -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-on, 16 β -brom-3 β -hydroxy-5 α -androsten-17-on, 16 β -brom-3 β ,7 β ,-dihydroxy-5 α -androstan-17-on nebo 16 β -brom-3 β ,7 β ,-dihydroxy-5 α -androsten-17-on.

25. Přípravek podle provedení 24, kde sloučenina obecného vzorce (1) je 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-on.

26. Přípravek podle provedení nebo 22, 23, 24 nebo 25, kde polyethylenglykol je polyethylenglykol 300 a/nebo polyethylenglykol 200.

27. Přípravek podle provedení 26, kde alkohol je polyethylenglykol 300.

28. Přípravek podle provedení 22 nebo 23, který obsahuje 2,5-25 obj.% ethanolu, 1-10 obj.% benzylbenzoátu, 10-35 obj.% polyethylenglykolu 300, 40-65 obj.% propylenglykolu a 2-60 mg/ml 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu.

28A. Přípravek podle provedení 22, 23, 24, 25 nebo 26, který obsahuje 0,1-10 obj.% benzylbenzoátu, 0,1-10 obj.% benzylalkoholu, 1-95 obj.% polyethylenglykolu 200, 1-95 obj.% propylenglykolu a 2-60 mg/ml 16 α -brom-3-hydroxy-5 α -androstan-17-on. V provedení 28A může přípravek obsahovat 2 obj.% benzylbenzoátu, 2 obj.% benzylalkoholu, 40 obj.% polyethylenglykolu 200, 51 obj.% propylenglykolu (na doplnění) a 50 mg/ml 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-on.

29. Přípravek podle provedení 28, který obsahuje 12,5 obj.% ethanolu, 5 obj.% benzylbenzoátu, 25 obj.% polyethylenglykolu 300, 57,5 obj.% propylenglykolu a 50 mg/ml 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu.

30. Přípravek podle kteréhokoliv z provedení 1-29, který dále obsahuje lokální anestetikum.

31. Přípravek podle provedení 30, kde lokální anestetikum je prokain, benzokain nebo lidokain.

32. Přípravek podle kteréhokoliv z provedení 1-31, kde přípravek obsahuje solvát, suspenzi, kolloid, gel nebo a jakoukoliv kombinace výše zmíněných.

33. Produkt připravený způsobem, při kterém dochází ke kontaktu přípravku obsahujícího jednu nebo více sloučenin obecného vzorce (1) a první bezvodé tekuté pomocné látky s druhou bezvodou tekutou pomocnou látkou, přičemž produkt obsahuje méně než 3% vody a solí, analog, konfiguračních izomerů a jejich tautomerů.

34. Produkt podle provedení 33, kde produkt obsahuje méně než 0,3% vody.

35. Produkt podle provedení 33 nebo 34, kde první bezvodou tekutou pomocnou látkou je polyethylenglykol (např. PEG300 nebo PEG200) nebo propylenglykol.

36. Produkt podle provedení 33, 34 nebo 35, kde druhá bezvodá tekutá pomocná látka je polyethylenglykol (např. PEG300 nebo PEG200) nebo propylenglykol.

38. Produkt připravený způsobem, při kterém dochází ke kontaktu přípravku obsahujícího jednu nebo více sloučenin obecného vzorce (1) a dvou bezvodých tekutých,

pomocných látek s třetí, bezvodou tekutou pomocnou látkou, přičemž produkt obsahuje méně než 3% vody a solí, analog, konfiguračních izomerů a jejich tautomerů.

39. Produkt podle provedení 38, kde produkt obsahuje méně než 0,3% vody.

40. Produkt podle provedení 38 nebo 39, kde dvě bezvodé tekuté pomocné látky jsou vybrány z polyethylenglykolu (např. PEG300 nebo PEG200), propylenglykolu, benzylnbenzoátu a alkoholu (např. ethanolu).

41. Produkt podle provedení 38, 39 nebo 40, kde třetí bezvodá tekutá pomocná látka je polyethylenglykol (např. PEG300 nebo PEG200), propylenglykol, benzylnbenzoát nebo alkohol (např. ethanol).

42. Produkt připravený způsobem, při kterém dochází ke kontaktu přípravku obsahujícího jednu nebo více sloučenin obecného vzorce (1) a tří bezvodých tekutých, pomocných látek s čtvrtou bezvodou tekutou pomocnou látkou, přičemž produkt obsahuje méně než 3% vody a solí, analog, konfiguračních izomerů a jejich tautomerů.

43. Produkt podle provedení 42, kde produkt obsahuje méně než 0,3% vody.

44. Produkt podle provedení 42 nebo 43, kde tři bezvodé tekuté pomocné látky jsou vybrány z polyethylenglykolu (např. PEG300 nebo PEG200), propylenglykolu, benzylnbenzoátu a alkoholu (např. ethanolu).

45. Produkt podle provedení 42, 43 nebo 44, kde čtvrtá bezvodá tekutá pomocná látka je polyethylenglykol (např. PEG300 nebo PEG200), propylenglykol, benzylnbenzoát nebo alkohol (např. ethanol).

46. Produkt podle kteréhokoliv z provedení 33-45, kde produkt byl skladován při snížené teplotě (4°C až 8°C) nebo při pokojové teplotě po dobu 30 minut až 2 roky.

47. Produkt podle kteréhokoliv z provedení 33-46, kde jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1) zahrnuje 1, 2, 3 nebo 4 sloučeniny obecného vzorce (1).

48. Produkt podle kteréhokoliv z provedení 33-46, kde jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1) zahrnuje jednu sloučeninu obecného vzorce (1).

49. Produkt podle kteréhokoliv z provedení 33-48, kde jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1) je vybrána z 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstan-17-onu, 16 α -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androstenu, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstanu, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstenu, 16 α -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androstanu, 16 β -brom-3 β ,17 β -dihydroxy-5 α -androstanu, 16 β -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstenu, 16 β -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androstanu, 16 β -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu, 16 β -brom-3 β -

hydroxy-5 α -androst-17-onu, 16 β -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstan-17-onu a 16 β -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androst-17-onu.

50. Produkt podle provedení 49, kde sloučenina obecného vzorce (1) je 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-on.

51. Produkt podle provedení 49, který obsahuje 2,5-25 obj.% ethanolu, 1-10 obj.% benzylbenzoátu, 10-35 obj.% polyethylenglykolu 300, 40-65 obj.% propylenglykolu a 2-60 mg/ml 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu.

52. Produkt podle provedení 51, který obsahuje 12,5 obj.% ethanolu, 5 obj.% benzylbenzoátu, 25 obj.% polyethylenglykolu 300, 57,5 obj.% propylenglykolu a 50 mg/ml 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu.

53. Produkt podle kteréhokoliv z provedení 33-52, který dále obsahuje lokální anestetikum.

54. Přípravek podle provedení 52, kde lokální anestetikum je prokain, benzokain nebo lidokain.

55. Produkt připravený způsobem, při kterém dochází ke kontaktu přípravku obsahujícího sloučeninu obecného vzorce (1) s bezvodou tekutou pomocnou látkou, přičemž produkt obsahuje méně než 3% vody a solí, analog, konfiguračních izomerů a jejich tautomerů.

56. Produkt podle provedení 55, kde produkt obsahuje méně než 0,3 obj.% vody.

57. Produkt podle provedení 53, přičemž produkt byl skladován při snížené teplotě (4°C až 8°C) nebo při pokojové teplotě po dobu 1 hodiny až 2 roky.

58. Produkt podle provedení 53, kde první bezvodá tekutá pomocná látka je polyethylenglykol, alkohol, propylenglykol nebo benzylbenzoát.

59. Produkt podle kteréhokoliv z provedení 33-58, kde sloučenina obecného vzorce (1) zahrnuje 0,01% až 99% w/v produktu.

60. Produkt podle kteréhokoliv z provedení 33-59, kde produkt je jednotková dávka.

61. Jednotková dávka podle provedení 60 zahrnující roztok, který obsahuje 0,5-70 mg/ml jedné nebo více sloučenin obecného vzorce (1).

62. Produkt podle kteréhokoliv z provedení 55-61, kde jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1) je vybrána z 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstan-17-onu, 16 α -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -

androstenu, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstanu, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstenu, 16 α -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androstanu, 16 β -brom-3 β ,17 β -dihydroxy-5 α -androstanu, 16 β -brom-3 β ,17 β -dihydroxy-5 α -androstenu, 16 β -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androstanu, 16 β -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu, 16 β -brom-3 β -hydroxy-5 α -androst-17-onu, 16 β -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstan-17-onu a 16 β -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androst-17-onu.

63. Produkt podle provedení 62, kde sloučenina obecného vzorce (1) je 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-on.

64. Produkt podle kteréhokoliv z provedení 33-61, kde jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1) je vybrána ze sloučenin nebo jedna nebo více species v rámci skupiny vyjmenované ve skupinách sloučenin 1 až 21-10-6.

65. Způsob zahrnující podání přípravku nebo produktu podle kteréhokoliv z provedení 1-64 subjektu, který trpí infekcí patogenem nebo zhoubným bujením nebo imunitní supresí nebo nekontrolovatelným stavem, např. potlačené Th1 imunitní odpovědi nebo nežádoucí Th2 imunitní odpovědi.

66. Způsob podle provedení 65, kde infekce patogenem je infekce DNA virem nebo infekce RNA virem.

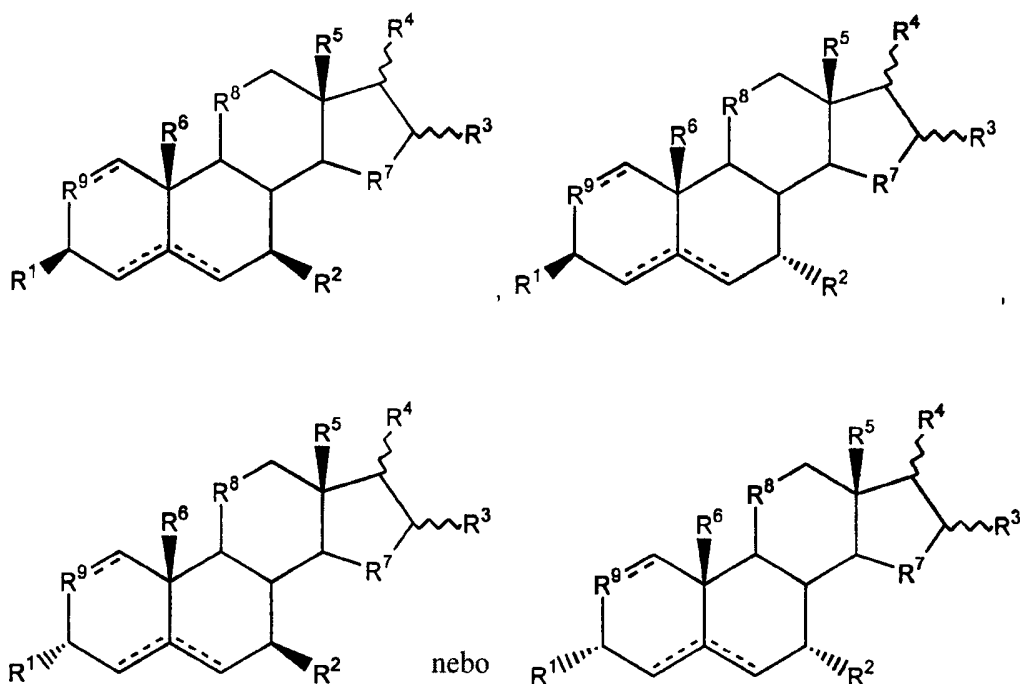
67. Způsob podle provedení 66, kde infekce RNA virem je infekce retrovirem nebo infekce virem hepatitidy.

68. Způsob podle provedení 67, kde infekce retrovirem nebo a infekce virem hepatitidy je HIV, FIV, SIV, SHIV nebo infekce virem hepatitidy C.

69. Způsob podle provedení 65, kde infekce patogenem je intracelulární infekce parazitem.

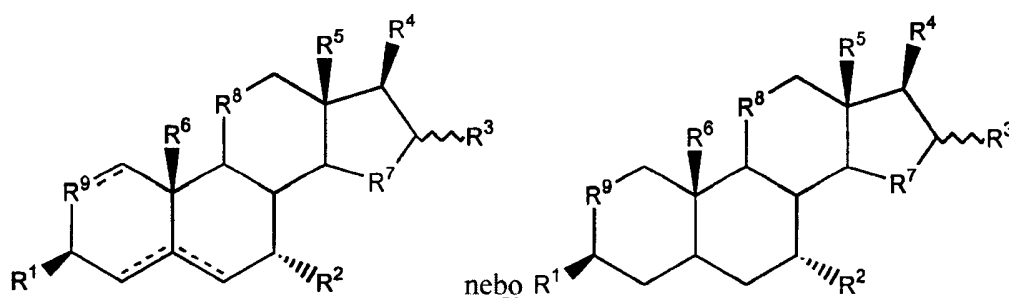
70. Způsob podle provedení 69, kde intracelulární infekce parazitem je malárie.

71. Způsob podle provedení 65, kde sloučenina obecného vzorce (1) má následující strukturu



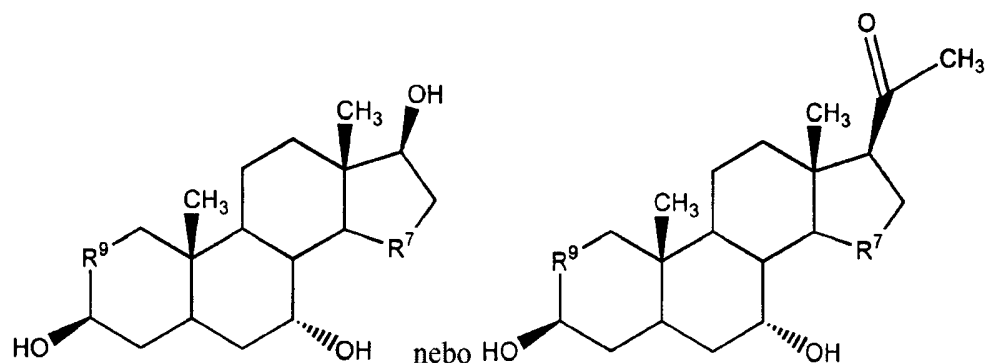
kde jeden, dva nebo tři substituenty R⁷, R⁸ a R⁹ jsou -CH₂- nebo -CH=, a kde atomy vodíku v poloze 5 (pokud existuje), 8, 9 a 14 mají konfigurace jsou $\alpha.\alpha.\alpha.\alpha$, $\alpha.\alpha.\alpha.\beta$, $\alpha.\alpha.\beta.\alpha$, $\alpha.\beta.\alpha.\alpha$, $\beta.\alpha.\alpha.\alpha$, $\alpha.\alpha.\beta.\beta$, $\alpha.\beta.\alpha.\beta$, $\beta.\alpha.\alpha.\beta$, $\beta.\alpha.\beta.\alpha$, $\beta.\beta.\alpha.\alpha$, $\alpha.\beta.\beta.\alpha$, $\alpha.\beta.\beta.\beta$, $\beta.\alpha.\beta.\beta$, $\beta.\beta.\alpha.\beta$, $\beta.\beta.\beta.\alpha$ nebo $\beta.\beta.\beta.\beta$, typicky $\alpha.\alpha.\beta.\alpha$ nebo $\beta.\alpha.\beta.\alpha$, $\alpha.\beta.\beta.\alpha$, $\alpha.\beta.\beta.\beta$.

72. Způsob podle provedení 71, kde sloučenina obecného vzorce (1) má následující strukturu



73. Způsob podle provedení 72, kde substituenty R¹, R² a R⁴ jsou nezávisle -OH, C₂-C₂₀ester nebo C₁-C₂₀alkoxy skupina, substituent R³ je atom vodíku a dva nebo tři ze substituentů R⁷, R⁸ a R⁹ jsou -CH₂.

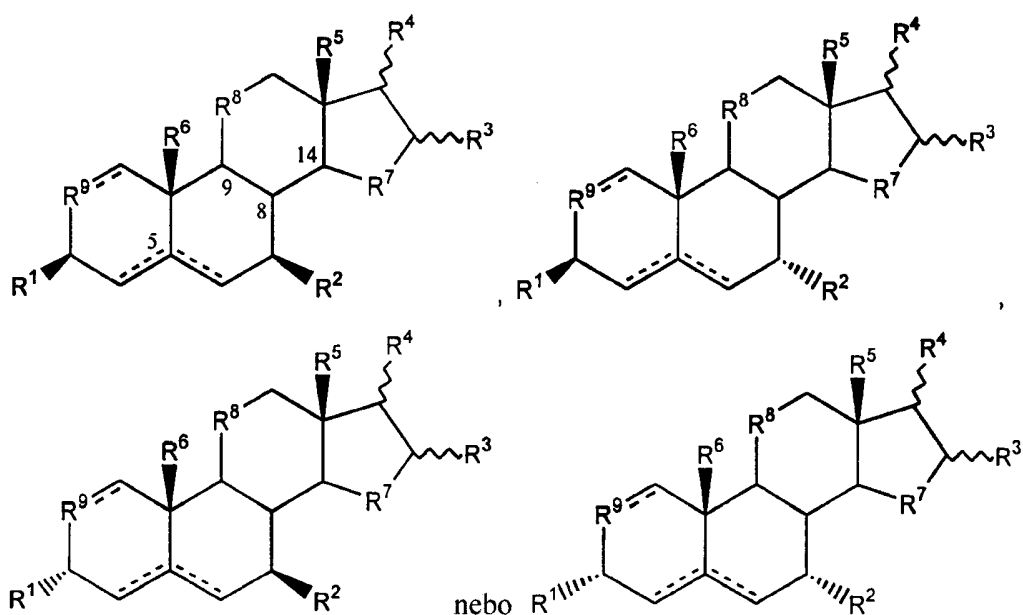
74. Způsob podle provedení 72 nebo 73, kde sloučenina obecného vzorce (1) má následující strukturu



75. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 71-74, kde atomy vodíku v poloze 5 (pokud existuje), 8, 9 a 14 mají konfigurace jsou $\alpha, \alpha, \beta, \alpha$ nebo $\beta, \alpha, \beta, \alpha$.

V dalších provedeních zahrnují sloučeniny obecného vzorce (1) nové sloučeniny, některé z nich jsou popsány v následujících očíslovaných provedeních.

1A. Sloučenina obecného vzorce (1) mající následující strukturu



kde substituenty R^7 , R^8 a R^9 jsou nezávisle vybrány, a kde jeden, dva nebo tři ze substituentů R^7 , R^8 a R^9 nejsou $-\text{CH}_2-$ nebo $-\text{CH}=\text{}$, a kde atomy vodíku v poloze 5 (pokud existuje), 8, 9 a 14 mají konfigurace jsou $\alpha, \alpha, \alpha, \alpha$, $\alpha, \alpha, \alpha, \beta$, $\alpha, \alpha, \beta, \alpha$, $\alpha, \beta, \alpha, \alpha$, $\beta, \alpha, \alpha, \alpha$, $\alpha, \alpha, \beta, \beta$, $\alpha, \beta, \alpha, \beta$, $\beta, \alpha, \alpha, \beta$, $\beta, \alpha, \beta, \alpha$, $\beta, \beta, \alpha, \alpha$, $\alpha, \beta, \beta, \alpha$, $\alpha, \beta, \beta, \beta$, $\beta, \alpha, \beta, \beta$, $\beta, \beta, \alpha, \beta$, $\beta, \beta, \beta, \alpha$ nebo $\beta, \beta, \beta, \beta$, typicky $\alpha, \alpha, \beta, \alpha$ nebo $\beta, \alpha, \beta, \alpha$.

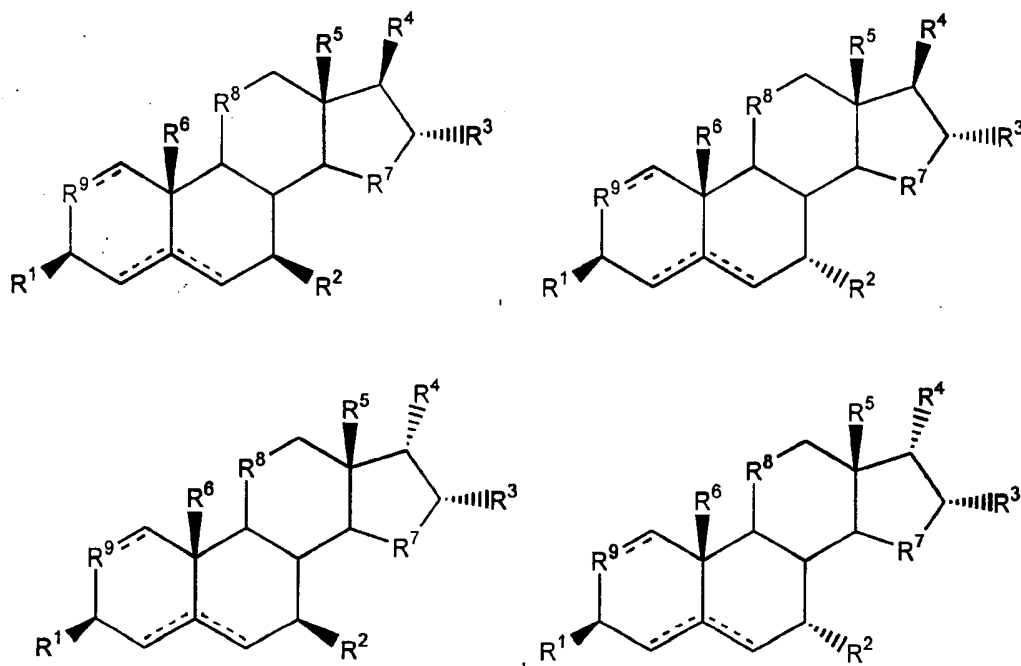
2A. Sloučenina podle provedení 1A, kde substituent R^8 je $-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ nebo $-\text{NH}-$.

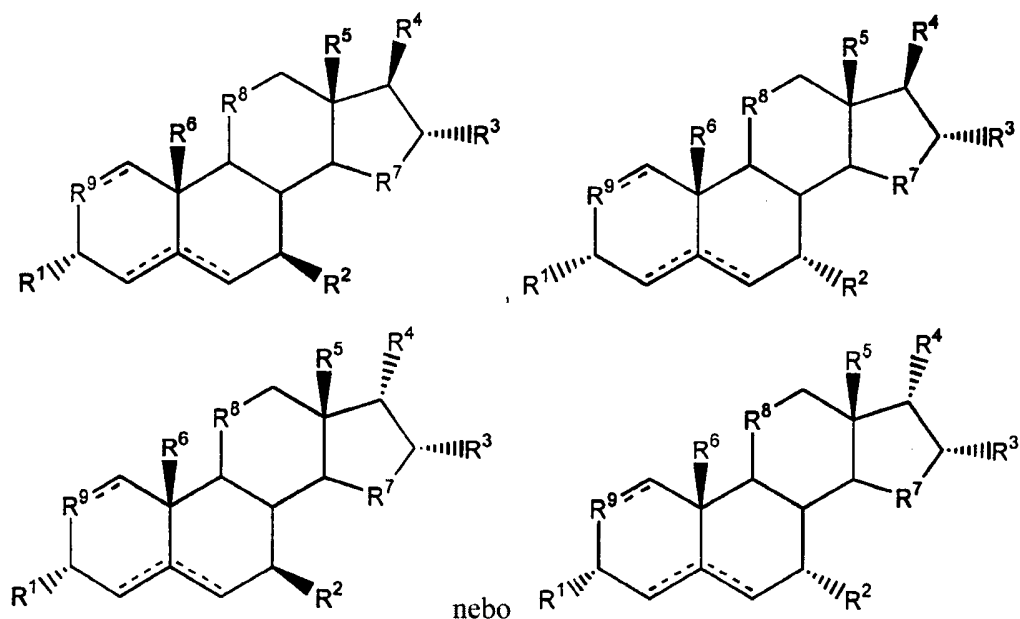
3A. Sloučenina podle provedení 1A nebo 2A, kde substituent R^7 je $-\text{CH}_2\text{-CHR}^{10}-$, $-\text{OCHR}^{10}-$ nebo $-\text{O-C(O)-}$.

4A. Sloučenina podle provedení 1A, 2A nebo 3A, kde substituent R^8 nebo R^9 není přítomen.

5A. Sloučenina podle provedení 1A nebo 2A, kde substituenty R^7 a R^9 jsou nezávisle $-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH=}$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ nebo $-\text{NH}-$, kde substituent R^{10} je $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, C_{1-30} organická část, C_{1-30} ester, C_{1-10} případně substituovaná alkylová skupina, C_{1-10} případně substituovaná alkoxy skupina, C_{1-10} případně substituovaná alkenylová skupina nebo C_{1-10} případně substituovaná alkynylová skupina.

6A. Sloučenina podle provedení 1A, 2A, 3A, 4A nebo 5A, kde sloučenina obecného vzorce (1) má následující strukturu



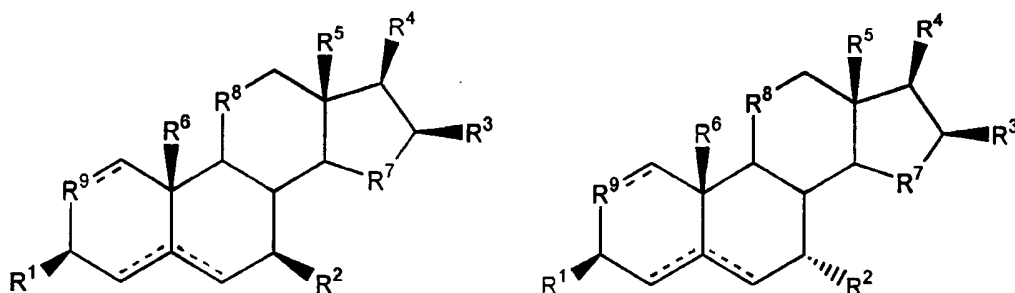


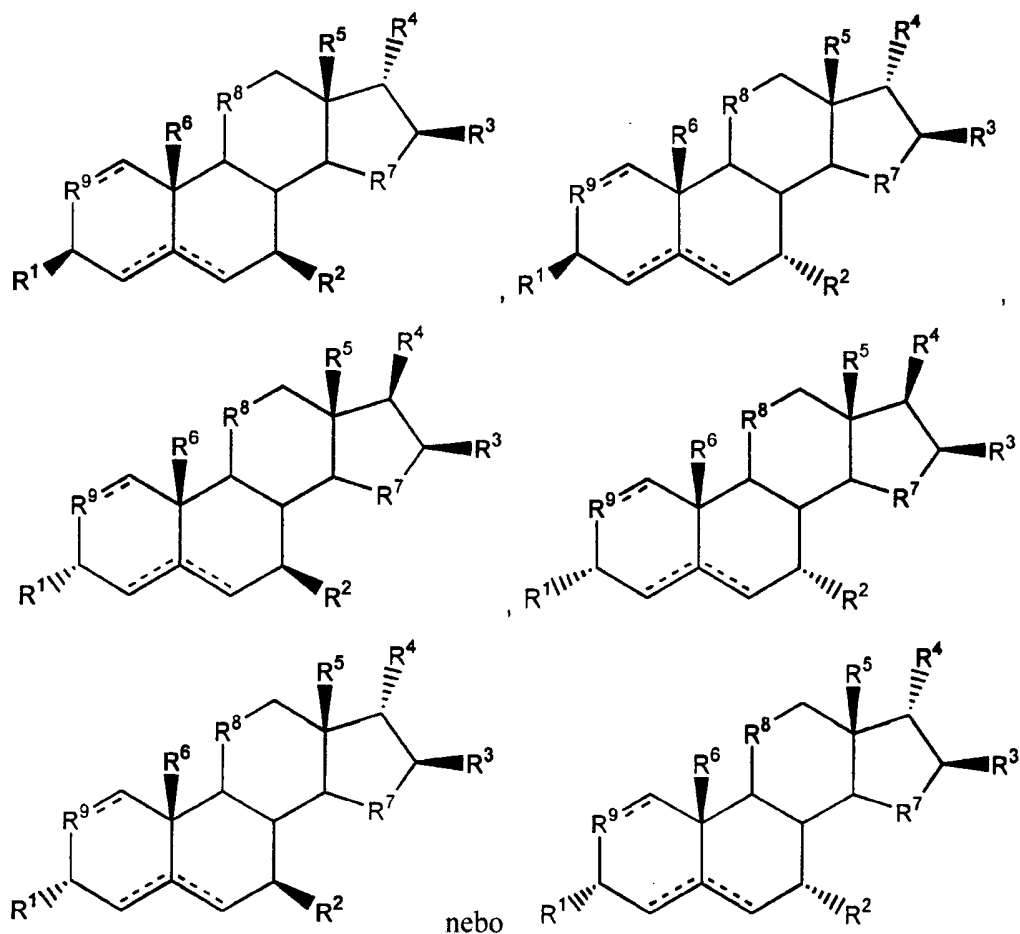
kde atomy vodíku v poloze 5 (pokud existuje), 8, 9 a 14 mají konfigurace jsou $\alpha.\alpha.\alpha.\alpha.$, $\alpha.\alpha.\alpha.\beta.$, $\alpha.\alpha.\beta.\alpha.$, $\alpha.\beta.\alpha.\alpha.$, $\beta.\alpha.\alpha.\alpha.$, $\alpha.\alpha.\beta.\beta.$, $\alpha.\beta.\alpha.\beta.$, $\beta.\alpha.\alpha.\beta.$, $\beta.\alpha.\beta.\alpha.$, $\beta.\beta.\alpha.\alpha.$, $\alpha.\beta.\beta.\alpha.$, $\alpha.\beta.\beta.\beta.$, $\beta.\alpha.\beta.\beta.$, $\beta.\beta.\alpha.\beta.$, $\beta.\beta.\beta.\alpha.$ nebo $\beta.\beta.\beta.\beta.$, typicky $\alpha.\alpha.\beta.\alpha.$ nebo $\beta.\alpha.\beta.\alpha.$

7A. Sloučenina podle provedení 6A, kde substituent R^4 je $-\text{OH}$, $=\text{O}$, $-\text{SH}$, C_{1-30} ester nebo C_{1-30} alkoxy skupina, kde ester nebo alkoxy skupina je případně substituovaná jedním, dvěma nebo více nezávisle vybranými substituenty, které jsou případně vybrány z $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{I}$, $-\text{O}$, $=\text{O}$, $-\text{S}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{OR}^{\text{PR}}$, $-\text{SR}^{\text{PR}}$ nebo $-\text{NHR}^{\text{PR}}$.

8A. Sloučenina podle provedení 6A nebo 7A, kde substituent R^1 je $-\text{OH}$, $=\text{O}$, $-\text{SH}$, C_{1-30} ester nebo C_{1-30} alkoxy skupina, kde ester nebo alkoxy skupina je případně substituovaná jedním, dvěma nebo více nezávisle vybranými substituenty, které jsou případně vybrány z $-\text{F}$, Cl , $-\text{Br}$, $-\text{I}$, $-\text{O}$, $=\text{O}$, $-\text{S}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{OR}^{\text{PR}}$, $-\text{SR}^{\text{PR}}$ nebo $-\text{NHR}^{\text{PR}}$.

9A. Sloučenina podle provedení 1A, 2A nebo 3A, kde sloučenina obecného vzorce (1) má následující strukturu





kde atomy vodíku v poloze 5 (pokud existuje), 8, 9 a 14 mají konfigurace jsou $\alpha.\alpha.\alpha.\alpha$, $\alpha.\alpha.\alpha.\beta$, $\alpha.\alpha.\beta.\alpha$, $\alpha.\beta.\alpha.\alpha$, $\beta.\alpha.\alpha.\alpha$, $\alpha.\alpha.\beta.\beta$, $\alpha.\beta.\alpha.\beta$, $\beta.\alpha.\alpha.\beta$, $\beta.\alpha.\beta.\alpha$, $\beta.\beta.\alpha.\alpha$, $\alpha.\beta.\beta.\alpha$, $\alpha.\beta.\beta.\beta$, $\beta.\alpha.\beta.\beta$, $\beta.\beta.\alpha.\beta$, $\beta.\beta.\beta.\alpha$ nebo $\beta.\beta.\beta.\beta$, typicky $\alpha.\alpha.\beta.\alpha$ nebo $\beta.\alpha.\beta.\alpha$.

10A. Sloučenina podle provedení 9A, kde substituent R^4 je -OH, =O, -SH, C_{1-30} ester nebo C_{1-30} alkoxy skupina, kde ester nebo alkoxy skupina je případně substituovaná jedním, dvěma nebo více nezávisle vybranými substituenty, které jsou případně vybrány z -F, -Cl, -Br, -I, -O, =O, -S-, -NH-, $-OR^{PR}$, $-SR^{PR}$ nebo $-NHR^{PR}$, I, -O-.

11A. Sloučenina podle provedení 9A nebo 10A, kde substituent R^1 je -OH, =O, -SH, C_{1-30} ester nebo C_{1-30} alkoxy skupina, kde ester nebo alkoxy skupina je případně substituovaná jedním, dvěma nebo více nezávisle vybranými substituenty, které jsou případně vybrány z F, -Cl, -Br, -I, -O-, =O, -S-, -NH-, $-OR^{PR}$, $-SR^{PR}$ nebo $-NHR^{PR}$.

12A. Přípravek obsahující sloučeninu podle kteréhokoliv z provedení 1A-11A a pomocnou látku vhodnou pro humánní farmaceutické použití nebo pro veterinární použití, např. pomocná látka podle předloženého vynlezu nebo v citovaných odkazech.

13A. Produkt připravený způsobem, ve kterém dochází ke kontaktu sloučeniny podle kteréhokoliv z provedení 1A-11A a pomocné látky vhodné pro humánní farmaceutické použití nebo pro veterinární použití, např. pomocná látka podle předloženého vynálezu nebo citovaných odkazů.

14A. Použití sloučeniny, přípravku nebo produktu podle kteréhokoliv z provedení 1A-13A k přípravě léčivého přípravku pro použití k prevenci nebo k ošetření nebo ke zlepšení jednoho nebo více symptomů spojených s infekcí, imunsupresí, zhoubným bujením, stavem před zhoubným bujením nebo k modulaci savčích imunitních odpovědí, např. zvýšení Th1 odpovědí nebo snížení Th2 odpovědí, např. infekce, zhoubného bujení nebo imunitní ztrátu regulace podle předloženého vynálezu nebo citovaných odkazů.

15A. Použití podle provedení 14A, kde infekce je infekce virem (např. HIV, HCV, Herpesvirus, togavirus, lidskou verzí papilomaviru nebo jiné viry podle předloženého vynálezu nebo citovaných odkazů), bakteriální infekce (např. *Borrelia sp.*, *Legionella sp* nebo jiné bakterie podle předloženého vynálezu nebo citovaných odkazů), infekce plísněmi nebo kvasinkami (např. *Candida sp.*, *Aspergillus sp* nebo jiné kvasinky popsané v předloženém vynálezu nebo citovaných odkazech) nebo infekce parazitem (např. parazit způsobující malárii, gastrointestinální parazit, helmint, *Leishmania sp.*, *Cryptosporidium sp.*, *Toxoplasma gondii*, *Pneumocystis carinii*, *Schistosoma sp.*, *Strongyloides stercoralis* nebo jiní paraziti podle předloženého vynálezu nebo citovaných odkazů).

16A. Sloučenina, přípravek, produkt nebo použití podle kteréhokoliv z provedení 1A-15A, kde sloučenina obecného vzorce (1) je sloučenina vyjmenovaná v kterékoliv skupině sloučenin 1 až 42-25-10-6 nebo sloučenina obecného vzorce (1) je species v kterékoliv podskupině popsané v kterékoliv skupině sloučenin 1 až 42-25-10-6.

V dalších aspektech popisuje předložený vynález způsoby dávkování, které jsou vhodné pro ošetření onemocnění podle předloženého vynálezu. Následující provedení popisují některé z těchto způsobů.

1B. Způsob zahrnující intermitentně podávanou jednu nebo více sloučenin obecného vzorce (1) (nebo přípravek obsahující sloučeninu obecného vzorce (1)) subjektu nebo podání sloučenin(y) obecného vzorce (1) do tkání subjektu (nebo přípravek obsahující sloučeninu obecného vzorce (1)), např. jakákoliv sloučenina obecného vzorce (1) vyjmenovaná nebo popsaná v předloženém vynálezu, včetně sloučenin popsaných v provedeních 1-64 a 1A-11A výše.

2B. Způsob podle provedení 1B, kde subjekt má infekci, hyperproliferaci, hypoproliferaci, trpí immunosupresí, má nežádoucí imunitní odpovědi nebo subjekt v poslední době protrpěl nebo bude brzo trpět traumatem, podstoupí chirurgii nebo terapeutickým ošetřením, přičemž terapeutické ošetření jiné než způsob podle provedení 1B.

3B. Způsob podle provedení 2B, kde immunosuprese nebo nežádoucí imunitní odpovědi jsou spoje jiné s infekcí virem, intracelulární bakteriální infekcí, extracelulární bakteriální infekcí, infekcí plísněmi nebo kvasinkami, extracelulární infekcí parazitem, intracelulární infekcí parazitem, protozoem, multiceulárním parazitem, autoimunním onemocněním, karcinomem, prekarcinomem, chemoterapií, radioterapií, immunosupresivní terapií, terapií protiinfekčním agens, zraněním, popáleninou, přítomností immunosupresivních molekul, gastrointestinálním podrážděním nebo jakoukoliv kombinací výše zmíněných.

4B. Způsob podle provedení 3B, kde immunosupresivní stav subjektu je zlepšen nebo nežádoucí imunitní odpovědi (např. Th2 odpovědi) jsou redukovány nebo Th1 imunitní odpovědi subjektu jsou zvýšeny.

5B. Způsob podle provedení 3B, kde přirozená imunita subjektu, specifická imunita nebo obě jsou zvýšeny.

6B. Způsob podle provedení 5B, kde přirozená imunita subjektu je zvýšena.

7B. Způsob podle provedení 6B, kde specifická imunita subjektu je zvýšena, např. kde Th2 imunitní odpovědi subjektu jsou redukovány nebo kde Th1 imunitní odpovědi subjektu jsou zvýšeny.

8B. Způsob podle provedení 2B, kde jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1) je nebo jsou podávány podle dávkovacího režimu zahrnujícího kroky

(a) podání jedné nebo více sloučenin obecného vzorce (1) subjektu alespoň jednou denně po alespoň 2 dny;

(b) vysazení dávek jedné nebo více sloučenin obecného vzorce (1) subjektu po alespoň 1 den;

(c) podání jedné nebo více sloučenin obecného vzorce (1) subjektu alespoň jednou denně po alespoň 2 dny; a

(d) případně opakování kroků (a), (b) a (c) alespoň jednou nebo obměny kroků (a), (b) a (c) alespoň jednou.

9B. Způsob podle provedení 8B, kde krok (c) zahrnuje stejný dávkovací režim jako v kroku (a).

10B. Způsob podle provedení 9B, kde krok (a) dávkovacího režimu zahrnuje podání jedné nebo více sloučenin obecného vzorce (1) jednou denně, dvakrát denně, třikrát denně nebo čtyřikrát denně.

11B. Způsob podle provedení 10B, kde krok (a) dávkovacího režimu zahrnuje podání jedné nebo více sloučenin obecného vzorce (1) jednou denně nebo dvakrát denně.

12B. Způsob podle provedení 10B, kde krok (a) zahrnuje podání jedné nebo více sloučenin obecného vzorce (1) po dobu 3 až 24 dnů.

13B. Způsob podle provedení 12B, kde krok (a) zahrnuje podání jedné nebo více sloučenin obecného vzorce (1) po dobu 4 až 12 dnů.

14B. Způsob podle provedení 13B, kde krok (a) zahrnuje podání jedné nebo více sloučenin obecného vzorce (1) po dobu 4 až 8 dny.

15B. Způsob podle provedení 14B, kde krok (b) zahrnuje vysazení dávek jedné nebo více sloučenin obecného vzorce (1) po dobu 3 až 120 dnů.

16B. Způsob podle provedení 15B, kde krok (b) zahrnuje vysazení dávek jedné nebo více sloučenin obecného vzorce (1) po dobu 4 až 60 dnů.

17B. Způsob podle provedení 16B, kde krok (b) zahrnuje vysazení dávek jedné nebo více sloučenin obecného vzorce (1) po dobu 5 až 30 dnů.

18B. Způsob podle provedení 16B, kde krok (b) zahrnuje vysazení dávek jedné nebo více sloučenin obecného vzorce (1) po dobu 8 až 60 dnů.

19B. Způsob podle provedení 15B, kde kroky (a), (b) a (c) jsou opakovány alespoň čtyřikrát.

20B. Způsob podle provedení 15B, kde kroky (a), (b) a (c) jsou opakovány pětkrát až dvacetpětkrát.

21B. Způsob podle provedení 15B, kde kroky (a), (b) a (c) a opakování kroků (a), (b) a (c) se provádí po dobu alespoň 2 měsíců.

22B. Způsob podle provedení 15B, kde kroky (a), (b) a (c) a opakování kroků (a), (b) a (c) se provádí po dobu alespoň 12 měsíců.

23B. Způsob podle provedení 8B, kde krok (b) zahrnuje vysazení dávek jedné nebo více sloučenin obecného vzorce (1) po dobu 3 až 120 dnů.

24B. Způsob podle provedení 23B, kde krok (b) zahrnuje vysazení dávek jedné nebo více sloučenin obecného vzorce (1) po dobu 4 až 60 dnů.

25B. Způsob podle provedení 24B, kde krok (b) zahrnuje vysazení dávek jedné nebo více sloučenin obecného vzorce (1) po dobu 5 až 30 dnů.

26B. Způsob podle provedení 23B, kde krok (b) zahrnuje vysazení dávek jedné nebo více sloučenin obecného vzorce (1) po dobu 8 až 60 dnů.

27B. Způsob podle provedení 8B, kde krok (d) zahrnuje opakování kroků (a), (b) a (c) alespoň jednou.

28B. Způsob podle provedení 27B, kde krok (d) zahrnuje opakování kroků (a), (b) a (c) třikrát až dvacetpětkrát.

29B. Způsob podle provedení 1 B, kde kroky (a), (b) a (c) a opakování kroků (a), (b) a (c) se provádí po dobu alespoň 2 měsíců.

30B. Způsob podle provedení 29B, kde kroky (a), (b) a (c) a opakování kroků (a), (b) a (c) se provádí po dobu alespoň 12 měsíců.

31B. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 8B-30B, kde immunosuprese nebo nežádoucí imunitní odpovědi jsou spoje jiné s infekcí virem, intracelulární bakteriální infekcí, extracelulární bakteriální infekcí, infekcí plísněmi nebo kvasinkami, extracelulární infekcí parazitem, intracelulární infekcí parazitem, protozoem, multicelulárním parazitem, autoimunním onemocněním, karcinomem, prekarcinomem, chemoterapií, radioterapií, immunosupresivní terapií, terapií protiinfekčním agens, zraněním, popáleninou, přítomností immunosupresivních molekul, gastrointestinálním podrážděním nebo jakoukoliv kombinací výše zmíněných.

32B. Způsob podle provedení 31B, kde immunosupresivní stav subjektu je zlepšen nebo nežádoucí imunitní odpovědi jsou redukovány.

33B. Způsob podle provedení 32B, kde přirozená imunita subjektu, specifická imunita nebo obě jsou zvýšeny.

34B. Způsob podle provedení 33B, kde přirozená imunita subjektu je zvýšena.

35B. Způsob podle provedení 34B, kde specifická imunita subjektu je zvýšena.

36B. Způsob podle provedení 8B, kde krok (c) zahrnuje kratší dávkovací režim než krok (a).

37B. Způsob podle provedení 36B, kde krok (a) zahrnuje podání sloučeniny obecného vzorce (1) po dobu 7 až 24 dnů.

38B. Způsob podle provedení 37B, kde krok (c) zahrnuje podání sloučeniny obecného vzorce (1) po dobu 4 až 12 dnů.

39B. Způsob podle provedení 38B, kde krok (b) zahrnuje vysazení dávek sloučeniny obecného vzorce (1) po dobu 3 až 120 dnů.

40B. Způsob podle provedení 39B, kde krok (b) zahrnuje vysazení dávek sloučeniny obecného vzorce (1) po dobu 4 až 60 dnů.

41B. Způsob podle provedení 40B, kde krok (b) zahrnuje vysazení dávek sloučeniny obecného vzorce (1) po dobu 5 až 30 dnů.

42B. Způsob podle provedení 36B, kde krok (d) zahrnuje opakování kroků (a), (b) a (c) alespoň jednou.

43B. Způsob podle provedení 42B, kde krok (d) zahrnuje opakování kroků (a), (b) a (c) třikrát až dvacetpětkrát.

44B. Způsob podle provedení 36B, kde kroky (a), (b) a (c) a opakování kroků (a), (b) a (c) se provádí po dobu alespoň 2 měsíců.

45B. Způsob podle provedení 44B, kde kroky (a), (b) a (c) a opakování kroků (a), (b) a (c) se provádí po dobu alespoň 12 měsíců.

46B. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 36B-45B, kde immunosuprese nebo nežádoucí imunitní odpovědi jsou spoje jiné s infekcí virem, intracelulární bakteriální infekcí, extracelulární bakteriální infekcí, infekcí plísněmi nebo kvasinkami, extracelulární infekcí parazitem, intracelulární infekcí parazitem, protozoem, multiceulárním parazitem, autoimunním onemocněním, karcinomem, prekarcinomem, chemoterapií, radioterapií, imunosupresivní terapií, terapií protiinfekčním agens, zraněním, popáleninou, přítomností imunosupresivních molekul, gastrointestinálním podrážděním nebo jakoukoliv kombinací výše zmíněných.

47B. Způsob podle provedení 46B, kde imunosupresivní stav subjektu je zlepšen nebo nežádoucí imunitní odpovědi redukovány.

48B. Způsob podle provedení 47B, kde přirozená imunita subjektu, specifická imunita nebo obě jsou zvýšeny.

49B. Způsob podle provedení 48B, kde přirozená imunita subjektu je zvýšena.

50B. Způsob podle provedení 48B, kde specifická imunita subjektu je zvýšena.

51B. Způsob podle provedení 8B, kde krok (c) zahrnuje delší dávkovací režim než krok (a).

52B. Způsob podle provedení 51B, kde krok (a) zahrnuje podání sloučeniny obecného vzorce (1) po dobu 7 až 24 dnů.

53B. Způsob podle provedení 52B, kde krok (c) zahrnuje podání sloučeniny obecného vzorce (1) po dobu 4 až 12 dnů.

54B. Způsob podle provedení 53B, kde krok (b) zahrnuje vysazení dávek sloučeniny obecného vzorce (1) po dobu 3 až 120 dnů.

55B. Způsob podle provedení 54B, kde krok (b) zahrnuje vysazení dávek sloučeniny obecného vzorce (1) po dobu 4 až 60 dnů.

56B. Způsob podle provedení 55B, kde krok (b) zahrnuje vysazení dávek sloučeniny obecného vzorce (1) po dobu 5 až 30 dnů.

57B. Způsob podle provedení 51B, kde krok (d) zahrnuje opakování kroků (a), (b) a (c) alespoň jednou.

58B. Způsob podle provedení 57B, kde krok (d) zahrnuje opakování kroků (a), (b) a (c) třikrát až dvacetpětkrát.

59B. Způsob podle provedení 51B, kde kroky (a), (b) a (c) a opakování kroků (a), (b) a (c) se provádí po dobu alespoň 2 měsíců.

60B. Způsob podle provedení 59B, kde kroky (a), (b) a (c) a opakování kroků (a), (b) a (c) se provádí po dobu alespoň 12 měsíců.

61B. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 51 B-60B, kde immunosuprese nebo nežádoucí imunitní odpovědi jsou spoje jiné s infekcí virem, intracelulární bakteriální infekcí, extracelulární bakteriální infekcí, infekcí plísněmi nebo kvasinkami, extracelulární infekcí parazitem, intracelulární infekcí parazitem, protozoem, multiceulárním parazitem, autoimunním onemocněním, karcinomem, prekarcinomem, chemoterapií, radioterapií, imunosupresivní terapií, terapií protiinfekčním agens, zraněním, popáleninou, přítomností imunosupresivních molekul, gastrointestinálním podrážděním nebo jakoukoliv kombinací výše zmíněných.

62B. Způsob podle provedení 61B, kde imunosupresivní stav subjektu je zlepšen nebo nežádoucí imunitní odpovědi jsou redukovány.

63B. Způsob podle provedení 62B, kde přirozená imunita subjektu, specifická imunita nebo obě jsou zvýšeny nebo Th1 imunitní odpovědi subjektu jsou zvýšeny nebo Th2 imunitní odpovědi subjektu jsou sníženy.

64B. Způsob podle provedení 8B, kde obměny kroků (a), (b) a (c) zahrnují provedení prvního dávkovacího režimu podle kroků (a), (b) a (c) jednou, dvakrát nebo třikrát, poté jeden nebo více druhých dávkovacích režimů podle kroků (a'), (b') a (c'), kde

jeden nebo více kroků (a'), (b') a (c') v druhém dávkovacím režimu je delší než odpovídající krok v prvním dávkovacím režimu.

65B. Způsob podle provedení 8B, kde obměny kroků (a), (b) a (c) zahrnují provedení prvního dávkovacího režimu podle kroků (a), (b) a (c) jednou, dvakrát nebo třikrát, poté jednu nebo více druhých dávkovacích režimů podle kroků (a'), (b') a (c'), kde jeden nebo více kroků (a'), (b') a (c') v druhém dávkovacím režimu je kratší než odpovídající krok v prvním dávkovacím režimu.

66B. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 1B-67B, kde jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1) je nebo jsou podávány perorálně, intramuskulárně, intravenózně, subkutánně, místně, vaginálně, rektálně, intrakraniálně, intratekálně, intradermálně, ve formě aerosolu nebo bukalním způsobem.

67B. Způsob podle provedení 66B, kde jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1) je nebo jsou přítomné v pevné formulaci převážně jako pevná látka nebo jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1) je nebo jsou přítomny v tekuté formulaci převážně jako solvát, koloid nebo suspenze nebo jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1) je nebo jsou přítomny v gelu, krému nebo pastě.

68B. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 2B-67B, kde infekce virem, intracelulární bakteriální infekce, extracelulární bakteriální infekce, plísňová infekce, infekce kvasinkami, extracelulární infekce parazitem, intracelulární infekce parazitem, parazitem typu protozoa, multiceulární parazit, autoimunní choroba, karcinom, prekarcinom, chemoterapie, radioterapie, imunosupresivní terapie, terapie protiinfekčním agens, zranění, spálenina nebo přítomnost imunosupresivních molekul, gastrointestinální podráždění subjektu nebo jakákoliv kombinace výše zmíněných je (a) infekce DNA virem nebo infekce RNA virem (HSV, CMV, HBV, HCV, HIV, SHIV, SIV); (b) infekce mykoplazmaty, infekce mikroorganismy rodu *Listeria* nebo *Mycobacterium*; (c) extracelulární bakteriální infekce; (d) plísňová infekce; (e) infekce kvasinkami (rody *Candida*, *Cryptococcus*); (d) protozoa (malária, leishmanióza, cryptosporidium, toxoplazmóza, pneumocystóza); (e) multiceulární parazit; (autoimunní choroby (SLE, RA, diabetes); (g) karcinomy (pevné karcinomy vybrané např. z karcinomu vaječníků, prsu, prostaty, gliomu; diseminované karcinomy vybrané z lymfomu, leukémie, tlustého střeva, sarkomu); (h) prekarcinomy; (i) chemoterapie (adriamycinem, cisplatinem, mitomycinem C); (j) radioterapie; (k) imunosupresivní terapie; (l) terapie protiinfekčním agens; (m) poranění (chirurgická nebo jiná); (n) první, druhý nebo třetí stupeň popálenin;(o)

imunosupresivní molekuly; (p) gastrointestinální podráždění (ititabilní vnitřnosti, Crohnova nemoc, chronická diareja); nebo (q) jakákoliv kombinace bodů (a) až (p).

69B. Způsob podle provedení 68B, kde infekce RNA virem je infekce retrovirem nebo infekce virem hepatitidy.

70B. Způsob podle provedení 68B nebo 69B, kde jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1) je jedna sloučenina obecného vzorce (1).

71B. Způsob podle provedení 70B, kde jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1) je nebo jsou v obsaženy přípravku, který obsahuje (a) jednu nebo více bezvodých tekutých, pomocných látek, přičemž přípravek obsahuje méně než 3 obj.% vody; (b) pevnou látku, která obsahuje farmaceuticky přijatelnou pomocnou látku; nebo (c) jednu nebo více tekutých, pomocných látek, přičemž přípravek obsahuje více než 3 obj.% vody.

72B. Způsob podle provedení 68B nebo 71B, kde sloučenina obecného vzorce (1) je 16α -brom- 3β -hydroxy- 5α -androstan-17-on, 16α -brom- $3\beta,7\beta$ -dihydroxy- 5α -androstan-17-on, 16α -brom- $3\beta,7\beta,17\beta$ -trihydroxy- 5α -androsten, 16α -brom- $3\beta,7\beta$ -dihydroxy- 5α -androstan, 16α -brom- $3\beta,7\beta$ -dihydroxy- 5α -androsten, 16α -brom- $3\beta,7\beta,17\beta$ -trihydroxy- 5α -androstan, 16β -brom- $3\beta,17\beta$ -dihydroxy- 5α -androstan, 16β -brom- $3\beta,17\beta$ -dihydroxy- 5α -androsten, 16β -brom- $3\beta,7\beta,17\beta$ -trihydroxy- 5α -androstan, 16β -brom- 3β -hydroxy- 5α -androstan-17-on, 16β -brom- 3β -hydroxy- 5α -androsten-17-on, 16β -brom- $3\beta,7\beta$ -dihydroxy- 5α -androstan-17-on nebo 16β -brom- $3\beta,7\beta$ -dihydroxy- 5α -androsten-17-on.

73B. Způsob podle provedení 72B, kde sloučenina obecného vzorce (1) je 16α -brom- 3β -hydroxy- 5α -androstan-17-on.

74B. Způsob podle provedení 1B-73B, kde sloučenina obecného vzorce (1) vylučuje dnu nebo více jakékoliv sloučenin obecného vzorce (1).

75B. Způsob ošetření vřelí neovladatelného váhového úbytku, perorální léze, kožní léze, oportunní infekci, diareu nebo únavu v subjektu zahrnující intermitentní podávání sloučenin obecného vzorce (1) subjektu (např. vřelí neovladatelného váhového úbytku v důsledku virové infekce, gastrointestinální infekce, chemoterapie, anorexie).

76B. Způsob podle provedení 75B, kde subjekt má imunosupresivní stav.

77B. Způsob podle provedení 76B, kde subjekt je lidský subjekt.

78B. Způsob podle provedení 77B, kde subjekt je lidský subjekt o stáří 1 dnu až 18 let (např. 1 měsíc až 6 let starý).

79B. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 75B-78B, kde specifická imunita subjektu zůstává oslabená v porovnání s typově srovnatelnými kontrolními subjekty, které nemají stejný patologický stav jako subjekt.

80B. Způsob podle provedení 79B, kde se počet CD4 buněk subjektu výrazně nezvyšuje během jednoho nebo více režimů dávkování (např. dávkování po dobu 1 týdne až 2 týdnů nebo více).

81B. Způsob podle provedení 80B, kde počet CD4 buněk subjektu je 20 až 100 CD4⁺ buněk na mm³ nebo 20 až 75 CD4⁺ buněk na mm³.

82B. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 1B-81B, kde subjekt je infikován patogenem(y) nebo má zhoubné bujení a patogen(y) nebo zhoubné bujení se nestávají rezistentním sloučeninu obecného vzorce (1) po dobu běžně spojenou s vývojem měřitelné rezistence u alespoň 50% subjektů, které byly ošetřovány jiným terapeutickým ošetřením než tím, které zahrnuje sloučeninu(y) obecného vzorce (1).

83B. Způsob podle provedení 82B, kde infekce patogenem zahrnuje infekci HIV, SIV, SHIV nebo HCV.

84B. Způsob podle provedení 82B nebo 83B, kde sloučenina obecného vzorce (1) je jedna nebo více sloučenin vybraných z 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstan-17-onu, 16 α -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androstenu, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstanu, 16 α -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstenu, 16 α -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androstanu, 16 β -brom-3 β ,17 β -dihydroxy-5 α -androstenu, 16 β -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstenu, 16 β -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androstanu, 16 β -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu, 16 β -brom-3 β -hydroxy-5 α -androsten-17-onu, 16 β -brom-3 β ,7 β ,17 β -dihydroxy-5 α -androstan-17-onu nebo jejich fyziologicky přijatelný ester, karbonát, karbamát, aminokyselinový konjugát nebo peptidový konjugát.

85B. Způsob podle provedení 84B, kde sloučenina obecného vzorce (1) je 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-on nebo její fyziologicky přijatelný ester, karbonát, karbamát, aminokyselinový konjugát nebo peptidový konjugát.

86B. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 1B-85B, kde sloučenina obecného vzorce (1) je sloučenina vyjmenovaná v kterékoliv skupině sloučenin 1 až 42-25-10-6 nebo sloučenina obecného vzorce (1) je species v kterékoliv podskupině popsané v kterékoliv skupině sloučenin 1 až 42-25-10-6.

V dalších provedeních popisuje předložený vynález způsoby modulace imunitních buněk nebo imunitních odpovědí v subjektu. Následující provedení popisují některé z těchto způsobů.

1C. Způsob modulace přirozené imunity subjektu nebo zvýšení Th1 imunitních odpovědí nebo redukce Th2 imunitních odpovědí zahrnující podání sloučenin obecného vzorce (1) subjektu, včetně jakékoliv sloučeniny obecného vzorce (1), která popsána nebo uvedena v předloženém vynálezu, včetně sloučenin popsaných ve výše zmíněných provedeních 1-64 a 1A-11A.

2C. Způsob podle provedení 1C, kde přirozená imunita subjektu je zvýšena.

3C. Způsob podle provedení 1C nebo 2C, kde subjekt trpí potlačením přirozené imunity, potlačením Th1 imunitních odpovědí nebo nežádoucích Th2 imunitních odpovědí.

4C. Způsob podle provedení 3C, kde stav potlačení přirozené imunity, potlačení Th1 imunitních odpovědí nebo nežádoucích Th2 imunitních odpovědí je spojeno s infekcí virem, intracelulární bakteriální infekcí, extracelulární bakteriální infekcí, infekcí plísní a kvasinkami, extracelulární infekcí parazitem, intracelulární infekcí parazitem, parazitem typu protozoa, multicelulárním parazitem, autoimunní chorobou, karcinomem, prekarcinomem, chemoterapií, radioterapií, imunosupresivní terapií, terapií protiinfekčním agens, zraněním, popáleninou nebo přítomností imunosupresivních molekul nebo jakoukoliv kombinací výše zmíněných.

5C. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 1C-3C, kde Th1 imunitní odpovědi subjektu jsou zvýšeny.

6C. Způsob podle provedení 1C, kde Th2 imunitní odpovědi subjektu jsou redukovány.

7C. Způsob podle provedení 6C, kde subjekt trpí onemocněním zahrnujícím nežádoucí imunitní odpovědi (např. autoimunní choroba, SLE, diabetes).

9C. Způsob podle provedení 6C nebo 7C, kde subjekt je obratlovec, savec, primát nebo člověk.

10C. Způsob podle provedení 9, kde modulace specifické imunity obratlovce, savce, primáta nebo člověka je (i) zvýšená CTL nebo Th1 odpověď na infekci virem nebo maligní buňky *in vitro* nebo *in vivo*, (ii) zvýšená přítomnost antigenu nebo biologická aktivita dendritických buněk nebo prekurzorů dendritických buněk nebo (iii) zvýšené usmrcování virem infikovaných nebo maligních buněk.

11C. Způsob podle provedení 10C, kde obratlovec je člověk, infekce virem je HIV infekce a CTL nebo Th1 odpověď zahrnuje zvýšené počet odpověď na jednu nebo více gag proteinů HIV nebo gp120 HIV.

12C. Způsob podle provedení 1C, 4C, 10C nebo 11C, kde Th1 buňky, tumorem infiltrované lymfocyty (TIL buňky), NK buňky, periferní krevní lymfocyty, fagocyty, monocyty, makrofágy, neutrofily, eosinofily, dendritické buňky nebo fibrocyty subjektu jsou aktivované, což je měřitelné např. zvýšenou absorpcí ^3H -thymidinu v porovnání s neošetřovanými kontrolními vzorky nebo zvýšením počtu buněčného typu při cirkulaci nebo prokazatelným posunem buněčného typu z jedné tkáně nebo strukturního oddílu (např. kůže) do jiné tkáně nebo strukturního oddílu (např. krve, mízních uzlin, sleziny, thymu).

13C. Způsob podle provedení 1C, 4C, 10C, 11C nebo 12C, kde sloučenina(y) obecného vzorce (1) modulují transkripci jednoho nebo více genů NK-buněk, fagocytů, monocytů, makrofágů, neutrofilů, eosinofilů, dendritických buněk nebo fibrocytů subjektu je aktivováno (např. prokazatelně zvýšenou aktivitou proteinkinasy C nebo modulací biologické aktivity receptoru steroidu nebo receptoru „orphan“ nukleárního hormonu).

14C. Způsob podle provedení 1C, kde sloučenina(y) obecného vzorce (1) zvyšují pohyb lysozmů v jedné nebo více NK buněk, fagocytech, monocytech, makrofázích, neutrofilech, eosinofilech, dendritických buněk nebo fibrocytů subjektu.

15C. Způsob podle provedení 1C, kde sloučenina(y) obecného vzorce (1) zvyšují aktivitu proteinkinasy C v jedné nebo více NK buněk, fagocytech, monocytech, makrofázích, neutrofilech, eosinofilech, dendritických buněk nebo fibrocytech (např. PKC α , PKC β , PKC γ a PKC ζ).

16C. Přípravek obsahující částečně purifikovaný nebo zcela purifikovaný komplex obsahující sloučeninu obecného vzorce (1) a receptor steroidu, sérum proteinu vázajícího steroid (např. lidský sérumalbumin, α 1-kyselinový glykoprotein, globulin vázající pohlavní hormon, globulin vázající testosteron, globulin vázající kortikosteroid, protein vázající androgen (potkání)) nebo vazebného partnera (např. komplexotvorné činidlo, lipozom, protilátka).

17C. Produkt vyrobený způsobem, ve kterém dochází ke kontaktu částečně purifikovaného nebo purifikovaného přípravku podle provedení 16C s jedním nebo více sterilními obaly, jednou nebo více injekčními stříkačkami, jednou nebo více farmaceuticky přijatelných pomocných látek (např. pomocná látka definovaná v „draft spec“ výše a

zahrnující sacharidy, laktosu, sacharosu, fillery, lubrikanty, pojiva nebo jakoukoliv pomocnou látku vyjmenovanou v jakémkoliv citovaném odkazu), jednou nebo více buňkami, jednou nebo více tkáněmi, plazmou nebo krví.

18C. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 1C-17C, kde subjekt má infekci, hyperproliferaci, hypoproliferaci, imunosupresi, nežádoucí imunitní odpovědi nebo subjekt v poslední době protrpěl nebo bude brzo trpět traumatem, podrobit chirurgii nebo terapeutickému ošetření, přičemž terapeutické ošetření je jiné než způsob podle provedení 1C.

19C. Způsob podle provedení 18C, kde imunosuprese nebo nežádoucí imunitní odpovědi jsou spoje jiné s infekcí virem, intracelulární bakteriální infekcí, extracelulární bakteriální infekcí, infekcí plísněmi nebo kvasinkami, extracelulární infekcí parazitem, intracelulární infekcí parazitem, protozoem, multiceulárním parazitem, autoimunním onemocněním, karcinomem, prekarcinomem, chemoterapií, radioterapií, imunosupresivní terapií, terapií protiinfekčním agens, zraněním, popáleninou, přítomností imunosupresivních molekul, gastrointestinálním podrážděním nebo jakoukoliv kombinací výše zmíněných.

20C. Způsob podle provedení 19C, kde imunosupresivní stav subjektu je zlepšen nebo nežádoucí imunitní odpovědi jsou redukovány.

21C. Způsob podle provedení 19C, kde imunosupresivní stav subjektu je spojen s infekcí virem.

22C. Způsob podle provedení 21C, kde infekce virem zahrnuje infekci DNA virem nebo RNA virem.

23C. Způsob podle provedení 22C, kde infekce RNA virem zahrnuje infekci retrovirem nebo infekci virem hepatitidy.

24C. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 18C-23C, kde subjekt trpí jednou nebo více nemocemi vybranými z chronické diarey, vřeli neovladatelného váhového úbytku (obvykle alespoň 5% nebo více), kachexií (obvykle alespoň 5% nebo více), ubýváním svalů, jednou nebo více perorálními lézemi (obvykle alespoň 1 cm²), jednou nebo více genitálními lézemi (obvykle alespoň 1 cm²), kožními lézemi (obvykle alespoň 1 cm²) nebo oportunní infekcí spojenou s AIDS.

25C. Způsob (např. stanovení biologické aktivity sloučeniny obecného vzorce (1) nebo modulace transkripce genu v buňce nebo bezbuněčném transkripčním systému zahrnující: (a) kontakt sloučenin(y) obecného vzorce (1) s buňkami nebo buněčnou

populací *in vitro* nebo *in vivo*; (b) měření jednoho nebo více (i) komplexů mezi vazebným partnerem a sloučeninou obecného vzorce (1), (ii) proliferaci buněk nebo buněčné populace, (iii) diferenciaci buněk nebo buněčné populace, (iv) aktivity proteinkinasy C, (v) míru fosforylace substrátu proteinkinasy C, (vi) transkripce jednoho nebo více cílových genů, (vii) zvýšení nebo inhibici buněčné odezby na steroidy, např. glukokortikoidy, (viii) inhibici steroidem indukované transkripce, např. glukokortikoidy, pohlavní steroidy, (ix) inhibice retrovirů (např. HIV, SIV, FIV nebo SHIV) LTR řízenou transkripcí nebo (x) modulaci množství imunitní buněčné populace při cirkulaci *in vivo* (např. cirkulující periferních krevních lymfocytů u savců, např. primátů nebo lidí); a (c) případně srovnání výsledků v kroku (b) s příslušnou kontrolní skupinou.

26C. Způsob podle provedení 25C, kde vazebný partner je receptor steroidu, transkripční faktor nebo nadskupina „orphan“ receptoru steroidního hormonu.

27C. Způsob podle provedení 25C, kde stanovená biologická aktivita je modulační aktivita sloučeniny obecného vzorce (1) pro replikaci nebo cytopatické účinky spojené s retroviry, virem hepatitidy nebo parazit typu protozoa.

28C. Způsob podle provedení 25C, kde stanovená biologická aktivita je modulační aktivita sloučeniny obecného vzorce (1) po dobu replikace, cytopatické účinky spojených s retroviry, virem hepatitidy nebo parazitem typu protozoa nebo stanovená biologická aktivita je metabolismus (stanoveno absorpcí ^3H -thymidinu) buněk nebo buněčné populace zahrnující NK buňky, fagocyty, monocyty, makrofágy, bazofily, eosinofily, fibrocyty, metamorfované buňky, buňky infikované virem, buňky infikované bakterií nebo buňky infikované parazitem.

29C. Způsob podle provedení 25C, kde cílový gen je gen viru, gen bakterie, gen parazita, gen související s karcinomem.

30C. Způsob podle provedení 29C, kde gen viru je gen polymerasy, gen reverzní transkriptasy, obálkový gen, gen proteasy nebo gen související s replikací nukleové kyseliny viru nebo strukturní gen viru.

31C. Způsob podle provedení 30C, kde gen polymerasy kóduje jedna polymerasu nebo kóduje RNA polymerasu.

32C. Způsob podle provedení 30C, kde gen reverzní transkriptasy kóduje lidskou, primátů, ptací nebo kočičí reverzní transkriptasu retroviru.

33C. Způsob zahrnující podání sloučenin(y) obecného vzorce (1) člověku nebo primátům, kteří byli zasaženi infekcí retrovirem a mají počet CD4 550 nebo menší.

34C. Způsob podle provedení 33C, kde člověk má počet CD4 20 až 100 nebo 20 až 80.

35C. Způsob podle provedení 33C, kde člověk má počet CD4 30 až 150.

36C. Způsob podle provedení 33C, kde člověk má počet CD4 500 nebo menší, 450 nebo menší, 400 nebo menší, 350 nebo menší, 300 nebo menší, 250 nebo menší, 200 nebo menší, 150 nebo menší, 100 nebo menší, 50 nebo menší nebo 25 nebo menší nebo 20 nebo menší.

37C. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 33C-36C, kde sloučenina(y) obecného vzorce (1) je obsažena v přípravku, který obsahuje jednu nebo více bezvodých tekutých pomocných látek a méně než 3 obj.% vody nebo kterákoliv formulace uvedená v podrobném popisu nebo kterékoliv výše vyjmenovaném provedení.

38C. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 33C-37C, kde sloučenina(y) obecného vzorce (1) je podávána podle intermitentního dávkovacího režimu uvedeného ve specifikacích nebo kterékoliv výše vyjmenovaném provedení.

39C. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 30C-45C, kde lidský subjekt je koinfikován virem hepatitidy typu C, virem hepatitidy typu B, HSV-1, HSV-2, parazitem způsobujícím malárii, parazitem rodu *Pneumocystis* nebo *Cryptosporidium*.

40C. Způsob podle provedení 46C, kde hladina HCV je u lidského subjektu redukována.

41C. Způsob zahrnující podání sloučenin(y) obecného vzorce (1) subjektu nebo do buňky (buněk) nervového systému v tkáňové kultuře, přičemž sloučenina obecného vzorce (1) se naváže na receptor asociovaný s buňkou (buňkami) v nervovém systému a (1) vyvolá biologickou odpověď v buňce (buňkách) nervového systému nebo v buňkách tkáňové kultury a/nebo (2) vyvolá neuronovou odpověď, která je přenášena do distančních míst(a) nebo buňky (buněk), kde způsob je případně používán ke screeningu sloučenin(y) obecného vzorce (1) na jejich biologickou aktivitu, k ošetření patologického stavu (např. infekce patogenem, např. virem (HIV), zhoubného bujení nebo neurologické poruchy, např. demence spojená s AIDS, Alzheimerova nemoc, Parkinsonova nemoc, roztroušená skleróza) v subjektu nebo ke stanovení biologické aktivity nebo metabolismu sloučenin(y) obecného vzorce (1) v subjektu nebo v buňkách v nervového systému nebo v tkáňové kultuře, kde metabolismus je případně stanoven srovnáním biologického účinku sloučenin(y) obecného vzorce (1) s kontrolní sloučeninou, která může být odlišná od sloučeniny obecného vzorce (1).

42C. Způsob podle provedení 41, kde receptor asociovaný s buňkou (buňkami) v nervovém systému je receptor(y) neurotransmiteru (např. receptor γ -aminomáselné kyseliny, např. typ A, NMDA receptor) a/nebo receptor steroidu (např. receptor androgenu, receptor estrogenu).

43C. Způsob podle provedení 41C nebo 42C, kde buňka (buňky) v nervovém systému jsou neurony a astrocyty a/nebo gliová buňka (buňky).

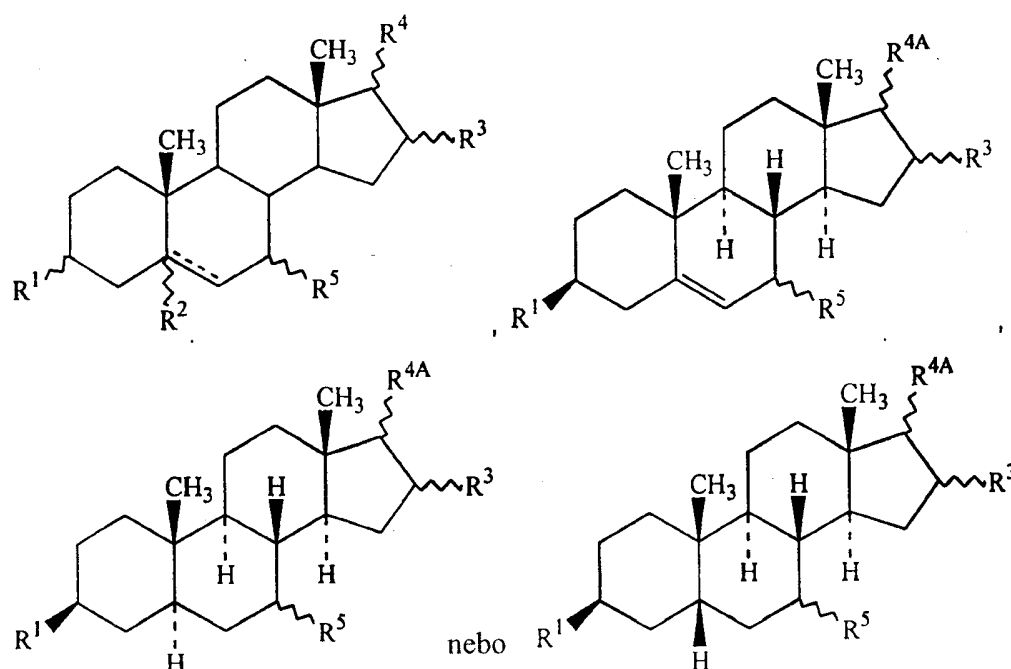
44C. Způsob podle provedení 41C, 42C nebo 43C, kde biologická odpověď v buňce (buňkách) nervového systému nebo v buňce (buňkách) tkáňové kultury je zvýšená nebo snižená transkripce genu(ů) (např. neurotransmiteru, vasopressinu, proteinu teplotního šoku), zvýšená nebo snižená sekrece proteinu(ů) (např. vasopresinu), snížené poškození v důsledku oxidačního stresu, zvýšená uvolňování oxidu dusičného a/nebo zvýšený růst neuritu.

45C. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 1C-44C, kde sloučenina(y) obecného vzorce (1) je jakákoliv jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1) vybraná ze sloučenin nebo jedna nebo více species v rámci skupiny vyjmenované ve skupinách sloučenin 1 až 21-10-6.

46C. Způsob (a) modulace exprese alespoň jednoho antigenu imunitní buňky imunitními buňkami v subjektu, přičemž antigen imunitní buňky je vybrán z CD3, CD11c, CD14, CD16, CD19, CD25, CD38, CD56, CD62L, CD69, CD45RA, CD45RO, CD123, HLA-DR, IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF α , IGF $_1$ a γ IFN, nebo (b) aktivace CD8 $^+$ T-buňky nebo CD8 $^-$ T-buňky v subjektu, kde aktivace zahrnuje alespoň dočasně zvýšenou expresi CD25 nebo CD69 T-buňkami nebo (c) zvýšení podílu CD8 $^+$ nebo CD8 $^-$ K-buňkami aktivovanými lymfokiny v CD16 $^+$ buňkách subjektu (např. CD8 $^+$, CD16 $^+$, CD38 $^+$ nebo buňky CD8 $^-$, CD16 $^+$, CD38 $^+$) nebo (d) zvýšení podílu (i) CD8 $^-$, CD16 $^+$ přirozených K-buněk, (ii) CD8 $^+$, CD16 $^+$ přirozených K-buněk nebo (iii) CD8 $^-$, CD16 $^+$ buněk, které zprostředkovávají na protilátce závislou cytotoxicitu zprostředkovanou buňkami nebo (iv) CD8 $^+$, CD16 $^+$ buněk, které zprostředkovávají na protilátce závislou cytotoxicitu zprostředkovanou buňkami nebo (e) zvýšení podílu prekurzorů dendritických buněk v cirkulujících bílých krvinkách subjektu (např. Lin $^-$, HLA-DR $^+$, CD123 $^+$ nebo Lin $^-$, HLA-DR $^+$, CD11c $^+$ buňky) nebo (f) zvýšení podílu CD45RA $^+$ T-buněk nebo CD45 $^+$, R0 $^+$ T-buněk v cirkulujících bílých krvinkách subjektu nebo (g) změnu (zvýšení nebo snížení) podílu nebo relativního počtu CD62L $^+$ T-buněk v cirkulujících bílých krvinkách subjektu nebo (h) zvýšení podílu CD8 $^+$ nebo CD4 $^+$ T-buněk, které exprimují CD62L v cirkulujících

CD8⁺ nebo CD4⁺T buňkách subjektu nebo (i) snížení podílu CD8⁺ nebo CD4⁺T-buněk, které exprimují CD62L v cirkulujících CD8⁺ nebo CD4⁺T buňkách subjektu nebo (j) zvýšení podílu HLA-DR⁺, CD8⁺, CD38⁺ buněk v cirkulujících bílých krvinkách subjektu nebo (k) snížení hladiny IL-4 nebo IL-10, které jsou exprimovány nebo přítomny v bílých krvinkách subjektu nebo plazmě subjektu (nebo které jsou exprimovány po *in vitro* stimulaci bílých krvinek subjektu), (l) alespoň dočasného zvýšení množství prekurzorů dendritických buněk nebo dendritických buněk, které jsou přítomny v bílých krvinkách subjektu nebo plazmě subjektu nebo (m) zvýšení kapacity CD4⁺T-buněk k expresi IL-2, IL-12 nebo γ IFN, způsob zahrnující podání sloučeniny obecného vzorce (1) a farmaceuticky přijatelné pomocné látky subjektu.

47C. Způsob podle provedení 46C, kde obecný vzorec (1) má následující strukturu



kde substituent R¹ je -OH nebo skupina (např. C₁₋₃₀ester), která může být hydrolyticky konvertována za fyziologických podmínek na -OH, jedna z nich může být v α nebo β -konfiguraci; substituent R² je atom vodíku v α nebo β -konfiguraci nebo substituent R² není přítomen, pokud je dvojná vazba v poloze 5-6; substituent R³ je atom vodíku nebo -Br, jeden z nich může být v α - nebo β -konfiguraci; substituent R⁴ je -OH nebo skupina (např. C₁₋₃₀ester), která může být hydrolyticky konvertována za fyziologických podmínek na -OH, jeden z nich může být v α nebo β -konfiguraci nebo substituent R⁴ je =O a atom

vodíku vázaný na stejném atomu uhlíku není přítomen; substituent R^{4A} je substituent R^4 , -C(O)-CH₃ nebo -C(O)(CH₂)₆-CH₃; substituent R^5 je atom vodíku nebo -OH nebo skupina (např. C₁₋₃₀ester), která může být hydrolyticky konvertována za fyziologických podmínek na -OH, jedna z nich může být v α nebo β -konfiguraci nebo substituent R^5 je =O a atom vodíku vázaný na stejném atomu uhlíku není přítomen; tečkovaná čára v poloze 5-6 je případně dvojná vazba nebo sloučenina obecného vzorce (1) má strukturu uvedenou v jakémkoliv zde vyjmenovaném nebo popsáném odkazu na sloučeninu obecného vzorce (1), včetně sloučenin popsáných v provedeních 1-64 a 1A-11A výše.

48C. Způsob podle provedení 46C nebo 47C, kde sloučenina obecného vzorce (1) je podávána subjektu denně po dobu jednoho až 15 dnů, např. po dobu 1, 2, 3, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 nebo více dnů.

49C. Způsob podle provedení 48C, kde exprese antigenu imunitní buňky je detegovatelně modulována po dobu alespoň 4-7 dnů po posledním podání sloučeniny obecného vzorce (1) subjektu, např. alespoň 4, 5, 6, 7 nebo více dnů.

50C. Způsob podle provedení 48C nebo 49C, kde exprese antigenu imunitní buňky je detegovatelná alespoň 8-90 dnů po posledním podání sloučeniny obecného vzorce (1) subjektu, např. alespoň 8, 10, 12, 15, 20, 25, 28, 30, 35, 40, 42, 45, 49, 50, 55, 56, 60, 63, 65, 70, 75, 77, 80, 84, 85, 90, 91, 95, 98, 100 nebo více dnů.

51C. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 46C-51C, kde subjekt trpí imunosupresí, infekcí patogenem nebo onemocněním souvisejícím s Th1 imunitní odpovědí nebo přebytkem Th2 imunitních odpovědí.

52C. Způsob podle provedení 51 C, kde infekce patogenem je infekce virem, bakteriální infekce, infekce kvasinkami, infekce plísní nebo viroidem, např., kde infekce patogenem je infekce virem, např. infekce DNA virem nebo infekce RNA virem (např. infekce způsobená Hepadnavirem, Parvovirem, Papovavirem, Adenovirem, Herpesvirem, Retrovirem, Flavivirem, Togavirem, Rhabdovirem, Pikornavirem, Bunyavirem, Reovirem, Orthomyxovirem nebo Paramyxovirem, např. a HIV1, HIV2, SIV, SHIV nebo jiné viry podle předloženého vynálezu nebo v citovaných odkazech).

53C. Způsob podle provedení 52C, kde subjekt trpí imunosupresí související nebo způsobenou infekcí patogenem.

54C. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 46C-53C, kde subjekt je savec, člověk, primát nebo hlodavec.

55C. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 46C-54C, ve kterém je 0,05 mg/kg denně až 20 mg/kg denně podáváno parenterálně (např. intravenózní, subkutánní, intramuskulární nebo intramedulární injekcí), místně, perorálně, sublingválně nebo bukalně subjektu, např. 0,1 mg/kg denně, 0,2 mg/kg denně, 0,5 mg/kg denně, 1,0 mg/kg denně, 1,5 mg/kg denně, 2 mg/kg denně, 2,5 mg/kg denně, 3,0 mg/kg denně, 4 mg/kg denně nebo 6 mg/kg denně, tzn., 0,1-10 mg/kg denně, typicky 0,2-7 mg/kg denně.

56C. Způsob podle provedení 55C, kde subjektu je současně podáváno jedno nebo více druhých terapeutických agens k ošetření infekce patogenem, např. infekce virem, např. infekce HIV-1, HIV-2, HAV, HBV, HCV, infekce virem Epstein-Barrové, infekce HSV-1, HSV-2, infekce lidským herpesvirem 6, infekce lidským herpesvirem 7, infekce lidským herpesvirem 8 nebo bakteriální infekce nebo infekce parazitem, např. malárie, leishmanióza, kryptosporidiáza, toxoplazmóza, infekce mykoplazmaty, infekce následujícími mikroorganismy: *Trichomonas*, *Chlamydia*, *Pneumocystis*, *Salmonella*, *Listeria*, *Escherichia coli*, *Yersinia*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Staphylococcus* nebo *Streptococcus*.

57C. Způsob podle provedení 56C, kde jeden nebo více druhých terapeutických agens je inhibitor proteasy, inhibitor reverzní transkriptázy, inhibitor virové, bakteriální nebo parazitové DNA- nebo RNA-polymerasy, antibakteriální antibiotikum nebo antifungální agens, např. AZT, ddI, ddC, D4T, 3TC, inhibitor virové (např. HIV) fúze, hydroxymočovina, nelfinavir, sachinavir, ritonavir, indinavir, chlorchin, analog chlorchinu, amfotericin B, fluconazol, clotrimazol, izoniazid, dapson, rifampin, cykloserin, erythromycin, tetracyklinová antibiotika, vankomycin, ethambutol, pyrazinamid, flurorchinolon (např. ciprofloxacin, norfloxacin), cefalosporinová antibiotika, β -laktamová antibiotika nebo aminoglykosidová antibiotika (např. streptomycin, kanamycin, tobramycin).

58C. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 46C-57C, kde subjekt je člověk, primát, pes, kočka nebo a hlodavec.

59C. Přípravek obsahující účinné množství sloučeniny obecného vzorce (1) modulující podskupinu imunitních buněk a farmaceuticky přijatelný nosič.

60C. Přípravek podle provedení 59C, kde podskupina imunitních buněk je (1) $CD8^+$ T-buňky, (2) $CD4^+$ T-buňky, (3) $CD8^+$ K-buňky aktivované lymfokinem, (4) $CD8^-$ K-buňky aktivované lymfokinem, (5) $CD8^-$, $CD16^+$ přirozené K-buňky, (6) $CD8^+$, $CD16^+$ přirozené K-buňky, (7) $CD8^-$, $CD16^+$ buňky, které zprostředkovávají na protilátce závislou

cytotoxicitu zprostředkovanou buňkami, (8) $CD8^+$, $CD16^+$ buňky, které zprostředkovávají na protilátce závislou cytotoxicitu zprostředkovanou buňkami, (9) dendritické buňky nebo prekursorů dendritických buněk, (10) $CD45RA^+$ T-buňky, (11) $CD45RO^+$ T-buňky, (12) $CD45RA^+$, $CD45RO^+$ T-buňky, (13) $CD8^+$, $CD62L$ T-buňky, (11) $CD4^+$, $CD62L^+$ T-buňky nebo (14) $HLA-DR^+$, $CD8^+$, $CD38^+$ T-buňky.

61C. Způsob detekce biologické odpovědi související s podáním sloučeniny obecného vzorce (1) subjektu zahrnující (1) získání vzorku ze subjektu, (2) podání sloučeniny obecného vzorce (1) subjektu za účelem ošetření subjektu (3) získání druhého vzorku z ošetřovaného subjektu, (4) v průběhu 24 hodin získání vzorku, jeho analýzu za účelem kontroly údajů pro detekci biologické odpovědi, (5) v průběhu 24 hodin získání druhého vzorku, jeho analýzu za účelem provedení experimentu a obdržení informací z něho pro stanovení přítomnosti či nepřítomnosti biologické odezvy a (6) případně srovnání kontrolních informací s informacemi z experimentu k potvrzení přítomnosti, nepřítomnosti, relativní hodnoty nebo absolutní hodnoty biologické odpovědi.

62C. Způsob podle provedení 61C, kde sloučenina obecného vzorce (1) dále obsahuje farmaceuticky přijatelný nosič.

63C. Způsob podle provedení 61C nebo 62C, kde biologické odpovědi související s podáním sloučeniny obecného vzorce (1) subjektu jsou modulace exprese buněčných povrchových antigenů, zvýšený absolutní nebo relativní počet buněk v podskupině imunitního systému, snížený absolutní nebo relativní počet buněk v podskupině imunitního systému nebo nezměněný absolutní nebo relativní počet buněk v podskupině imunitního systému.

64C. Způsob podle provedení 63C, kde podskupina imunitních buněk je $CD8^+$ T-buňky, $CD4^+$ T-buňky, $CD8^+$ K-buňky aktivované lymfokinem, $CD8^+$, $CD16^+$ přirozené K-buňky, cirkulující prekursorů dendritických buněk, cirkulující dendritické buňky, prekursorů tkáňových dendritických buněk, $CD8^+$ lymfokinem aktivované K-buňky, $CD8^+$ lymfokinem aktivované K-buňky, $CD8^+$, $CD16^+$ přirozené K-buňky, $CD8^+$, $CD16^+$ přirozené K-buňky, $CD8^+$, $CD16^+$ buňky, které zprostředkovávají na protilátce závislou cytotoxicitu zprostředkovanou buňkami, $CD8^+$, $CD16^+$ buňky, které zprostředkovávají na protilátce závislou cytotoxicitu zprostředkovanou buňkami, $CD45RA^+$ T-buňky, $CD45RA^+$, $CD45RO^+$ T-buňky, $CD8^+$, $CD62L$ T-buňky, $CD4^+$, $CD62L^+$ T-buňky nebo $HLA-DR^+$, $CD8^+$, $CD38^+$ T-buňky, monocyty nebo makrofágy.

65C. Způsob podle provedení 64C, kde biologické odpovědi jsou alespoň dočasná modulace antigenu imunitních buněk nebo antigenu dobropvodných buněk (např. adhezní molekula na povrchu endoteliálních buněk nebo receptor cytokinu na povrchu T-buněk nebo B-buněk).

66C. Způsob podle provedení 65C, kde antigen imunitních buněk je protein, glykoprotein nebo buněčný povrchový antigen obvykle nebo pouze exprimovaný lymfoidními buňkami (lymfocyty nebo bílé krvinky nebo jejich prekurzory, např. T-buňky, B-buňky, monocyty, makrofágy, LAK-buňky, NK buňky, dendritické buňky).

67C. Způsob podle provedení 65C, kde antigen imunitních buněk je CD molekula, interleukin nebo cytokin případně vybraný z CD16, CD25, CD38, CD62L, CD69, CD45RA, CD45RO, IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF α , IGF $_1$ a γ IFN.

68C. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 61C-67C, kde subjekt je člověk, primát, pes, kočka nebo hlodavec.

69C. Způsob změny rovnováhy mezi Th1 a Th2 v subjektu zahrnující podání účinného množství sloučeniny obecného vzorce (1) subjektu, přičemž exprese nebo sekrece IL-4 nebo IL-10 v subjektu je detegovatelně modulována.

70C. Způsob podle provedení 30, kde exprese nebo sekrece IL-4 nebo IL-10 v subjektu je snížena a rovnováha mezi Th1 a Th2 odpovědí při Th1 imunitních odpovědích na infekci nebo imunosupresi je detegovatelně změněna.

71C. Způsob podle kteréhokoliv z provedení 1C-70C, kde sloučenina obecného vzorce (1) je sloučenina vyjmenovaná v kterékoliv skupině sloučenin 1 až 42-25-10-6 nebo sloučenina obecného vzorce (1) je species v kterékoliv podskupině popsané v kterékoliv skupině sloučenin 1 až 42-25-10-6.

Odborné veřejnosti budou po přečtení předloženého vynálezu jasné obměny a modifikace těchto provedení, patentových nároků a zbývajících částí v předloženém vynálezu. Tyto obměny a modifikace spadají do rámce a charakteru předloženého vynálezu. Veškeré citace jsou zde v celém svém rozsahu uvedeny jako odkaz.

V dalších provedeních popisuje předložený vynález způsoby modulace imunitních buněk nebo imunitních odpovědí v subjektu. Následující provedení popisují některé z těchto způsobů.

Příklad 1

Formulace BrEA

Dvě sarže bezvodé formulace BrEA byly připraveny o koncentraci BrEA 50 mg/ml v 25% polyethylenglykolu 300, 12,5% dehydrovaného ethylalkoholu, 5% benzylbenzoátu, 57,5% propylenglykolu následujícím způsobem. BrEA byl zakoupen od Procyte, Inc. Zbývající pomocné látky jsou uvedeny níže.

Pomocná látka	Specifikace	Dodav.č.	Konc. konečného produktu
Propylenglykol	USP	Arco Chemical HOC-61220-01104	57,5 obj.%
Polyethylenglykol 300	NF	Union Carbide 695752	25 obj.%
Dehydrovaný alkohol	USP	McCormicc Distilling 97K10	12,5 obj.%
Benzylbenzoát	USP	Spectrum Pharmaceuticals MG025	5 obj.%

Formulace byla připravena suspendováním BrEA v polyethylenglykolu 300 a postupným přidáváním propylenglykolu, benzylbenzoátu, dehydrovaného ethylalkoholu za vzniku roztoku, který byl zředěn na konečný požadovaný objem dalším propylenglykolem. Způsob přípravy je popsán níže.

Vypočtené množství polyethylenglykolu 300 bylo přidáno do nádoby k míchání. Pak bylo za stálého míchání přidáno do nádoby vypočtené množství BrEA a mícháno po dobu alespoň 5 minut za vzniku krémovité konzistence, pak byl přidán tekutý propylenglykol a směs byla míchána po dalších minimálně 5 minut za vzniku uniformní suspenze. Do nádoby bylo přidáno vypočtené množství benzylbenzoátu a směs byla míchána přibližně po dobu 5 minut za vzniku průsvitné tekuté suspenze. Do nádoby byl přidán dehydratovaný alkohol a směs byla míchána přibližně 5 minut za vzniku čirého bezbarvého roztoku. Pak byl do nádoby přidán propylenglykol k dosažení finální formulace a směs byla míchána po dobu přibližně 5 minut. Roztok léčiva byl přemístěn do zařízení k dávkování objemu do lékovek s obsahem 1,2 ml. Pod atmosférou dusíku byl roztok filtrován v sériích přes dva polyvinylidenfluoridové filtry o 0,2 µm velikosti do 2 cc lékovek z ambrového skla. Baňky byly potaženy teflonem, uzavřeny zátkou z

polyizobutylenové pryže a těsně uzavřeny. Materiál použitý v nádobkách s produktem je uveden níže.

Materiál	Původ	Kód produktu	Popis
Nádobka	Wheaton	2702-B51BA	lékovky, 2 ml/13 mm, sklo, typ 1 amber
Závěr	Omniflex	V9239 FM257/2	13 mm, závěr z polyizobutylenové pryže potažené teflonem
Těsné uzavření	West	4107	flip seal, 13 mm, mist gray bridge

Specifikace produktu byly ověřeny jedním nebo více následujícími testy

Test	Specifikace	Způsob
Fyzikální zkoušky	Čirý bezbarvý roztok s nepatrným zápachem po alkoholu	
Regenerace objemu	NLT* 1,0 ml	USP23<1>
Specifická hmotnost	TBD	USP23<841>
Testy s aktivní složkou	90-110% značené	HPLC
Sterilita	Sterilní	USP23<71>
Endotoxin	<0,1 EU/mg	USP23<85>
Partikulární látka	≥ 10 µm NMT** 6000/cnt ≥ 25 µm NMT 600/cnt	USP23<788>

* NLT-ne menší než

**NMT-ne více než

Analýza šarže

Test	Specifikace	Šarže 1	Šarže 2
Fyzikální zkoušky	Čirý bezbarvý roztok s nepatrným	Pozitivní	Pozitivní

	zápachem po alkoholu		
Regenerace objemu	NLT* 1,0 ml	1,15 ml	--
Specifická hmotnost	TBD	1,0411	--
Testy s aktivní složkou	90-110% značené	103,10 %	104,25 %
Sterilita	Sterilní	Sterilní	--
Endotoxin	<0,1 EU/mg	0,024 EU/mg	--
Partikulární látka	≥ 10 µm NMT** 6000/cnt	26	--
	≥ 25 µm NMT 600/cnt	15	

Příklad 2

Stabilita BrEA formulace

Krátkodobé studie stability v trvání 6 měsíců byly provedeny s BrEA a formulacemi podle příkladu 1. Vzorky byly odebrány v 1, 2, 3, 4, 5 a 6 měsíčních časových obdobích a byly srovnávány se specifikacemi uvedenými v příkladu 1. Stabilita v reálném čase (25°C, 60% relativní vlhkost) byla stanovena pomocí BrEA formulace šarže 1 a 2 s odebráním vzorků 3, 6, 9, 12, 18, 24 a 36 měsíců. Po 3 měsících skladování při teplotě 40°C a 75% relativní vlhkosti je testovaná účinnost BrEA alespoň 95% značené hodnoty. Výsledky z testování stability ukazují, že BrEA je stabilní alespoň 3 měsíce při zvýšené teplotě a vlhkosti ve formulacích šarže 1 a 2.

Příklad 3

Režim intermitentního dávkování primátu

Makakové vepří infikované SHIV₂₂₉ retrovirem byli ošetřeni BrEA formulací podle příkladu 1. SHIV₂₂₉ je rekombinantní retrovirus obsahující HIV a SIV sekvence. J. Thompson *et al.*, abstract #75, 16th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, October 7-10, 1998, Atlanta, GA, M. Agy *et al.*, abstract #67, 16th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, October 7-10, 1998, Atlanta, GA. Při pokusech na opicích se projevila agresivní infekce, která vedla k několika symptomům konečného stádia onemocnění u infikovaných neošetřovaných zvířat 180-210 dnů po infekci. Čtyři makakové vepří (2 na skupinu) obdržely subkutánní injekce

formulace při dávkování 1 nebo 2 mg/kg tělesné váhy po dobu 10 následujících (režim 1). V 8 týdnu 3 ze 4 opic byly znovu ošetřeny a 2 neošetřované opice byly podrobeny dávkám 5 mg/kg formulace každý druhý den po dobu 20 dnů (režim 2). V 19 týdnu byli všichni primáti ošetřeni 3 fázovým režimem při dávkách 3 mg/kg BrEA formulace jednou denně po dobu 10 následujících, při opakování každé čtyři týdny, tzn. celkově 3 fázový režim ošetření (režim 3).

Zvířata byla infikována 1-100 TCID₅₀ jednotkami podávanými intravenózně nebo intrarektálně. Před začátkem dávkování byly provedeny protivirové titry v první skupině zvířat v rozmezí 10⁶ až 10⁸. Všechna zvířata vykazovala počáteční vzrůst virové SHIV RNA v plamě. Po 2 až 3 týdnech začaly titry klesat a 3 ze 4 zvířat vykazovaly odezvy na terapii s průměrným protivirovým titrem 0,76 log pod základní linií v týdnech 4 až 5 po zahájení ošetření. Počínaje 8 týdnem se titry u všech zvířat vrátily na svoji základní linii. Hladina krevní glukosy signifikantně klesla, byla stanovena hladina alkalické fosfatasy a hodnoty SGOT/GGT měly tendenci jít k horní oblasti normálu. Nebyly zjištěny žádné jiné změny v jakýchkoliv jiných monitorovaných parametrech. Hladina CD4 u všech opic zůstávala na konci prvního režimu menší než 100 buněk na mm³.

Tři z pěti opic při druhém režimu (režim 2) reagovaly na terapii BrEA s větší silou a délkou trvání odpovědi než při nižších hladinách dávek. U zvířat reagujících na léčbu, byl průměrný pokles pod základní linií 1,47 log. U zvířete, které nereagovalo na léčbu režimem 1, byla prokázána reakce na léčbu režimem 2. Jak je uvedeno výše, nebyla u dvou zvířat pozorována reakce na léčbu. Třetí režim (režim 3) právě probíhá a zvířata jsou sledována.

Při této studii byly opice ušetřeny infekčního studia a předpokládalo se, že první skupina čtyřech opic (pokus 1) bude žít pouze několi týdnů po zahájení experimentů, jelikož jejich stav se zhoršoval díky s onemocněním. Jedno zvíře zemřelo 356 den na toxické reakci používaných anestetik během odběru vzorku krve na analýzu. V této době se zbývající opice podrobují několikanásobné terapii a vypadá to, že jsou v dobrém klinickém stavu. Jejich doba přežití byla větší než 380 dnů od vypuknutí infekce. Bylo používáno ošetření režimem intermitentního dávkování BrEA formulace. Tři kontrolní opice byly infikovány 1-10000 SHIV₂₂₉ TCID₅₀ jednotkami a neproběhlo u nich ošetření. Tato zvířata jsou pokládána za neošetřovaná. Střední doba úmrtnosti pro makaky vepří infikované SHIV₂₂₉ byla 193 dnů. Opice po proběhlé terapii zůstávaly v dobrém klinickém stavu po dobu 350 dnů s hladinou CD4 buněk menší než 20 buněk na mm³ a bez oportunní infekce

nebo symptomů souvisejících s onemocněním jiným než je mírná anémie pozorovaná u jednoho zvířete.

Tyto výsledky ukazují zcela neočekávané terapeutické odpovědi primátů infikovaných retrovirem SHIV, který je docela virulentní. Výsledky také dále ukazují, že většina subjektů při těchto režimech ošetření neměla jenom výrazně prodlouženou dobu přežití v porovnání s neošetřovanou kontrolní skupinou, ale také klinické symptomy související s infekcí retrovirem s dramaticky zlepšily, navzdory faktu, že počet CD4 zůstával nízký, tzn. méně než 100 CD4 buněk na mm^3 na počátku a méně než 20 CD4 buněk na mm^3 později při režimech ošetřování. Do dneška jsou tyto výsledky, tzn. (1) dobrý klinický stav u většiny subjektů majících nízkou hladinu CD4 (méně než 150 buněk na mm^3 , zejména méně než 75 buněk na mm^3) a (2) žádné klinické příznaky rezistance viru na ošetření i přes prodlouženou dobu intermitentního dávkování, což bezprecedentní u primátů, lidí nebo jakýchkoliv jiných zvířat. Model SHIV₂₂₉ je extrémně patogenní u makaků vepřích. Případy, které se vyskytují v tomto modelu po dobu několika týdnů by typicky trvaly několik let u lidí infikovaných HIV. Nepředpokládá se, že léčení opic infikovaných tímto virem a ošetření pomocí běžně používaných antiretrovirostatik, např. AZT, 3TC nebo inhibitor proteasy, bude výrazně ovlivňovat průběh progresu onemocnění. Klinický stav zvířat se stále zlepšuje, např. váhový přírůstek je okolo 8-15% na zvíře. Tyto výsledky ukazují, že ošetření pomocí režimu intermitentního dávkování je vysoce účinný i přes zdánlivé narušení specifické imunity subjektu, podle nízkého počtu CD4. Zvýšené množství CD4 může být dosaženo imunitních stimulátorů, např. IL2 nebo se mohou spontánně zvyšovat u některých subjektů, např. lidí, v závislosti na režimu ošetření, době dávkování nebo prvotním onemocnění subjektu. Vypadá to, že protivirové účinky, které jsou zde uvedeny, působí alespoň částečně zvýšením imunitních odpovědí subjektu, např. zvýšení imunitních odpovědí fagocytárními buňkami (NK buňky, monocyty a/nebo makrofágy), a/nebo zvýšením kterýchkoliv reziduálních specifických imunitních odpovědí, pokud jsou nějaké.

Příklad 4

Režim ošetření lidských subjektů

Klinické zkoušky týkající se zvyšování dávek jsou prováděny s bezvodou formulací obsahující BrEA nebo jinou sloučeninu(ami) obecného vzorce (1), která je připravena

podle způsobu z příkladu 1. Pacienti byli či nebyli léčeni a 3-10 z nich bylo testováno při jednotlivých hladinách dávky. Počáteční dávka byla 25 mg BrEA nebo jiné sloučenin(y) obecného vzorce (1), která byla aplikována parenterálně, např. s.c. nebo i.m.. Dávka byla podávána jednou nebo jednou nebo dvakrát denně po dobu 1-12 dnů, poté byly dávky vysazeny na dobu alespoň 7 dnů (např. 7 až 90 dnů). Další dávky byly podávány jednou nebo jednou denně po dobu 1-12 dnů, poté byly dávky vysazeny na dobu alespoň 7 dnů (např. 7 až 90 dnů). Další hladiny testovaných dávek byly 20 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg a 300 mg, přičemž každá dávka byla podávána jednou denně jako jednorázová dávka nebo jako dvě, tři nebo více subdávek. Zkoušky účinnosti dávkování jsou prováděny stejným režimem dávkování jako zkoušky se zvyšováním dávek nebo mohou zahrnovat podání dávek jednou nebo dvakrát každý druhý den po dobu 3-17 dnů, poté vysazení dávek na dobu 7-90 dnů a dále opakování dávek jednou nebo dvakrát každý druhý den po dobu 3-17 dnů. Tento režim je opakován neurčitě dlouho (např. 3-18 měsíců) za použití optimální dávky (dávek) zjištěných při zkouškách se zvyšováním dávek, např. 10-200 mg denně sloučeniny obecného vzorce (1).

Příklad 5

Farmakologické studie na zvířatech

Neklinické studie byly prováděny pomocí formulace BrEA perorální a subkutánní podání. Potkanům byl perorálně aplikován ^{14}C BrEA rozpuštěný v různých pomocných látkách za účelem stanovení hladin léku v krvi a různých tkání. Výsledky těchto předběžných farmakokinetických studií ukazují, že absorpce BrEA perorálním podáním je 0,1 až 15% s alespoň 80% exkrecí ve stolici.

Bezvodá formulace BrEA podle příkladu 1 byla aplikována králíkům jako jednorázová subkutánní dávka. Více než 90% léčiva opustilo v rozmezí 24 hodin aplikace oblast vstřiku a dosáhlo maxima koncentrace v plazmě 1,2% injektované dávky 8 až 12 hodin po aplikaci. Poločas oběhu léčiva v plazmě byl 12 hodin. Léčivo se nekumulovalo v podstatném množství v jakémkoliv důležitém orgánu a bylo primárně exkretováno v moči.

BrEA bylo aplikováno subkutánně králíkům pomocí formulace podle příkladu 1. Přibližně 90% léčiva opustilo v rozmezí 24 hodin aplikace oblast vstřiku a dosáhlo maxima koncentrace v plazmě 0,2% injektované dávky 1 hodinu po aplikaci. Eliminace z plazmy

byla bifazická s poločasy 12 respektive 72 hodin. Léčivo na bázi BrEAs nekumulovalo v podstatném množství v jakémkoliv důležitém orgánu a bylo primárně exkretováno ve stolici. Studie byla také prováděna na makacích rhesus s formulací podle příkladu 1 za účelem stanovení farmakokinetiky v plazmě.

Farmakokinetická analýza ^{14}C BrEA v plazmě byla provedena na dvou samičkách makaka rhesus. Značené sloučeniny ((16 α -brom-3- β -hydroxy-5 α -[4- ^{14}C]-androstan-17-on [50 mCi/mmol]) byly používány v dávce 1 mg/kg jako subkutánní injekce do skapulární oblasti s injekčním objemem 1 ml/kg. BrEA byl připraven s 25% polyethylenglykolu 300, 12,5% absolutního ethanolu, 5% benzylbenzoátu a vody doplněné propylenglykolem. Injektováno bylo 40 μCi na zvíře. Vzorky krve byly odebrány v 0, 0,5, 1, 2, 4, 8 a 24 hodině za účelem stanovení ^{14}C aktivity. Radioaktivita v plazmě stoupala až na nejvyšší koncentraci v 8 hodině a zůstávala přibližně na stejné hladině až do konce, tzn. 24 hodin.

Farmakokinetická analýza ^{14}C BrEA byla provedena na novozélandských bílých králících. Dvacet μCi ^{14}C 16 α -brom-3- β -hydroxy-5 α -[4- ^{14}C]-androstan-17-onu (50 mCi/mmol) plus 1 mg/kg neznačeného BrEA bylo podáváno každému ze tří novozélandských bílých králíků ve formě subkutánní injekce do skapulární oblasti s injekčním objemem 1 ml/kg. Léčivo bylo připraveno s 25% polyethylenglykolu 300, 12,5% absolutního ethanolu, 5% benzylbenzoátu a vody doplněné propylenglykolem. Vzorky krve byly odebírány v 0,5, 1, 2, 4, 8, 12 a 24 hodině od všech tří zvířat a ve 48 hodině od dvou zvířat. Dvacet čtyři a 48 hodin po aplikaci bylo jedno, respektive dvě zvířata zabita a byly odebrány následující orgány nebo tkáně: mozek, srdce, ledviny, játra, plíce, kosterní svaly, slezina a kůže a svaly z oblastí injekce. Kromě orgánů a tkání byla také odebrána stolice a moč, jakož i filtrát. BrEA se nekumuloval v podstatném množství v jakémkoliv výše uvedeném orgánu. Z orgánů bylo největší množství léku zjištěno v játrech, která obsahovala 0,8% a 0,12% injektované dávky v 24 a 48 hodině, respektive (průměrně 0,13%).

Procentuální obsah léku v orgánech (králíkůch)

Orgán nebo tkáň	Zvíře 201 24 hodin	Zvíře 301 48 hodin	Zvíře 302 48 hodin
Mozek	0,005	0,002	0

Srdce	0,008	0,003	0,002
Ledviny	0,155	0,055	0,050
Játra	0,76	0,145	0,125
Plíce	0,029	0,019	0,011
Slezina	0,002	0	0
Kosterní sval	0,002	0	0
(hm. vzorku v g)	(3,8 g)	(6 g)	(5 g)
Kůže	0,008	0,002	0,004
(hm. vzorku v g)	(8 g)	(6 g)	(9 g)

Průměrné procentuální množství aplikované dávky, v celé krvi bylo spočteno násobením koncentrace léčiva v celé krvi vypočteným objemem krve ve zvířetech, 200 ml. Množství léčiva v krvi dosahuje maxima okolo 8 hodin a menší množství je ještě stále evidentní okolo 48 hodin. Množství BrEA v celé krvi bylo stále menší než v plazmě, za předpokladu, že léčivo není ve výrazném množství pohlcováno červenými krvinkami.

In vivo experimenty byly prováděny za účelem stanovení biologické dostupnosti BrEA perorální aplikací různých formulací. BrEA byl (1) rozpuštěn v sojovém oleji, oleji vitaminu E, směsi vitaminu E a Cremophoru nebo (2) BrEA bylo velmi jemně rozemleto a spojeno s nebo bez surfaktantu. Tyto formulace jsou popsány níže. Formulace byly aplikovány perorálně králíkům a hladiny BrEA byly stanoveny v krvi, játrech, slezině, ledvinách a mízních uzlinách. Při studiích využívajících velmi jemně rozemletý BrEA byl zkoumán mozek z hlediska postupu léčiva. Po rozpuštění BrEA v oleji vitaminu E a sojovém oleji a smíchání s vitaminem BrEA, byla ve 24 hodině odebrána moč a stolice a vitamin E smíchán s Cremophorem. Výsledná data z těchto studií ukazují, že BrEA vstupuje do lymfatických cév, ale je rychle eliminován z jiných tkání. Množství látek obsahujících izotop ^{14}C izolovaných ve stolici 24 hodin po podání bylo 78 až 83%. Níže je popsán krátký souhrn každého experimentu a výsledky jsou uvedeny v tabulce 6.

BrEA (5 mg v 1,0 ml sojového oleje nebo oleje vitaminu E) doplněného BrEA značeným izotopem ^{14}C bylo podáno králíkům nitrožaludečně. Rozpuštění BrEA ve vitaminu E nebo sojovém oleji bylo usnadněno 50 μl ethanolu. Zvířata (3 na skupinu) byla testována 1,5, 3, 5,5 a 24 hodiny po aplikaci a množství ^{14}C -radioaktivity bylo měřeno v krvi, játrech, slezině, ledvinách, mízních uzlinách a moči a stolici po 24 hodinách. Výsledky ukazují, na základě zjištěné ^{14}C -radioaktivity, že určitý podíl BrEA se dostal do

lymfatického systému. Absorpce je větší se sojovým olejem než s olejem vitaminu E v krvi, játrech a mizních uzlinách.

BrEA (5 mg v 1,0 ml vitaminu E a Cremophoru) doplněného BrEA značeným izotopem ^{14}C bylo podáno králíkům nitrožaludečně. Rozpuštění BrEA ve směsi vitaminu E a Cremophoru bylo usnadněno 60 μl ethanolu. Zvířata (4) byla usmrcena v 2, 3, 5,5 a 24 hodin a bylo měřeno množství ^{14}C -radioaktivity v krvi, játrech, slezině, ledvinách, mizních uzlinách a moči a stolici po 24 hodinách. Výsledky ukazují, na základě zjištěné ^{14}C -radioaktivity, že menší podíl BrEA se dostal do lymfatického systému. Soudě podle hodnot v plazmě, játrech a mizních uzlinách je absorpce léčiva v porovnání se sojovým olejem nebo vitaminem E menší a jeho přítomnost v tkáních je více perzistentní.

Potkani, ve skupinách o třech samcích, byli podrobeni perorálním dávám 1,0 ml 0,9% NaCl obsahujícím 10 nebo 32 mg BrEA velmi jemně rozemletého se surfaktantem, Synperonic PE/F 127 (2,5 hmotn. %). Potkani byly zkoumány v 1,5, 5 a 24 hodině po aplikaci. Bylo měřeno množství ^{14}C -radioaktivity v krvi, játrech, slezině, ledvinách, mizních uzlinách a mozku. Hladiny BrEA v krvi v porovnání s experimenty s BrEA v oleji vitaminu E a sojovém oleji byly vyšší, 0,3% v 1,5 hodině, a zvýšely se po 5 hodinách na 0,8% a 0,9% při 10 mg, respektive 32 mg dávce. Dále byly hodnoty v mizních uzlinách podobné těm, které byly změřeny při 1,5 hodině a hladiny byly stejné po 5 hodinách (5,3 a 5,0%) a 24 hodinách (3,7 a 3,1%) pro 10, respektive 32 mg dávku (tabulka 6).

Při opakovaných experimentech s dávkami byli potkani intražaludečně podrobeni dávce 1,0 ml 0,9% NaCl obsahujícího 2 mg BrEA velmi jemně rozemletého s Synperonicem PE/F 127 (2,5 hmotn. %) každých 6 až 16 hodin. Potkani (3) byly usmrceny v 40, 72, 84 90 a 96 hodinách po první aplikaci. Oproti předcházejícím studiím byly v tomto experimentu pozorovány vyšší hladiny v krvi, játrech, ledvinách a mizních uzlinách.

Potkani, ve skupinách o třech samcích, byli podrobeny perorálním dávám 1,0 ml 0,9% NaCl obsahujícím 2, 4 nebo 10 mg BrEA velmi jemně rozemletého bez surfaktantu. Potkani byli zkoumány v 1,5, 5 a 24 hodině po aplikaci. Bylo měřeno množství ^{14}C -radioaktivity v krvi, játrech, slezině, ledvinách, mizních uzlinách a mozku. Bylo zjištěno, že koncentrace velmi jemně rozemletého BrEA bez surfaktantu je nižší než BrEA se surfaktantem.

Příklad 6*In vitro* inhibice parazitů

Při *in vitro* testování antimalarik byly používány mikrotitrační destičky. Koncenrace léčiva byla připravena jako pmol/jamku podle WHO standardních postupů (WHO, 1990). Testovaná sloučenina byla rozpuštěna v 15% DMSO ve sterilním RPMI-1640. Byly používány oba izoláty, citlivý (např. WS/97) a rezistentní na chlorochin (např. MN/97), rodu *Plasmodium*.

Testy inhibice schizontu byly prováděny následovně: mikrotitrační destičky byly předem nadávkovány různými koncentracemi testované sloučeniny. 50 μ l Suspenze parazitovaného erythrocytu v RPMI-1640 (0,2 ml erythrocytu + 0,3 ml séra + 4-5 ml RPMI-1640) bylo rozděleno do mikrotitračních jamek, které obsahovaly různé koncentrace léku. Pro každou koncentraci bylo snímání provedeno třikrát.

Testy inkorporace ^3H -hypoxanthinu bylo prováděny následovně: Testy byly prováděny podle postupu Desjardinse a spol. 1979. Po 30 hodinách kultivace při teplotě 37°C byly přes noc stejné mikrotitrační destičky z testů inhibice schizontu snímány (znovu 3x) na ^3H -hypoxanthin. Buněčné suspenze byly promývány (2x) na ultrafitačním zařízení přes ultrafiltr ze skleněného vlákna. Filtrační koláče byly snímány na DPM pomocí β -scintilačního detektoru Beckman LS6000. Aktivita léčiva byla měřena vyhodnocením DPM oproti koncentraci léčiva.

***In vitro* aktivita sloučenin proti T996/86 *P.falciparum* senzitivním na chlorochin**

Koncentrace (μM)	DHEA*	BrEA*	Methylester etienové kys.	Methylester etianové kys.
30	65,6	98	60	61,5
15	44	60,1	45,7	47,4
7,5	38,3	50	40,9	45,3
3,25	37,2	43,7	46	41,4
1,875	23,2	40,9	41	43,4
0,938	37,2	31,8	43,3	47,1
IC ₅₀	19,0 μM	7,5 μM	19,5 μM	17,5 μM

%inhibice

Koncentrace chlorochinu (nM)	% inhibice chlorochinu
200	95,9
100	94,6
50	97,3
25	94,5
12,5	86,8
6,25	27,2
IC ₅₀	9,0 nM

In vitro aktivita 16 α -chlorepiandrosteronu a 16 α -bromdehydroepiandrosteronu proti *P.falciparum* senzitivním na chlorochin T996,86 a rezistantním vůči chlorochinu KI je uvedena níže.

		<u>T996,86</u>	<u>KI</u>
16 α -chlorepiandrosteronu	IC ₅₀	-9,25 pg/ml	~9,25 $\mu\text{g/ml}$
DHEA-Br	IC ₅₀	-25,0 pg/ml	~25,0 $\mu\text{g/ml}$

Další sloučeniny obecného vzorce (1), např. jakákoliv sloučenina ve skupině 1 až 25-6, jsou používány podobným způsobem k inhibici parazitů rodu *Plasmodium*.

Příklad 7

In vivo režim inhibice mikroorganismu *Plasmodium berghei*

Čtyřdenní test suprese byl používán a může být prováděn v rozmezí periody 1 týdne. Test se skládal z inokulace parazitovaných erythrocytů v první den experimentu (D_0), poté následovala injekce testované sloučeniny, která byla také aplikována ve 2, 3 a 4 den. Byly odebrány krevní nátěry a antimalarická aktivita byla stanovena buď vypočtením parazitemie nebo určením množství parazitů s předem stanoveným měřítkem (tzn. 1-5). Peters (*Ann. Trop. Parasitol.* 64: 25-40, 1970) popisuje základní postupy pro tento čtyřdenní test.

Režim byl následující: V jedné testované skupině bylo pět samičích TO myší. Paraziti *P.berghei* HP15 ANKA byli odebrány kardiální punkcí heparinizovanou stříkačkou z myšího dárce majícího 30+% parazitemii. Krev byla zředěna ředicím roztokem (50% HIFCS+50% sterilní PBS) na konečnou koncentraci 1% parazitemie nebo 1×10^7 infikovaných erythrocytů na 0,2 ml infekční suspenze. Každá myš byla inokulována intravenózně, čímž se získal jednotnější výskyt infekce než intraperitoneální aplikací 0,2 ml infekční suspenze. Testované sloučeniny byly připraveny v dávkách 100 mg/kg v (16,7% DMSO + 83,3% Celacolu). Formulace steroidu byly podávány intraperitoneálně 2 hodiny po inokulaci parazitu. Sloučeniny byly podávány jednou za den počínaje D_0 po dobu následujících tří dnů. Krevní nátěry byly připraveny z krve odebrané v den ukončení dávek sloučeniny z ocasu a krve byla fixována 100% methanolem a obarvena 10% činidla Geimsa. Parazitemie byla vyhodnocena podle stupnice 1-5, přičemž 5 se rovnalo kontrolním vzorkům.

Inokulum 1% 1×10^7 parazitemických erythrocytů/0,2 ml na jednu myš (samičí myš rodu TO) bylo podáno intraveózní injekcí. Podávání léčiva bylo započato 2 hodiny po inokulaci v den 1 a pokračovalo se po dobu 3 dnů. Výsledky z krevních nátěrů ze všech 20 myší v den 5, pokud byla měřena parazitemie, jsou uvedeny níže.

Sloučenina	Ošetření	Hodnocení parazitémie (0-5)
BrE	100 mg/kg x 4 dny i.p.*	1
Etienová kys.	100 mg/kg x 4 dny i.p.	2
DHEA	100 mg/kg x 4 dny i.p.	1
Chlorochin	3 mg/kg x 4 dny i.p.	1
Kontrolní skupina	N/A	5

*i.p.intraperitoneální injekce

V podobném režimu byla myši inokulovány roztokem obsahujícím 1×10^7 erythrocytů/ml I.V. injekcí. O dvě hodiny později bylo léčivo podáno I.V. injekcí. BrEA nebo jiné sloučeniny obecného vzorce (1) jsou podávány (0,2 ml I.V. nebo S.C.) jednou denně po dobu 4 dnů. Po studiu byla krev odebírána ze stříhů na ocase. K získání infikovaných buněk byly používány myši infikované *P.berghei*. Parazity byli odebíráni z krve myšího srdce a neinfikované myši byly infikovány pomocí 0,2 ml krve s 14% parazitemií na myš I.V. O dvě hodiny později byla podána první dávka BrEA (100 mg/kg I.V. nebo S.C.) do infikovaných zvířat. BrEA formulace byla ve formě sterilního roztoku obsahujícího 15 mg/ml BrEA v 45% hydroxypropyl- β -cyclodextrinu a 0,9% fyziologického roztoku. V 1, 2, 3 a 4 den po infekci zvířat byl BrEA (100 mg/kg I.V. nebo S.C.) podán infikovaným zvířatům. Ve skupině podávané I.V. BrEA v 30 den nebyla zpozorováno žádné úmrtí, ale všechna kontrolní zvířata byla mrtvá v 10 den. Všechna zvířata ošetřovaná S.C. podáním BrEA byla mrtvá v 11 den.

Příklad 8

In vivo a *in vitro* studie na potkanech

Při *in vitro* režimu byla hladina parazitu (*Plasmodium falciparum*, na chlorochin senzitivní kmen WT a rezistentní kmen Dd2) upravena na 1% a hemocri byl upraven na 7% médiem. Byla používána destička o 96 jamkách. Do každé jamky bylo přidáno 50 μ l parazitu a 100 μ l léčiva smíchaného s médiem a tento postup byl opakován třikrát. Destička byla umístěna do komory obsahující směs fyziologického plynu a byla inkubována při teplotě 37°C. Směs média a léčiva byla změněna ve 24, 48 a 72 hodině. V 5

den (96 hodin) byl z každé jamky odebrán vzorek, obarven činidlem Gensia a pro každý vzorek bylo spočteno 500 červených krvinek (RBC). Vše bylo provedeno trojmo, zprůměrováno a výsledky byly uvedeny v procentech.

Při *in vivo* režimu byla potkanů (Lewis) vážícím 80-85 gramů podána standardizovaná IP injekce parazitu (*Plasmodium berghei*). Potkanům pak o 2 hodiny později byla intravenózně injektována dávka popsaná v tabulce níže. Potkani byli vráceni zpět do svých klecí a byla jim zavedena standardní laboratorní strava a měli volný přístup k vodě. Zvířata byla zvážena a znovu ošetřena 24, 48 a 72 hodin po prvním ošetření a znovu vrácena do svých klecí a byla jim zavedena standardní laboratorní strava a měli volný přístup k vodě. Zvířata byla znovu zvážena a vykrváčena pomocí jehly 26 v 5, 11 a 28 den po inokulaci. Hemocriti byli měřeni a byl připraven pro každého potkana krevní nátěr. Krevní nátěry pak byly obarveny činidlem Gensia a byla stanovena hladina parazitemie (definovaná jako procento červených krvinek s parazity). Zvířata byla znovu vrácena do svých klecí a byla sledována dvakrát denně na průkazné zjištění progresivního onemocnění, definovaného jako apatičnost a nebo nežádoucí účinky léčiva, což je definováno jako ztráta 20% původní tělesné váhy, po dobu celkově 28 dnů. Pokud bylo zjištěno progresivní onemocnění anebo účinky léčiva, byla zvířatům provedena euthanasie.

BrEA formulace zahrnovala sterilní roztok obsahující 15 mg/ml BrEA v 45% hydroxypropyl- β -cyklodextrinu a 0,9% fyziologického roztoku.

Skupina 1	Skupina 2	Skupina 3	Skupina 4
Kontrolní 0,9% Fyziologický roztok	Chlorochin Kontrolní 40 mg/kg	Nízká dávka BrEA 30 mg/kg	Vysoká dávka BrEA 60 mg/kg

Intravenózní injekce byly aplikovány v 0, 1, 2 a 3 den a výsledky jsou uvedeny níže a ukazují *in vivo* ošetření pomocí formulace obsahující BrEA a redukci parazitemie na hladinu, která je srovnatelná s kontrolním chlorochinem („Clq“). Výsledky jsou uvedeny níže.

% RBC parazitemie

V den 4

Kontrolní fyziologický roztok	16%
Kontrolní chlorochin	10%

Nízká dávka BrEA	9%
Vysoká dávka BrEA	7%

% RBC parazitemie

V den 11

Kontrolní fyziologický roztok	36%
Kontrolní chlorochin	16%
Nízká dávka BrEA	12%
Vysoká dávka BrEA	11%

Příklad 9

Klinické studie infekce parazitem na lidských subjektech

Odpovědi na ošetření lékem byly u infikovaných pacientů klasifikovány podle kritérií Světové zdravotnické organizace (WHO 1973). Hodnocení terapeutických odpovědí bylo stanoveno pomocí doby clearance parazitů nebo horečky. Clearance parazita byla vyjádřena pomocí tří ukazatelů; doba snížení množství parazita o 50% z hodnoty předběžného ošetření (základní linie) (PC_{50}), (ii) doba snížení množství parazita o 90% z hodnoty předběžného ošetření (základní linie) (PC_{90}), (iii) doba snížení množství parazita pod hladinu mikroskopické detekce (doba clearance parazita PCT) (N. J. White and S. Krishna *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 83: 767-777, 1989; White *et al.*, *J. Infect. Dis.*, 165: 599-600, 1992; White *et al.*, *J. Infect. Dis.* 166: 1195-1196, 1992). Doba clearance horečky byla definována jako od doby aplikace léčiva až do doby spadnutí perorální nebo rektální teploty na nebo pod $37,2^{\circ}\text{C}$ a teplota zde setrvá alespoň 48 hodin.

Venózní krev (5 ml) byla odebrána od dvou pacientů před ošetřením a v 4, 6, 8, 12, 18, 20, 24, 30 a 36 hodině po ošetření nebo v 4- nebo 6-ti hodinových intervalech po ošetření, dokud nebyla pozorována úplná clearance periferní parazitemie. Krev byla sbírána asepticky a přemístněna do 10 ml stříkaček obsahujících 2 ml kyselý citrátový dextrosy (ADC) pro *in vivo* kultivaci. Před inkubací byla plazma separována od červených krvinek (2x promývané). Parazité byli kultivováni modifikací *in vitro* kultivačních technik (W. Trager aj. B. Jensen, *Science* 193: 673-675, 1976; A. M. Oduola *et al.*, *J. Protozool.* 39: 605-608, 1992). Vzorky byly dávkovány do sterilních centrifugačních nádob v průběhu 10 minut odběru a odstředovány. Supernatantní plazma byla uchovávána, zatímco

hematokrit byl dvakrát promýván kultivačním médiem (promývací médium, RPMI-1640 médium, obsahující 25mM HEPES pufr a 25 mmol/l NaOC). Lesklý povlak byl odstraněn vakuovým odsáním. Každý vzorek krve byl zředěn kompletním promývacím médiem 1:10 [CMP (promývací médium doplněné o 10% lidskou plazmu)]. Jeden mililitr z každého vzorku bylo umístěno do 2 jamek mikrokultivační destičky o 24 jamkách. Kultury byly inkubovány při teplotě 37°C v atmosféře předem smíchaného plynu o složení 5% CO₂, 5% O₂ a 90% N₂. Kultivační médium bylo denně vyměňováno a pro mikroskopii byly v 24 a 48 hodině po začátku kultivace připraveny tenké krevní nátěry. Pokud byl podíl červených krvinek zasažených parazitem větší než 2%, byla vzorky kultury zředěny promývacím type A Rh-pozitivních červených krvinek nezasazenými parazitem.

Zkoumání mikroskopem

Během *in vivo* studií byly tenké a tlusté krevní nátěry fixovány dehydratovaným methanolem (100%) a ožihány, respektive 10 minut obarvovány 10% činidlem Giemsa. Parazitemie byla kvantifikována na tenkých nátěrech spočítáním 2000 červených krvinek v čistých přiléhajících místech a nalezením částí, které byly zasaženy parazitem. Na tlustých nátěrech byla parazitemie kvantifikována spočítáním parazitů na leukocyty. Nátěr byl prohlášen za negativní, pokud nebyli zjištěni žádní parazité po zkoumání 200 mikroskopických míst tlustého nátěru. Během *in vitro* a *ex vivo* studie byly předem ošetřené tlusté a tenké nátěry klasifikovány na prstencová stadia metodou Jianga modifikovanou Liem a spol. (J. B. Jiang *et al.*, *Lancet* 2 (8293): 285-288, 1982; K. Silamut a N. J. White *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 87: 436-443, 1993; X. L. Li *et al.*, *Chi. J. Parasitol. Dis.* 12: 296, 1994). Bylo napočítáno přibližně 5000 erythrocytů v čistých přiléhajících místech 24 a 48 hodin po inkubaci krve odebrané z každé časové skupiny a byla provedena klasifikace dospělosti na drobné kruhy, malé kruhy, velké kruhy, pigmentované trofozoity a schizonty.

Funkční životnost byla stanovena jako procentuální množství nepohlavních kruhových forem schopných dozrání na pigmentované trofozoity a schizonty v rozmezí 24-48 hodin *in vitro* kultivace (W. M. Watkins *et al.*, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 87: 75-78, 1993).

Vypočtení parametrů

Pacienti měli akutní symptomatickou těžkou necerebrální čistou *P.falciparum* malárii a také vykazovali nesnášenlivost perorální tekutiny, tělesnou teplotu větší než 39°C, více než 5000 parazitů na mikrolitr krve, nepohlavní parazitemii a měli negativní test moči na antimalarika. Těmto pacientům bylo intravenózně podáno každé čtyři hodiny 25 ml BrEA suspendované v sterilním 45% β -cyklodextrinu ve fyziologickém roztoku o koncentraci 25 mg/ml. V tomto režimu bylo pokračováno další čtyři dny. Kvantifikace parazitemie a klinické zkoušky byly provedeny jednou za každých 6 hodin prvních 72 hodin, poté denně vyhodnocení parametrů až do 7 dne (168 hodin) a potom v 14 den.

Krevní nátěry byly obarveny činidlem Giemsa a kvantifikace parazitemie byla provedena na tlustých nátěrech měřením 2000 parazitů oproti leukocytům a tenké nátěry nalezením částí infikovaných červených krvinek. Odezvy na ošetření léčivem byly klasifikovány podle WHO kritérií. Hodnocení terapeutických odpovědí bylo stanoveno pomocí doby clearance parazitů nebo horečky. Clearance parazitů byla vyjádřena pomocí tři ukazatelů; doba snížení množství parazita o 50% z hodnoty předběžného ošetření (základní linie) (PC₅₀), (ii) doba snížení množství parazita o 90% z hodnoty předběžného ošetření (základní linie) (PC₉₀), (iii) doba snížení množství parazita pod hladinu mikroskopické detekce (doba clearance parazita PCT)

Doba clearance horečky byla definována jako od doba aplikace léčiva až do doby spadnutí perorální nebo rektální teploty na nebo pod 37,2°C a teplota zde setrvá alespoň 48 hodin. Rychlost clearance parazitů v 14 den byla 100%. Klinické odpovědi tudíž zahrnovaly účinky na parazitemii u obou pacientů a zlepšení jednoho nebo více symptomů infekce.

Zkoušky s intravenózním podáním BrEA pacientům trpícím malárií

	Pacient A	Pacient B
Doba clearance horečky	12 hodin	18 hodin
Doby clearance parazitů		
Čas do 50% clearance	18 hodin	24 hodin
Čas do 90% clearance	24 hodin	48 hodin
Čas do 100% clearance	48 hodin	64 hodin

Příklad 10*In vitro* buněné studie

Účinek BrEA na aktivitu pentózového cyklu (PPS) u normálních lidských RBC byla zkoumána pomocí celých buněk. Poněvadž glukosa-6-fosfat dehydrogenasa („G6PD“) je limitující enzym PPS, odráží měření průchodu PPS lépe aktivitu G6PD u celých buněk v porovnání s měřením aktivity G6PD u buněčných lyzátů. Změřená aktivita G6PD u buněčných lyzátů je typicky 1100x větší než průchod PPS u celých klidových nestimulovaných RBC (aktivita G6PD v buněčných lyzátech: 165; průchod PPS 0,142 mikromol/hodin/ml RBC). Průchod PPS a aktivita G6PD u celých RBC závisí na množství faktorů (koncentraci NADPH, NAD a ATP a intracelulárním pH), které jsou udržovány konstantní, pokud měření je prováděno v lyzátu a může se lišit v celých RBC. Hladiny aktivity G6PD v buňkách je podstatně nad normálními základními potřebami a inhibice veškeré aktivity G6PD nemusí mít žádné nebo jen malé následky na průchod PPS v celých buňkách. Například RBC se středozemním mutantem G6PD s 1-3 procentuální reziduální aktivitou v porovnání s normálními jedinci nemají poruchu v základním průchodu PPS, ale vykazují narušený průchod v případě, kdy je průchod PPS stimulován přidáním methylenové modři. Byly provedeny série experimentů pomocí různých množství BrEA a průchod PPS byl měřen v nestimulovaném základním RBC a v RBC stimulovaném methylenovou modří (MB).

Údaje uvedené níže ukazují průchod PPS (mikromol/hodina/ ml RBC) v základní nestimulované a MB-stimulované normální RBC. Různé koncentrace BrEA (0,3, 3,5 a 7 mikromol, finální) byly doplněny do suspenzí promývaných RBC suspendovaných v RPMI, pH 7,4 při 10% hematokritu, jimiž byl průchod PPS ihned měřen bez další inkubace a bez dalších promýván. Při koncentraci BrEA 7 μ M byla pozorována slabá inhibice MB-stimulovaném průchodu PPS.

	Průchod PPS
Kontrolní nestimulované RBC	230
DMSO kontrola, MB-nestimulované RBC	270
DMSO kontrola, MB-stimulované RBC	5090
0,3 μ M BrEA, nestimulované	250
0,3 μ M BrEA, MB-stimulované	5000

3,5 μ M BrEA, nestimulované	270
3,5 μ M BrEA, MB-stimulované	4950
7 μ M BrEA, nestimulované	295
7 μ M BrEA, MB-stimulované	4660

Data uvedená níže ukazují průměrné hodnoty z 3 experimentů, kde základní, nestimulovaný a MB-stimulovaný průchod PPS (mikromol/hodina/ml RBC) byl měřen u normálních RBC. Při těchto experimentech byly různé koncentrace BrEA ~0,8, 8 a 80 (mikromol, finální) doplněny do suspenzí promývaných RBC suspendovaných v RPMI, pH 7,4 při 10% hematokritu. Po 90 minutové inkubaci při teplotě 37°C byl měřen průchod PPS společně nebo bez BrEA. Výsledky ukazují na dávce závislou inhibici MB-stimulovaného průchodu PPS. Inhibice byla 10% při 8 mikromolech ($p=0,006$ oproti kontrole+DMSO) a 25% při 80 mikromolech ($p=0,002$ oproti kontrole+DMSO).

	Průchod PPS
Kontrolní nestimulované RBC	430
Kontrolní MB-stimulované RBC	5410
DMSO kontrola, MB-nestimulované RBC	480
DMSO kontrola, MB-stimulované RBC	4890
0,8 μ M BrEA, nestimulované	410
0,8 μ M BrEA, MB-stimulované	4930
8 μ M BrEA, nestimulované	450
8 μ M BrEA, MB-stimulované	4430
80 μ M BrEA, nestimulované	450
80 μ M BrEA, MB-stimulované	3660

Příklad 11

Inhibice růstu parazita

Byl sledován účinek Epi (16 α -brom-epiandrosteronu) na růst parazita (*Plasmodium falciparum*). EPI byl aktivní při koncentraci 1 μ M.

Parazitemie po ošetření

	0 h	24 h	48h	72 h
kontrola + DMSO	5%	5,40%	3,10%	5,20%
Epi 1 μ M	5%	5,70%	5,50%	1,60%
Epi 10 μ M	5%	5,60%	0,90%	0
Epi 100 μ M	5%	0	0	0
Epi 500 μ M	5%	0	0	0
kontrola + DMSO	2%	8,80%	11%	8%
Epi 50 nM	2%	9,90%	9,20%	8,30%
Epi 1 μ M	2%	5,80%	6,10%	2,10%
Epi 2,5 μ M	2%	7,30%	5,80%	3,20%
Epi 5 μ M	2%	5,40%	6%	1,80%
Epi 10 μ M	2%	4,20%	3%	0
Epi 50 μ M	2%	0	0	0

Parazitemie byla stanovena standardními způsoby (mikroskopickým vyšetřením alespoň 500 buněk označených činidlem Diff-QuickTM(Baxter). Parazité byly kultivovány za standardních podmínek v RPMI-1640 doplněném Hepes/Glukosou (10 mM), glutaminem (0,3 g/litr) a 10% lidské plazmy. Hematokrit byl 1%.

Příklad 12

Stimulace fagocytózy

Schopnost BrEA ovlivňovat fagocytózu RBC infikovaných parazitem rodu *Plasmodium* byla zkoumána na adhezivních lidských monocitech. Hladina parazitemie byl okolo 8-10% a lidské monocity byly získány z „buffy coat“ krve následovně: periferní krevní jednojaderné buňky byly separovány z čerstvě odebraných „buffy coats“ chudých na destičky vyřazených z krevních vzorků zdravých dospělých dárců obou pohlaví. Separované buňky byly promývány jednou vlažným PBS doplněným 10 mM glukosy (PBS-G) a znovu suspendovány při 5×10^6 buněk na ml v ledově studeném RPMI 1640 médium doplněném o 23 mM NaHCO_3 a 25 mM Hepes, pH 7,4 (RMBH). Dynabeads

M450 Pan B a Pan T (Dynal) byly přidávány do buněk v poměru 4:1 po dobu 20 minut při teplotě 4°C. B-lymfocyty a T-lymfocyty byly odstraněny podle výrobce. Zbývající monocyty jsou promývány (2x) v RMBH, znovu suspendovány v AIM V buněčném kultivačním médiu (Gibco) při 1×10^6 buňky na ml. Vrstav monocytů byl odebrána, promývána PBS-G při teplotě 37°C a znovu suspendována v AIM V médiu při 1×10^6 buněk na ml. Purifikované buňky byly podle zkoušek CD14 exprese z více jak 90% monocyty.

Fagocytóza opsonizovaných parazitovaných RBC (PE) byla stanovena následovně: Fagocytóza opsonizovaných PE z čerstvého séra byla iniciována smícháním 10 PE na monocyty. Suspenze byly krátce centrifugovány (150 x g po dobu 5 sekund při pokojové teplotě) za účelem zvýšení kontaktu mezi PE a monocyty. K vyhnutí se přichycení monocytů po centrifugaci a během celé doby inkubace byly buňky udržovány v suspenzi při 5×10^6 buněk na ml AIM V médiu v nádobách s teflonovým dnem o průměru 6 cm v zvlhčovaném inkubátoru (95% vzduchu, 5% CO₂) při teplotě 37°C. Podle mikroskopického zkoumání průměrně alespoň 90% monocytů fagocytovalo PE. Kontrolní buňky byly udržovány za podobných podmínek bez fagocytózy. Kvantitativní stanovení fagocytózy bylo provedeno již dříve popsanou bioluminiscenční metodou (E. Schwarzer, *et al.*, *Br. J. Haematol.* 1994 88: 740-745).

Ošetření erythrocytů a kultury parazitů byly následující. K izolaci erythrocytů (RBC) byla používána čerstvá krev (Rh⁺). Promývané RBC byly infikovány parazity ve stádiích schizontu nebo trofozoitu (Palo Alto kmen, mykoplasma). Paraziti se specifickými stádii byly izolovány metodou Percoll-mannitol. Jen krátce, RBC parazitované schizonty v normálním stádiu (SPE) separované gradientem typu „Percoll-mannitol“ (parazitemie > 95% SPE) byly smíchány s RBC suspendovanými v růstovém médiu (RPMI 1640 médium obsahující 25 mmol/l Hepes, 20 mmol/l glukosy, 2 mmol/l glutaminu, 24 mmol/l NaHCO₃, 32 mg/l gentamicinu a 10% AB nebo A lidského séra, pH 7,30) k iniciaci synchronních kultur ve vybraných hodnotách hematokritu. Očkovací parazitemie byla upravena na 20% normální SPE pro izolaci RBC zasaženými parazitem v kruhovém stádiu (RPE) a na 5% normální SPE pro izolaci RBC zasaženými parazitem ve stádiu trofozoita (TPE). Ve 14-18 hodinách po inokulaci parazitů byly v kruhovém stádiu v prvním cyklu; ve 33-34 hodině byly ve stádiu trofozoita v první kuhu; a v 40-44 hodině po inokulaci parazitů byly ve stádiu schizonta v první cyklu. RPE, TPE a SPE byly separovány gradientem „Percoll-mannitol“. Parazitemia byla obvykle 8-10% RPE a > 95% TPE. RBC nezasažené a

zasažené parazity byly elektronicky spočítány. Ke stanovení celkové parazitémie a relativního podílu RPE, TPE a SPE byly připraveny snímky z kultur v uvedených časech, označeny činidlem Diff-Quik™ a 400-1000 buněk bylo mikroskopicky zkoumáno.

Účinek sloučeniny obecného vzorce (1), např. BrEA v RBC zasaženými parazity, byl zkoumán za různých koncentrací sloučeniny, např. BrEA, např. 0,5 μM , 1 μM , 10 μM , 25 μM a 50 μM . RBC zasažené parazity ve stádiu trofozoita, schizonta nebo prstencově parazitované RBC byly zkoumány podle popsaného způsobu.

Příklad 13

Klinické zkoušky s lidskou formou malárie

Byly provedeny klinické zkoušky zahrnující 15-20 pacientů. Ve fázi I, I/II nebo II zkoušky byly pacienti mírně infikováni jedním nebo více parazity rodu *Plasmodium* a mají mírné příznaky (méně než 8-10% parazitémie RBC). Před ošetřením byly pacienti případně testovány na infekci virem HIV, HCV, TB nebo mikroorganizem rodu *Cryptosporidium*. Pacienti s jedním nebo více koinfekcemi byly podrobeni standardnímu ošetření na tyto koinfekce. Pacienti byly hospitalizováni kvůli ošetření po dobu jednoho týdne. Dvěma nebo více skupinám byl parenterálně podán BrEA, např. 25, 50 nebo 100 mg/denně, např. intramuskulární, subkutánní nebo intravenózní injekcí, ve 3, 4 nebo 5 den týdne, za předpokladu, že pacientům byla podána dávka. Dávky bylo podávány souvisle nebo intermitentně, např. 2, 3 nebo 4 dávky s jednou dávkou podávanou každý druhý den.

Formulace obsahující BrEA byla popsána výše, např. formulace podle příkladu 1 nebo formulace obsahující 100 mg/ml BrEA, PEG300 ~30 obj.%, 30 obj.% propylenglykolu, 30 obj.% benzylbenzoátu a 2 obj.% benzylalkoholu. V 5-7 den, pokud bylo pozorováno méně než 50% redukce parazitémie, byli pacienti podrobeni standardnímu ošetření na malárii (meflochin). Během týdne ošetření a dalších 1, 2, 3 nebo více týdnů po ošetření byly pravidelně odebírány vzorky krve ke stanovení parazitémie, farmakokinetického profilu, plazmových cytokinů (např. IL-2, IL-4, IL-10, IGF1, γIFN , GM-CSF) a intracelulárních cytokinů (např. IL-2, IL-4, IL-10, IGF1, γIFN , GM-CSF). Pacienti byli případně ošetřeni znovu v 2 až 12 týdnů po počátečním dávkování stejným nebo podobným režimem jako byl použit pro počáteční dávkovací režim.

Názorné příklady ukázány otevřeně značených studií formulace BrEA podávané intramuskulárně semiiracionálním pacientům s nekomplikovanou malárií.

Formulace obsahuje 100 mg/ml BrEA, ~30 obj.%PEG300, 30 obj.%propylenglykolu, 30 obj.% benzylbenzoátu a 2%benzylalkoholu. Pacienti zůstanou v nemocnici jako nemocniční pacienti po dobu 7 dnů studie. Bude jim jednou denně aplikována intramuskulárně dávka 50 mg nebo 100 mg BrEA po dobu 5 následujících dnů. Denní vyhodnocení pro prvních 7 dnů a až do 14 dne studie může zahrnovat vyhodnocení parazitemie (dvakrát denně), chemie, hematologie a hladin léku (farmakokinetická vyhodnocení). Pokud po 7 dni studie na základě vyšetření hladiny parazitemie sníží a pacient je v klinicky stabilním stavu, může pacient pokračovat v základním ošetření parazitemie (dvakrát denně) až dalších 7 dnů jako nemocniční pacient. Pokud pacient v kterékoliv době probíhajícího studia začne být v klinicky nestabilním stavu, bude pacientovi přešuna léčba a nasazena standardní léčba malárie. Pacienti s nedostatečným množstvím enzymu glukosa-6-fosfát dehydrogenasy mohou být vyloučeni z léčby, poněvadž BrEA inhibuje tento enzym. Dále budou vyloučeni z klinických zkoušek pacienti, které mají jednu z následujících diagnóz: těžkou anémii (hematokrit < 21% nebo hemoglobin < 7 g/dl); renální nebo jaterní selhání na základě anamnézy a/nebo laboratorních výsledků respirační tíseň projevující se dušností nebo počtem dechů $\geq 30/\text{min}$; hypotenze (systolický krevní tlak < 90 mm Hg); tachykardie (srdeční frekvence > 130 tepů/min); těhotné nebo kojící ženy; signifikantní aktivní komorbidní onemocnění (akutní lékařská diagnóza vyžadující specifickou terapii; pacienti s parazitemií > 10% na periferním nátěru.

Vzorky krve mohou být odebírány z každého pacienta za účelem pozdějších klinických vyhodnocení, např. stanovení aktivačních markerů nebo imunologická analýza (např. testy na intracelulární nebo extracelulární interleukiny IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 a IL-12, γ IFN a TNF α).

Příklad 14

Formulace na bázi lipozómu

Lipozómy vhodné pro parenterální podání jsou připraveny podle následujícího způsobu: 400 mg fosfatidylcholinu a 80 mg BrEA byly rozpuštěny v chloroformu a methanolu (2:1 objemově) a roztok byl sušen na rotační odparce za sníženého tlaku. Výsledná vrstva byla rehydratována přidáním 8,0 ml 0,9% (hmotn./obj.) roztoku NaCl a mícháním tohoto roztoku. Velikosti lipozómů jsou případně měřeny, např. fotonou korelační spektroskopií (Malvern Zetasizer 3000 nebo ekvivalentní). Lipozómy jsou

případně velikostně tříděny, např. sonikací za redukce průměrné velikosti pod 400 nm nebo filtrací přes vhodné filtry. Podobné postupy jsou používány k přípravě lipozómových preparátů, které obsahují sloučeninu obecného vzorce (1) v koncentraci 15-100 mg/ml. Formulace je používána k podání sloučeniny perorálním nebo parenterálním způsobem (I.M., S.C., I.V.)

Příklad 15

Formulace na bázi cyklodextrinu

Cyklodextrinové formulace obsahující BrEA jsou připraveny následujícím způsobem: 45 g hydroxypropyl- β -cyklodextrinu bylo přidáno do 1 l sterilní fyziologického roztoku a směs byla míchána po dobu 4-24 hodin, dokud nebyl získán čirý roztok. BrEA, který nebyl jemně mletý, byl přidán v takovém množství, aby výsledná koncentrace byl 20 mg/ml, a směs byla míchán, dokud nebyl získán čirý roztok. Roztok byl poté sterilizován filtrací pomocí filtru s pórovitostí 0,2 μ m a dávkován do sterilních obalů. Podobné postupy jsou používány k přípravě cyklodextrinových formulací, které obsahují sloučeninu obecného vzorce (1) v koncentraci 15-100 mg/ml. Formulace je používána k podání sloučeniny perorálním nebo parenterálním způsobem (I.M., S.C., I.V.) nebo bukalní nebo sublinguálním způsobem.

Příklad 16

Formulace na bázi čípku

Formulace rektálních čípků obsahující sloučeninu obecného vzorce (1), např. BrEA, byly připraveny následujícím způsobem. Dostatečně nemikromleté BrEA bylo měřeno k získání požadovaného množství jednotek, které obsahují 500 mg BrEA každá. BrEA bylo smícháno s čípkovým základem, např. triglyceridem z jedlého rostlinného oleje, za vzniku matrice s požadovanými vlastnostmi, např. obsah volných mastných kyselin 0,1 hmotn.%, číslem zmýdelnění 242, jodovým číslem 3, vlhkostí 0,1 hmotn.% a bodem tání 35°C změřeným v uzavřené kapiláře.

Příklad 17

Klinické zkoušky s lidským HCV

Ženě infikované HIV a HCV byl I.V. podáván BrEA po dobu 3 následujících dnů v podobě formulace obsahující 20 mg/ml BrEA v 45% (hmotn./obj.) hydroxypropyl- β -cyklodextrinu a fyziologického roztoku. Čtyři ml formulace (80 mg BrEA) bylo podáváno pacientovi každé 4 hodiny během třidenního ošetření. Pacientova hladina HCV před dávkováním byla 6,5 Log₁₀, což bylo změřeno pomocí PCR, a hladina HCV v první den dávkování byla 6,2 Log₁₀, třetí den dávkování 5,5 Log₁₀ a tři dny po posledním dávkování 4,9 Log₁₀. Hladiny RNA HIV měřené PCR byly 5,2 Log₁₀(před dávkování), 5,8 Log₁₀(první den), 5,9 Log₁₀ (třetí den) a 5,4 Log₁₀ (v šestý den). Počet NK buněk (buněk na mm³) byl 28 před dávkováním, 41 v den 0 a 38 ve třetí den.

Příklad 18

Formulace

Formulace obsahující 100 mg/ml BrEA, ~30 obj.% PEG300, 30 obj.% propylenglykolu, 30 obj.% benzylbenzoátu a 2 obj.% benzylalkoholu byla připravena suspendováním BrEA v polyethylenglykolu 300 a postupným přidáváním propylenglykolu a benzylbenzoátu za vzniku roztoku, který byl zředěn na finální požadovaný objem dalším propylenglykolem. Postup je uveden níže.

Vypočtené množství polyethylenglykolu 300 bylo přidáno do míchané nádoby. Za stálého míchání bylo do nádoby přidáno vypočtené množství BrEA a směs byla míchána dalších 5 minut za vzniku průsvitné tekuté suspenze. K dosažení požadované finální formulace byl pak přidán propylenglykol a směs byla míchána přibližně 5 minut. Roztok léčiva byl přemístěn do přístroje k vypouštění určitého objemu a každá lékovka byla naplněna 1,2 ml tohoto roztoku. Pod atmosférou dusíku byl tento roztok filtrován přes dva polyvinylidenfluoridové filtry s pórovitostí 0,2 μ m v sériích do 2 cc neprůhledných skleněných lékovek. Lékovky byly potaženy teflonem, uzavřeny zátkou z polyizobutylénové pryže a těsně uzavřeny.

Příklad 19

Klinické zkoušky oportunních infekcí

Náhodný dvojitý slepý pokus (placebo kontrolovaná studie) byla provedena se 100 mg BrEA aplikovanými intramuskulárně pacientům infikovaným HIV v pokročilém stádiu

s rizikem oportunní infekcí (Ols). HIV-1 séropozitivní pacienti s počtem CD4 buněk $\leq$ buněk na mm^3 , HIV RNA při 1×10^6 kopií na ml a Karnofsky skórem alespoň 60 byly diagnostikovány na potenciální zahrnutí do režimu. Pacienti ve všech klinických režimech musí před vyšetřením pochopit a podepsat formulář informovaného souhlasu.

Byl používán BrEA ve formulaci podle příkladu 16. Podání léku nebo nosiče bude po dobu 3 až 5 následujících dnů, poté bude následovat 35-90 denní pozorování, např. 37 dnů pozorování. Názorný příklad režimu ošetření zahrnuje 5 dnů ošetření a 37 dnů pozorování, což je opakováno v 7 kolech v průběhu 42 týdnů. Frekvence výskytu Ols, jakož i doba rozlišení nebo kontrola Ols bude sledována a srovnána s placebo kontrolní skupinou. Pacienti mohou být sledováni měsíčně po dobu 2 nebo 3 měsíců po ukončení sledování. Výskyt nebo Ols nebo stavy související s AIDS jsou sledovány, např. tuberkulóza (TB), kandidóza, pneumocystická pneumonie (PCP), diarea nebo Kaposiho sarkom, mohou být vyhodnoceny konečné body režimu. Pokud je pacient diagnostikován jedním nebo více režimy specifikovanými oportunními infekcemi, bude zahájen režim ošetření Ol, např. Fluconazol pro kandidózu nebo PCP, trimethoprim a sulfamethoxazol nebo Dapson. Podobný režim byl používán s jinými sloučeninami obecného vzorce (1).

Příklad 20

Klinické zkoušky s lidským HIV

Pacienti infikovaní HIV byli podrobeni dávám i.m. injekce 25-200 mg BrEA pomocí formulaci obsahující 100 mg/ml BrEA, 30 obj.% PEG 300, 30 obj.% propylenglykolu, 30 obj.% benzylbenzoátu a 2 obj.%benzylalkoholu. Pacientům byla aplikována dávka jednou denně po dobu 5 následujících dnů a po dobu 28 dnů nebo více bylo ošetření pomocí BrEA vynecháno. Pacienti poté byli podrobeni jedné další léčbě lékem BrEA po dobu 5 následujících a následným vynecháním dávek po dobu alespoň 28 dnů. Byly provedeny až 5 kol dalších 5-ti denních ošetření s následujícími alespoň 28 dny vysazení. Poté byly ze vzorků krve nebo plazmy od pacientů zkoumány prodovou cytometrií a jinými známými metodami imunologické odpovědi. Podskupiny imunitních buněk nebo jiné měřené markery byly zkoumány v průběhu 24 hodin od získání vzorku od každého pacienta. Značené protilátky, např. protilátky antigenu anti-CD konjugované s fluo fluorescenčními protilátkami (FITC, phycoerythrin, alophycocyanin nebo PerCP), byly připraveny a používány podle standardních způsobů za použití komerčně dostupných

činidel, viz např. PharMingen, 1998 Research Products Catalog, technické protokoly str. 732-774, lidské buněčné povrchové molekuly str. 182-295 a myši, potkanní a křeččí buněčné povrchové molekuly str. 2-173 a cytokinní a chemokinní činidla str. 344-489.

Klinická zkouška je fáze I/II, otevřeně označená, náhodná studie 3 hladin dávek BrEA podávaných intramuskulárně pacientům infikovaným HIV, kteří ještě nebyli ošetřováni. Byly 3 ošetřované skupiny a každá skupina se sestávala ze 2 částí (část A a B). Pacienti dostávali stejné dávky BrEA během částí A a B studie. Pokud pacienti dosáhli antivirových odpovědí (HIV RNA titr alespoň 0,5 log pod průměrnými hodnotami vyšetření a základní linie) nebo benefitů (jakékoliv snížení HIV RNA titrů pod průměrnými hodnotami vyšetření a základní linie) na základě podrobených ošetření během částí A a B studie, mohou pacienti pokračovat v 5-ti denním ošetření formulací BrEA podle příkladu 2 v dávkách pro počáteční podání. Tento režim ošetření se může šestkrát opakovat.

Všem pacientům byla během studia sledována hladina HIV RNA (Chiron QuantiplexTM testy rozvětveného řetězce DNA), podskupin T-buněk [CD4/CD8], provirové HIV DNA (PBMC), interleukinů [IL-2, 4, 6, 8, 10 a 12] (sérum), γ IFN (sérum), insulinového růstového faktoru [IGF-1] (sérum) a nádorového nekrozního faktoru [TNF] (sérum). S podskupinou vzorků pacientů může být prováděny PBMC kvantitativní kokultivace (buněk). Mohou být provedeny také další testy aktivace markerů. Navíc pacienti koinfikovaní virem hepatitidy B a/nebo C, malárií nebo tuberkulózou mohou být pravidelně sledováni pomocí virových titrů nebo mikrobiologických kultur. Opakovaně byly odebírány vzorky krve a moče od podskupiny pacientů pro farmakokinetické studie do první dávky v části A až po poslední dávku v části B.

Ošetření se může sestávat z více než jedné intramuskulární injekce. Intramuskulární injekce mohou být aplikovány do různých míst (tzn. levé nebo pravé paže nebo stehna nebo hýždě) a jednorázová 100 mg nebo 200 mg dávka BrEA může být podána pacientovi ve dvou nebo více subdávkách o obsahu menším než 100 mg (např. 50 mg).

Tato studie má dva segmenty, segment 1 a segment 2. Oba segmenty sestávají z dvou částí, části A a části B. Prvních 12 pacientů spadalo do režimu popsaného v segmentu 1, zbývajících 24 do segmentu 2. Režimy jednotlivých segmentů jsou popsány níže.

Část A se sestávala z jednorázové intramuskulární injekce formulace BrEA. Pacienti byli podrobeni studii v 1 dni. Pacientům, kteří spadali do farmakokinetické skupiny, byly pravidelně odebírány vzorky krve a moče se začátkem studie v 1 dnu. Část B studie začínala v 8 den (segment 1) nebo část B studie (segment 2) začínala v 15 den.

Segment 1 části B se sestával z intramuskulárních injekcí formulace podle příkladu 1 v stejných dávkách jako v části A studie. Dávky byly podávány v 5 následujících dnech. Pacienti byli podrobeni první dávce ve 8-12 dni studie. Poté byli podrobeni 5-ti dennímu ošetření následovaným přibližně 28 dny pozorování (nebo přibližně 32 dnů od první dávky v 8 dnu do začátku druhého ošetření v 40 den). Během pozorování se pacienti týdně vraceli na kliniku k různým testům. Pacientům, kteří spadali do farmakokinetické skupiny, byly pravidelně odebírány vzorky krve a moče se začátkem studie v 12-17 dni.

Segment 2 části B se sestával z intramuskulárních injekcí formulace podle příkladu 1 v stejných dávkách jako v části A studie. Dávky byly podávány v 5 následujících dnech. Pacienti byli podrobeni první dávce ve 15 dni studie. Poté byli podrobeni 5-ti dennímu ošetření následovaným přibližně 45 dny pozorování (nebo přibližně 49 dnů od první dávky v 15 dnu do začátku druhého ošetření v 64 den). Během pozorování se pacienti týdně vraceli na kliniku k různým testům. Pacientům, kteří spadali do farmakokinetické skupiny, byly pravidelně odebírány vzorky krve a moče se začátkem studie v 19 dni.

Režim zvyšování dávek byl následující. Pokud 4 z 12 pacientů na jednu ošetřovanou skupinu ukončilo 5 dnů denního dávkování podle části B a nebyly pozorovány žádné nežádoucí reakce v souvislosti s podávaným lékem, byli pacienti podrobeni vyšším hladinám dávek, samozřejmě po konzultaci mezi sponzorem a výzkumným týmem.

První čtyři pacienti byli podrobeni dávce 50 mg. Pokud nebyly pozorovány žádné nežádoucí reakce v souvislosti s podávaným lékem, byli pacienti náhodně podrobeni hladinám dávek buď 50 mg nebo 100 mg v poměru 1:1. Pokud nebyly pozorovány žádné nežádoucí reakce v souvislosti s dávkou 100 mg, bylo 24 pacientů náhodně podrobeno hladinám dávek buď 50, 100 nebo 200 mg v poměru 1:2:3.

Pokud u 4 ze 12 pacientů nebyly pozorovány žádné nežádoucí reakce (stupeň III nebo IV), bylo 2 další pacienti podrobeni stejným hladinám dávek. Další pacienti budou podrobeni vyšším hladinám dávek až za předpokladu, že to bude bezpečné. Pokud byly pozorovány nežádoucí reakce u jednoho ze dvou dalších pacientů, kteří byli podrobeni ošetření, je ošetření přerušeno. Po konzultaci se sponzorem a výzkumným týmem mohou být další pacienti podrobeni hladině dávek v rozmezí limitující dávky a dávky

nejblíže nižší k stanovení maximální přípustné dávky (MTD). Podrobení dalších pacientů hladinám specifických dávek bude upřesněno v dodatku.

Výsledky ukazují, že jednorázová dávka 50 mg nebo 100 mg BrEA zvýšila množství aktivovaných $CD8^+$ a $CD4^+$ T-buněk (např. $CD8^+$, $CD69^+$, $CD25^-$ buněk), které cirkulují v pacientově krvi. Také cirkulující množství prekurzorů dendritických buněk, NK buněk, LAK buněk a buněk, které zprostředkovávají ADCC (na protiláctech závislá, buňkami zprostředkovaná cytotoxicita zprostředkovaná podskupinou imunitních buněk $CD8^+$, $CD16^-$) funkce jsou zvýšeny. Další zvýšení jsou obvykle pozorována při dávkování po dobu 5 následujících dnů.

Některé z výsledků jsou shrnuty níže. Průběh léčení 1, 2, 3 se vztahuje na každý režim 5-ti denního ošetření zahrnující jednou denně injekci BrEA (50 nebo 100 mg BrEA na injekci). V diagramech níže označuje HE2000 formulaci obsahující 100 mg/ml BrEA, 30 obj.% PEG300, 30 obj.% propylenglykolu, 30 obj.% benzylbenzoátu a 2 obj.% benzylalkoholu. Data uvedená níže byla získána ze vzorků krve pacientů při základní linii (v den zahájení dávkování) a při různých časech po aplikaci alespoň jedné dávky BrEA. Výsledky ukazují signifikantní zvýšení populace imunitních buněk a profilů exprese cytokinu souvisejících s Th1 odpověďmi. Pacienti v tomto režimu měli na počátku počet $CD4$ alespoň 200 na mm^3 a množství sérové HIV RNA 5000 až 1×10^6 RNA kopií na ml. Po dávkování v rámci jednoho průběhu ošetření BrEA (5 následujících dnů i.m. injekcí), vykazovaly všichni pacienti zvýšené hladiny imunitních buněk včetně aktivovaných $CD8$ T buněk (např. $CD8^+$, $CD69^+$, $CD25^-$), LAK buněk (např. $CD8^+$, $CD16^+$, $CD38^+$), NK buněk (např. $CD8^-$, $CD16^+$), ADCC buněk (např. $CD8^-$, $CD16^+$) a dendritických buněk (Lin^- , $HLA-DR^+$, $CD11c^+$ nebo Lin^- , $HLA-DR^+$, $CD123^+$). Průměrná produkce $CD4$ IL-10 klesla z průměrných 66% na 4% buněk, zatímco $CD4$ IFN γ se zvýšila z průměrných 8% na 63% vedoucí k posunu Th2 na Th1 v produkci cytokinů.

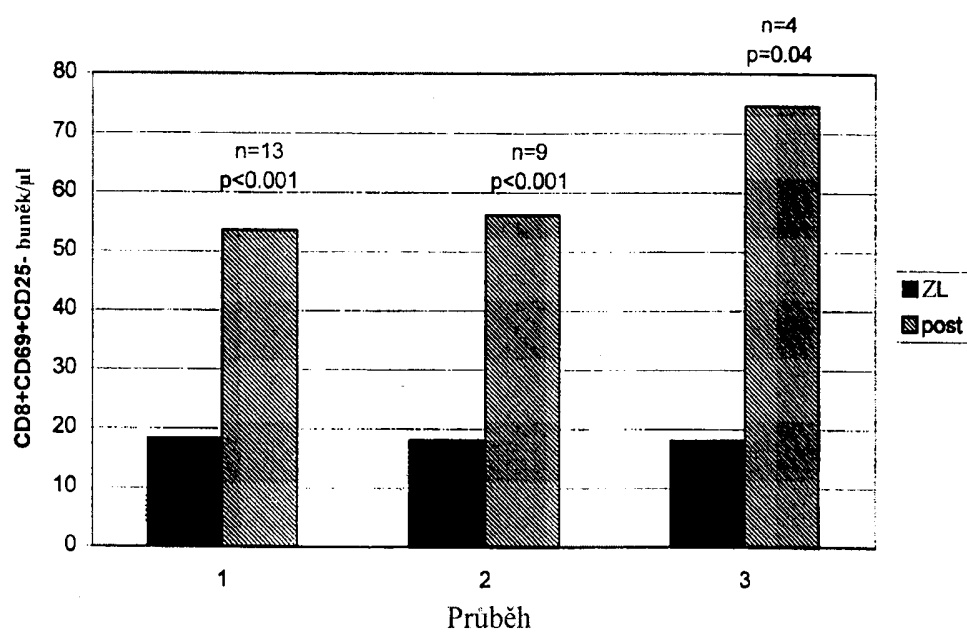
V diagramech níže je základní linie označena jako „ZL“ nebo „pre“.

Zvýšené imunofenotypy po terapii BrEA

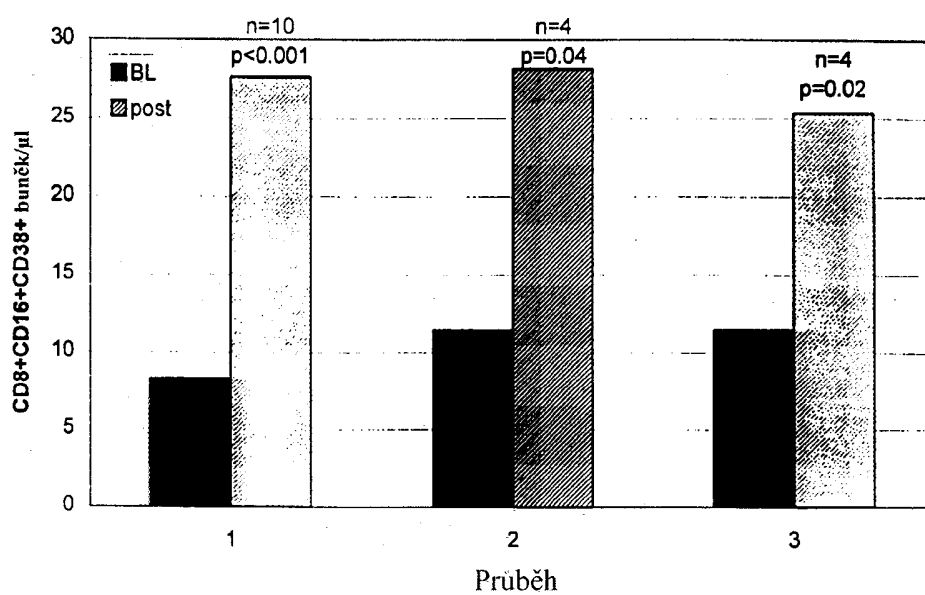
Fenotyp	Základní ^a linie	Průběh 1	Průběh 2	Průběh 3
CD8+CD69+CD25- n= ^b p=	18 (13)	54 (13) <0,001	56 (9) <0,001	75 (4) 0,04
CD8+CD16+CD38+ n= p=	8 (10)	27 (10) <0,001	28 (4) 0,047	25 (4) 0,02
CD8-CD16+ n= p=	53 (12)	253 (12) <0,001	288 (4) 0,02	249 (2) 0,04
Lin- HLA-DR+ CD11c+/CD123+ n= p=	3,2 (10)	17,7 (10) <0,001	11,4 ^c (5) 0,02	14,7 ^c (4) 0,04
IL2+CD4 ^d n= p=	3,14 ^e 13	29,25 13 <0,001	31,42 3 0,09	13,59 4 0,04
IL10+CD4 ^d n= p=	66 13	20,9 13 0,005	8,9 5 0,005	15,3 3 0,03
Th1 odpověď ^d n= p=	17 (13)	66 (13) 0,001	64 (5) 0,033	53 (5) 0,025

^astřední hodnoty buněk na μ l^bt test párových hodnot^ctest není dostupný na úrovni základní linie pro pacienty, u kterých proběhla druhá a třetí léčba, hodnoty základní linie při zahájení druhé léčby = 6,4^d% CD4^eHodnoty základních linií v 8 dni (předchozí první 5-ti denní ošetření)

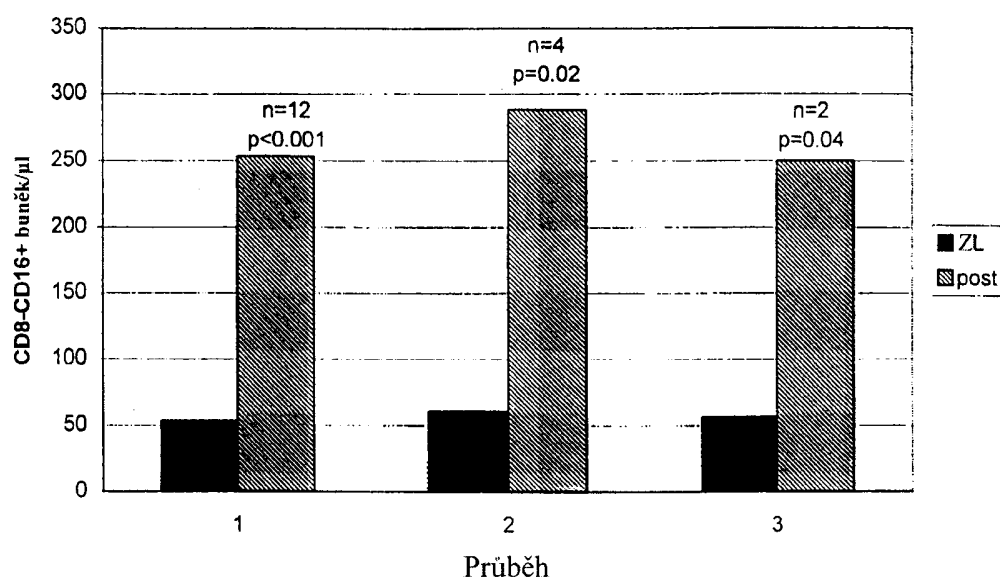
Střední aktivované T-buňky



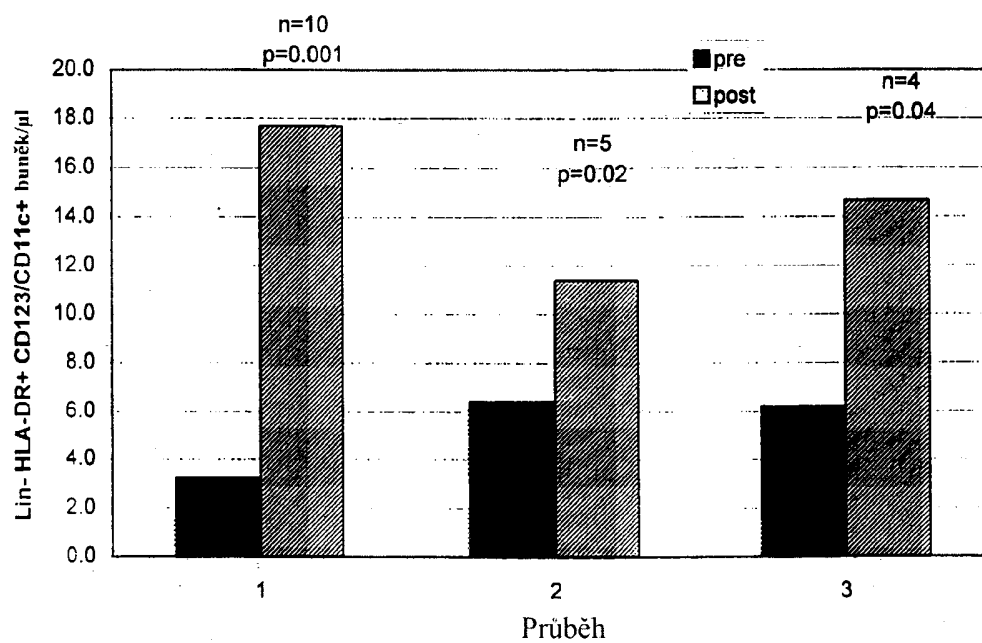
Střední LAK odpovědi při jednotlivých léčbách

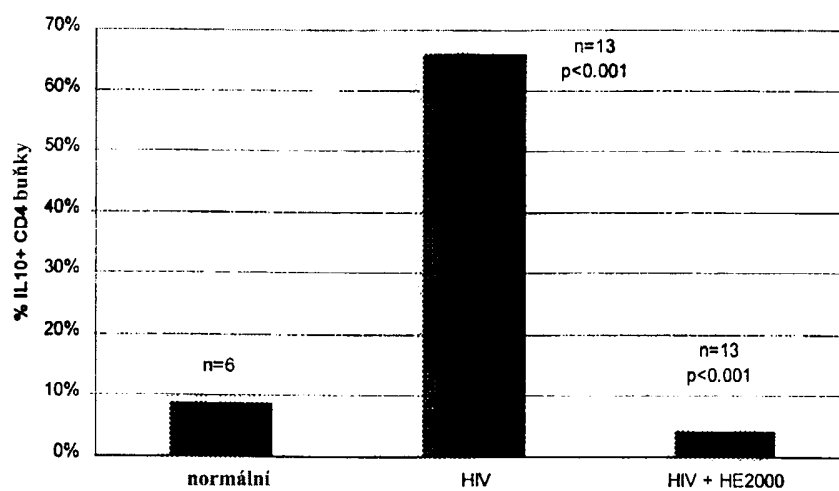
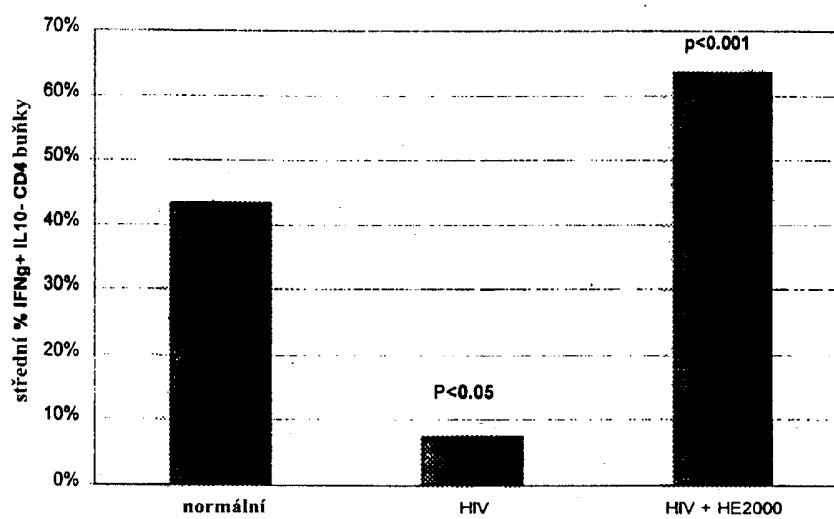


Střední NK, ADCC subjektu při jednotlivých léčbách

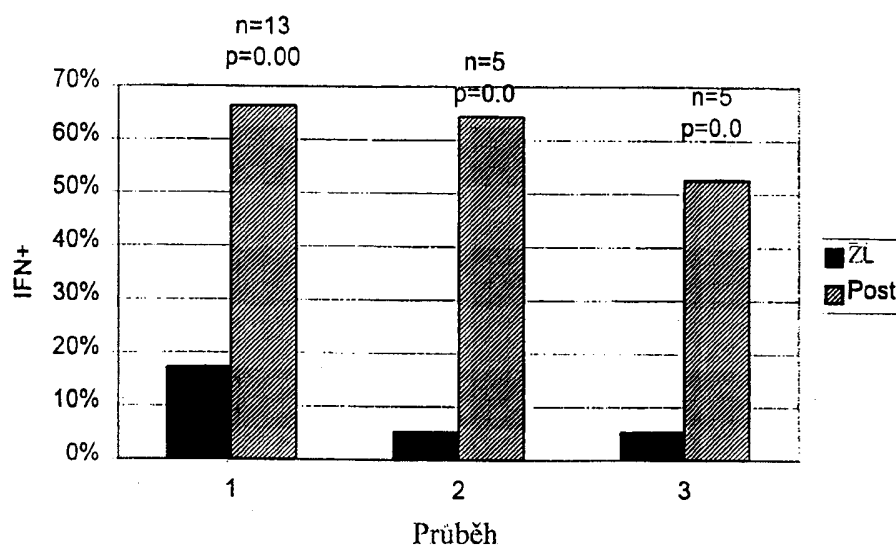


Střední odpovědi dendritických buněk při jednotlivých léčbách



HE2000 normalizace IL10+ CD4 buněk při HIV**HE2000 zvýšení procentuálního podílu Th1 buněk**

Střední Th1 (IFN γ + dominance) odpovědi



Příklad 21

Ošetření symptomů infekce HIV

Dva pacienti infikovaní HIV s chronickou diareou se podrobili následujícím dávkám BrEA. BrEA formulace (40 mg/ml BrEA v 25 obj.% PEG 300, 12,5 obj.% ethanolu, 5 obj.% benzylbenzoátu, ~57,5 obj.% propylenglykolu) byla podána subkutánně. Pacientům bylo podáváno denně 60 mg BrEA v 1,5 ml po dobu 10 dnů. Během aplikace dávek diarea ustala. Po skončení desetidenního dávkování se diarea vrátila. U dalších pacientů, kterým byl BrEA podáván perorálně, také došlo k remisi diarey.

Příklad 22

Subkutánní formulace

BrEA formulace byla připravena podle způsobu předloženého vynálezu. Formulace obsahovala 50 mg/ml BrEA, 40 obj.% PEG200, 2 obj.% benzylalkoholu, 2 obj.% benzylbenzoátu a doplněno ~66 obj.% propylenglykolu. Formulace je zejména vhodná pro subkutánní aplikaci sloučeniny.

Příklad 23

Příprava hemihydrátu BrEA-postup 1

Surový BrEA byl připraven bromací epiandrosteronu a krystalizací z methanolu. Hemihydrát byl připraven rozpuštěním 25 g surového BrEA v 75 ml refluxujícího ethanolu za mírného míchání. Za stálého míchání a při refluxu byla pomalu do 12,5 ml roztoku BrEA přidána voda. V míchání se pokračovalo a roztok se nechal ochladit na teplotu 20-25°C a při této teplotě byl udržován po dobu 15 minut za vzniku suspenze krystalů hemihydrátu BrEA. Krystaly byly izolovány filtrací, promývány roztokem 25 ml směsi vody a ethanolu (5:1 obj.) při teplotě 20-25°C a vakuově sušeny po dobu 13 hodin při teplotě 50-60°C dokud nebyla váha produktu konstantní. Krystaly měly tyčkovitý a jehličkovitý charakter s malým množstvím jiných tvarů, např. tabletek.

Tímto postupem bylo získáno 22,5 g hemihydrátu BrEA (výtěžek 90 %) s obsahem vody 2,6 hmotn.% zjištěným metodou KF, 100% čistotou podle HPLC, FTIR spektrem s píky karbonylové skupiny při 1741 cm^{-1} a 1752 cm^{-1} . Při měření FTIR bezvodého BrEA byl naměřen jediný pík karbonylové skupiny při 1749 cm^{-1} . Při měření DSC byly zjištěny tři endotermie. Jedna měla široký slabý pík s počátkem při teplotě 109-110°C a koncem při teplotě 150°C. Tento široký DSC pík odpovídá ubývání vody z krystalů hemihydrátu při zvyšování teploty vzorku. Druhá endoterma při teplotě 83-100°C odpovídá úbytku malého množství zbylého ethanolu ze vzorku. Při měření DSC bezvodého BrEA nebyla zjištěna široká endoterma, která byla pozorována u hemihydrátu. Také odpovídající úbytek vody z hemihydrátu v rozmezí teplot 100-150°C vyznačuje ostrá třetí endoterma při DSC měření hemihydrátu při teplotě 163-164°C, což je teplota tání bezvodého BrEA. FTIR bylo získáno pomocí USP metody <197>, kde vzorek hemihydrátu BrEA byl připraven jako KBr tableta. DSC termogram byl získán měřením při teplotě 25-250°C při rychlosti ohřevu 10°C za minutu.

Příklad 24

Příprava hemihydrátu BrEA-postup 2

Hemihydrát byl připraven rozpuštěním 10 g surového BrEA v 40 ml refluxujícího acetonu za mírného míchání. Za stálého míchání a při refluxu byla pomalu do 4,0 ml roztoku BrEA přidáno 40 ml vody. V míchání se pokračovalo a roztok se nechal ochladit na teplotu 20-25°C a při této teplotě byl udržován po dobu 15 minut za vzniku suspenze krystalů hemihydrátu BrEA. Krystaly byly izolovány filtrací, promývány roztokem 6,0 ml směsi vody a ethanolu (10:1 obj.) při teplotě 20-25°C a vakuově sušeny po dobu 13-15

hodin při teplotě 50-60°C, dokud nebyla váha produktu konstantní. Tímto postupem bylo získáno 7,0 g hemihydrátu BrEA (výtěžek 70 %) s obsahem vody 2,6 hmotn.% podle metodou KF a FTIR spektrem s píky karbonylové skupiny při 1741 cm^{-1} a 1752 cm^{-1} .

Příklad 25

Analýza velikosti částic hemihydrátu BrEA

Krystaly hemihydrátu BrEA byly připraveny podle způsobu předloženého vynálezu a pomocí přístroje tříděny podle velikosti (Malvern instruments). Pro polydisperzní vzorek a objemový distribuční typ byl používán analytický model. Provedenou analýzou bylo zjištěno rozmezí průměrné velikosti krystalů, 0,5-880 μm . Zhruba 90% krystalů mělo průměr v rozmezí 20-220 μm , většina 30-200 μm . Střední průměr krystalu byl 93 μm . Specifická velikost povrchu krystalů byla 0,25 m^2/g .

Z dosavadního popisu je odborné veřejnosti zřejmé, že uvedená různá specifická provedení, sloučeniny nebo přípravky mohou být dále modifikovány k začlenění dalších příslušných charakteristických znaků, např. jak je uvedeno v kterémkoliv specifickém provedení předloženého vynálezu nebo v citovaných odkazech.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Hemihydrát 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu.
2. Hemihydrát 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu, charakterizovaný jednou nebo více z následujících vlastností: (1) nástupem absorpční endotermie, měřeno diferenciální kalorimetrií, při asi 100 °C $\pm$ 2 °C, (2) dvěma absorpčními pásy karbonylové skupiny při asi 1741 cm⁻¹ a 1750 cm⁻¹, měřeno infračervenou absorpční spektroskopií s Fourierovou transformací, (3) obsahem vody činícím asi 2,4 hmotn. % až asi 2,6 hmotn. %, měřeno metodou Karla Fischera, a (4) 1, 2, 3 nebo více XRD píky při hodnotách theta asi 17,8 ° $\pm$ 0,2 °, 23,8 ° $\pm$ 0,2 °, 24,2 ° $\pm$ 0,2 °, 26,9 ° -27,2 ° $\pm$ 0,2 °, 28,6 ° $\pm$ 0,2 °, 30,1 ° $\pm$ 0,2 ° a 32,2 ° $\pm$ 0,2 ° theta, kde XRD píky jsou stanoveny s použitím Cu-K α záření.
3. Přípravek, **vyznačující se tím, že** zahrnuje hemihydrát 16 α -Brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu a pomocnou látku vhodnou pro humánní farmaceutické použití nebo pro veterinární použití.
4. Přípravek podle nároku 3 ve formě jednotkové dávky, **vyznačující se tím, že** zahrnuje 3 až 1000 mg hemihydrátu 16 α -Brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu.
5. Jednotková dávka podle nároku 3 nebo 4 ve formě tablety, kapsle, pastilky, roztoku, suspenze, gelu nebo koloidu.
6. Jednotková dávka podle nároku 3 nebo 4 ve formě tablety, kapsle, pastilky, roztoku, suspenze, gelu nebo koloidu, kde tato jednotková dávka je vhodná pro orální, parenterální, topickou, bukalní nebo sublingvální aplikaci subjektu.
7. Způsob přípravy hemihydrátu 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu, **vyznačující se tím, že** se uvádí do kontaktu voda s roztokem zahrnujícím 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-on a C₁-C₆alkohol.
8. Způsob podle nároku 7, **vyznačující se tím, že** C₁-C₆alkohol je ethanol.

9. Způsob podle nároku 7, **vyznačující se tím**, že roztok zahrnuje 5 až 25 hmotn. % vody, 30 až 45 hmotn. % ethanolu a 30 až 45 hmotn. % 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu.

10. Způsob podle nároku 7, **vyznačující se tím**, že roztok zahrnuje 18 až 22 hmotn. % vody, 37 až 43 hmotn. % ethanolu a 37 až 43 hmotn. % 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu.

11. Způsob podle nároku 10, **vyznačující se tím**, že roztok má teplotu v rozmezí asi -20 °C až asi 45 °C.

12. Produkt vyrobený způsobem, při němž dochází ke kontaktu roztoku obsahujícího vodu, 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-on a C₁-C₆alkohol.

13. Produkt podle nároku 12, kterým je hemihydrát 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu.

14. Produkt podle nároku 12, kde roztok zahrnuje asi 5 až 25 hmotn. % vody, asi 30 až 45 hmotn. % ethanolu a asi 30 až 45 hmotn. % 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu.

15. Hemihydrát 16 α -Brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu, který je rozemlet na průměrnou velikost částic 0,01 až 200 μ m.

16. Hemihydrát 16 α -Brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu, který je rozemlet na průměrnou velikost částic 0, 1 až 10 μ m.

17. Použití hemihydrátu 16 α -Brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu pro přípravu léčiva k léčení subjektu trpícího stavem imunosuprese nebo nežádoucí imunitní odpovědi nebo náchylného k těmto stavům, z nichž kterýkoli nebo oba jsou spojeny s (1) patogenní infekcí vybranou ze skupiny, kterou tvoří virová infekce, intracelulární

bakteriální infekce, extracelulární bakteriální infekce, fungální infekce, kvasinková infekce, extracelulární parazitární infekce, intracelulární parazitární infekce, infekce protozoálními parazity a infekce vícebuněčnými parazity, (2) autoimunitním onemocněním, (3) malignitou nebo prekancerózním stavem, (4) chemoterapií, radiační terapií, imunosupresivní terapií, terapií protiinfekčními prostředky, poraněním, popálením, přítomností imunosupresivní molekuly, gastrointestinálním podrážděním nebo zánětem nebo (5) jakoukoli kombinací výše uvedených.

18. Použití podle nároku 17, kde stav imunosuprese nebo nežádoucí imunitní odpověď je spojena s malignitou nebo prekancerózním stavem.

19. Použití podle nároku 18, kde malignitou nebo prekancerózním stavem je nádor vaječníku, nádor prsu, nádor prostaty, benigní hyperplasie prostaty, gliom, lymfom, leukemie, nádor tlustého střeva, sarkom, nemalobuněčný nádor plic, bronchogenní karcinom, rakovina renálních buněk, karcinom renálních buněk, melanom, pankreatický nebo gastrický adenokarcinom, lidská cervikální intraepiteliální neoplasie spojená s papilomavirem, karcinom děložního čípku, hepatom, lymfom kutánních T buněk nebo rakovina nebo prekancerózní stav vznikající v krku, jícnu, žaludku, střevě, konečníku, vaječníku, plicích, prsu nebo centrálním nervovém systému.

20. Použití podle nároku 17, kde stav imunosuprese nebo nežádoucí imunitní odpověď je spojena s virovou infekcí, intracelulární bakteriální infekcí, extracelulární bakteriální infekcí, fungální infekcí, kvasinkovou infekcí, extracelulární parazitární infekcí, intracelulární parazitární infekcí, infekcí protozoálními parazity a infekcí vícebuněčnými parazity.

21. Použití podle nároku 20, kde virová infekce, intracelulární bakteriální infekce, extracelulární bakteriální infekce, fungální infekce, kvasinková infekce, extracelulární parazitární infekce, intracelulární parazitární infekce, infekce protozoálními parazity nebo infekce vícebuněčnými parazity je infekce vyvolaná skupinou, druhem nebo rodem vybraným ze skupiny zahrnující retrovirus, togavirus, flavivirus, hepadnavirus, herpesvirus, papilomavirus, HIV-1, HIV-2, HHV-6, HHV-8, virus hepatitidy B, virus hepatitidy C, HSV-1, HSV-2, CMV, *Escherichia*, *Haemophilus*, *Legionella pneumoniae*,

Listeria, *Mycoplasma*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Rickettsia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Yersinia*, *Pneumocystis*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Cryptosporidium*, *Toxoplasma*, *Trichomonas*, *Chlamydia*, *Pneumocystis*, *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Plasmodium*, gastrointestinální hlísty, parazity *Microsporidium* nebo parazity *Isosporum*.

22. Použití podle nároku 21, kde se spolu s léčivem podle nároku 16 popřípadě podává léčivo zahrnující antivirální prostředek, antibakteriální prostředek, antifungální prostředek nebo antiparazitický prostředek.

23. Použití podle nároku 22, kde antivirální prostředek, antibakteriální prostředek nebo antifungální prostředek je inhibitor reverzní transkriptázy, inhibitor proteázy, antibiotikum, inhibitor fúze, γ -interferon, amantadin, rimantadin, ribavirin, chlorochin nebo analog chlorochinu.

24. Použití podle nároku 22 nebo 23, kde antivirální prostředek je vybrán ze skupiny zahrnující AZT, 3TC, D4T, ddl, ddC, adefovir dipivoxil, 9-[2-(R)-[[bis[[isopropoxykarbonyl)-oxy]methoxy]fosfinoyl]methoxy]propyl]adenin, (R)-9-[2-(fosfonomethoxy)propyl]adenin, adefovir, indinavir, nelfinavir, ritonavir, crixivan, sequanavir a hydroxymočovinu.

25. Použití podle nároku 22, kde antibakteriální prostředek nebo antifungální prostředek je vybrán ze skupiny zahrnující amfotericin B, flukonazol, klotrimazol, isoniazid, dapson, rifampin, cykloserin, erythromycin, tetracyklinové antibiotikum, vankomycin, ethambutol, pyrazinamid, fluorochinolon popřípadě vybraný z ciprofloxacinu a norfloxacinu, cefalosporinové antibiotikum, β -laktamové antibiotikum nebo aminoglykosidové antibiotikum popřípadě vybrané ze streptomycinu, kanamycinu a tobramycinu.

26. Použití podle nároku 17, kde stav imunosuprese nebo nežádoucí imunitní odpověď je spojena se zánětem.

27. Použití podle nároku 26, kde zánětem je alergická bronchopulmonální aspergilóza u pacientů s cystickou fibrózou, atopické astma, alergické respirační onemocnění, alergická rhinitida, atopická dermatitida, subepiteliální fibróza při hyperreaktivitě dýchacích cest, chronická sinusitida, sezónní alergická rhinitida, Crohnova nemoc, ulcerativní kolitida, syndrom zánětlivého střeva nebo fibrózní alveolitida.

28. Použití podle nároku 17, kde stav imunosuprese nebo nežádoucí imunitní odpověď je spojena s autoimunitním onemocněním.

29. Použití podle nároku 28, kde autoimunitním onemocněním je systémový lupus erythematosus, osteoporóza, skleróza multiplex, myasthenia gravis, Graveova choroba, revmatoidní artritida nebo osteoartritida.

30. Použití podle nároku 17 až 29, kde léčivo se subjektu podává s použitím intermitentního protokolu.

31. Použití podle nároku 30, kde subjektem je savec.

32. Použití hemihydrátu 16α -brom- 3β -hydroxy- 5α -androstan-17-onu pro přípravu léčiva k modulaci cytokinu nebo interleukinu, která usnadňuje Th1 imunitní nebo Th2 imunitní odpověď u subjektu.

33. Použití podle nároku 28, kde cytokinem nebo interleukinem je IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, γ IFN nebo THF α .

34. Použití podle nároku 33, kde cytokinem nebo interleukinem je IL-12.

35. Použití podle nároku 33, kde cytokinem nebo interleukinem je IL-1.

36. Použití podle nároku 33, kde cytokinem nebo interleukinem je IL-6.

37. Použití podle nároku 33, kde cytokinem nebo interleukinem je IL-10.

38. Použití podle nároku 28, kde cytokinem nebo interleukinem je THF α .
39. Použití podle nároku 32 až 38, kde se léčivo podává subjektu s použitím intermitentního dávkovacího protokolu a subjektem je savec.
40. Použití hemihydrátu 16 α -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-onu pro přípravu léčiva k podpoře Lin⁻ HLA-DR⁺ CD123⁺ dendritických buněk, Lin⁻ HLA-DR⁺ CD11c⁺ dendritických buněk, CD8⁺CD16⁺CD38⁺ lymfokinem aktivovaných zabíječských buněk, CD8⁻CD16⁺CD38⁺ lymfokinem aktivovaných zabíječských buněk, CD8⁻CD16⁺ přirozených zabíječských buněk, CD8⁺CD16⁺ přirozených zabíječských buněk, CD8⁻CD16⁺ buněk zprostředkujících buněčně zprostředkovanou cytotoxicitu závislou na protilátce, CD8⁻CD16⁺ buněk zprostředkujících buněčně zprostředkovanou cytotoxicitu závislou na protilátce u subjektu, CD45RA⁺ T- buněk nebo CD45⁺R0⁺ T-buněk u subjektu.
41. Použití podle nároku 40, kde subjekt trpí stavem imunosuprese nebo nežádoucí imunitní odpovědí, z nichž kterýkoli nebo oba jsou spojeny s (1) patogenní infekcí vybranou ze skupiny, kterou tvoří virová infekce, intracelulární bakteriální infekce, extracelulární bakteriální infekce, fungální infekce, kvasinková infekce, extracelulární parazitární infekce, intracelulární parazitární infekce, infekce protozoálními parazity nebo infekce vícebuněčnými parazity, (2) autoimunitním onemocněním, (3) malignitou nebo prekancerózním stavem, (4) chemoterapií, radiační terapií, imunosupresivní terapií, terapií protiinfekčními prostředky, poraněním, popálením, přítomností imunosupresivní molekuly, gastrointestinálním podrážděním nebo zánětem nebo (5) jakoukoli kombinací výše uvedených.
42. Použití podle nároku 40 nebo 41, kde léčivo se podává subjektu s použitím intermitentního dávkovacího protokolu a subjektem je savec.
43. Použití podle nároku 40 nebo 41, kde stav imunosuprese nebo nežádoucí imunitní odpověď je spojena s malignitou nebo prekancerózním stavem.
44. Použití podle nároku 43, kde malignitou nebo prekancerózním stavem je nádor vaječníku, nádor prsu, nádor prostaty, benigní hyperplasie prostaty, gliom, lymfom,

leukemie, nádor tlustého střeva, sarkom, nemalobuněčný nádor plic, bronchogenní karcinom, rakovina renálních buněk, karcinom renálních buněk, melanom, pankreatický nebo gastrický adenokarcinom, lidská cervikální intraepiteliální neoplasie spojená s papilomavirem, karcinom děložního čípku, hepatom, lymfom kutánních T buněk nebo rakovina nebo prekancerózní stav vznikající v krku, jícnu, žaludku, střevě, konečníku, vaječníku, plicích, prsu nebo centrálním nervovém systému.

45. Použití podle nároku 40 nebo 41, kde stav imunosuprese nebo nežádoucí imunitní odpověď je spojena s virovou infekcí, intracelulární bakteriální infekcí, extracelulární bakteriální infekcí, fungální infekcí nebo kvasinkovou infekcí.

46. Použití podle nároku 45, kde virová infekce, intracelulární bakteriální infekce, extracelulární bakteriální infekce, fungální infekce nebo kvasinková infekce je infekce vyvolaná skupinou, druhem nebo rodem vybraným ze skupiny zahrnující retrovirus, flavivirus, papilomavirus, HIV-1, HIV-2, HHV-6, HHV-8, virus hepatitidy B, virus hepatitidy C, HSV-1, HSV-2, CMV, *Escherichia*, *Legionella pneumoniae*, *Listeria*, *Mycoplasma*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Rickettsia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Yersinia*, *Trichomonas*, *Chlamydia*, *Pneumocystis*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Cryptosporidium*, *Toxoplasma* a *Pneumocystis*.

47. Použití podle nároku 40 nebo 41, kde stav imunosuprese nebo nežádoucí imunitní odpověď je spojena se zánětem.

48. Použití podle nároku 47, kde zánětem je alergická bronchopulmonální aspergilóza u pacientů s cystickou fibrózou, atopické astma, alergické respirační onemocnění, alergická rhinitida, atopická dermatitida, subepiteliální fibróza při hyperreaktivitě dýchacích cest, chronická sinusitida, sezónní alergická rhinitida, Crohnova nemoc, ulcerativní kolitida, syndrom zánětlivého střeva nebo fibrózní alveolitida.

49. Použití podle nároku 40 nebo 41, kde stav imunosuprese nebo nežádoucí imunitní odpověď je spojena s autoimunitním onemocněním.

50. Použití podle nároku 49, kde autoimunitním onemocněním je systémový lupus erythematosus, osteoporóza, skleróza multiplex, myasthenia gravis, Graveova choroba, revmatoidní artritida nebo osteoartritida.

51. Použití hemihydrátu 16α -brom- 3β -hydroxy- 5α -androstan-17-onu pro přípravu léčiva k modulaci vrozené imunity subjektu nebo podpoře Th1 imunitní odpovědi subjektu..

52. Použití podle nároku 46, kde subjekt trpí stavem suprese vrozené imunity nebo potlačené Th1 imunitní odpovědi.

53. Použití hemihydrátu 16α -brom- 3β -hydroxy- 5α -androstan-17-onu pro přípravu léčiva ke zvýšení počtu neutrofilů, dendritických buněk, monocytů, makrofágů nebo NK buněk v krvi subjektu.

54. Použití podle nároku 53, kde subjekt trpí stavem suprese vrozené imunity nebo potlačené Th1 imunitní odpovědi.

55. Použití podle nároku 54, kde stav suprese vrozené imunity nebo potlačené Th1 imunitní odpovědi je spojen s virovou infekcí, intracelulární bakteriální infekcí, extracelulární bakteriální infekcí, fungální infekcí, kvasinkovou infekcí, extracelulární parazitární infekcí, intracelulární parazitární infekcí, infekcí protozoálními parazity, infekcí vícebuněčnými parazity, autoimunitním onemocněním, nádorem, prekancerózním stavem, chemoterapií, radiační terapií, imunosupresivní terapií, terapií protiinfekčními prostředky, poraněním, popálením, přítomností imunosupresivní molekuly nebo jakoukoli kombinací výše uvedených.

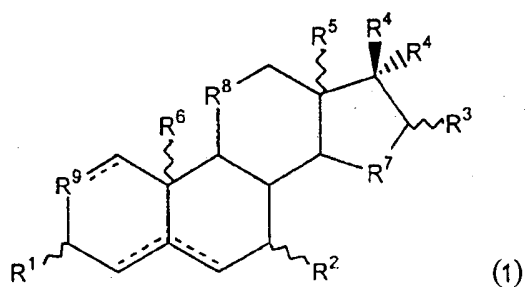
56. Použití podle nároku 55, kde subjekt trpí nebo podléhá stavu suprese vrozené imunity nebo potlačení Th1 imunitní odpovědi, který souvisí s chemoterapií, radiační terapií, imunosupresivní terapií nebo terapií protiinfekčním prostředkem..

57. Použití podle nároku 56, kde stav suprese vrozené imunity nebo potlačené Th1 imunitní odpovědi souvisí s chemoterapií, radiační terapií nebo imunosupresivní

terapií, kde tato terapie je popřípadě vybrána ze skupiny zahrnující léčbu adriamycinem, léčbu cisplatinou, léčbu mitomycinem C, léčbu amfotericinem B, γ -radiační terapii, léčbu analogy nukleosidů při virální infekci nebo rakovině, léčbu cyklosporiny a léčbu kortikosteroidy.

58. Použití podle nároku 53, 54 nebo 55, kde dendritické buňky jsou $\text{Lin}^- \text{HLA-DR}^+ \text{CD123}^+$ dendritické buňky nebo $\text{Lin}^- \text{HLA-DR}^+ \text{CD11c}^+$ dendritické buňky.

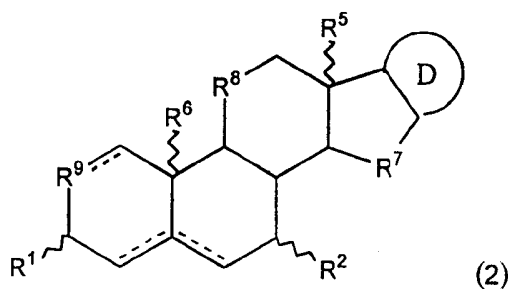
59. Použití sloučeniny vzorce 1 pro přípravu léčiva k léčení subjektu trpícího nebo náchylného ke stavu imunosuprese nebo nežádoucí imunitní odpovědi, z nichž kterýkoli nebo oba jsou spojeny s (1) patogenní infekcí vybranou ze skupiny, kterou tvoří virová infekce, intracelulární bakteriální infekce, extracelulární bakteriální infekce, fungální infekce, kvasinková infekce, extracelulární parazitární infekce, intracelulární parazitární infekce, infekce protozoálními parazity nebo infekce vícebuněčnými parazity, (2) autoimunitním onemocněním, (3) malignitou nebo prekancerózním stavem, (4) chemoterapií, radiační terapií, imunosupresivní terapií, terapií protiinfekčními prostředky, poraněním, popálením, přítomností imunosupresivní molekuly, gastrointestinálním podrážděním nebo zánětem nebo (5) jakoukoli kombinací výše uvedených, kde vzorec 1 má strukturu



kde substituenty R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 a R^{10} jsou nezávisle atom vodíku, $-\text{OR}^{\text{PR}}$, $-\text{SR}^{\text{PR}}$, $-\text{N}(\text{R}^{\text{PR}})_2$, $-\text{O-Si}(\text{R}^{13})_3$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, ester, thioester, fosfoester, fosfothioester, fosfonoester, fosfiniester, sulfitester, sulfátester, amid, aminokyselina, peptid, ether, thioether, acylová skupina, thioacylová skupina, karbonát, karbamát, thioacetal, halogen, případně substituovaná alkylová skupina, případně substituovaná alkenylová skupina, případně substituovaná alkynylová skupina, případně substituovaná arylová část, případně

substituovaná heteroarylová část, případně substituovaný monosacharid, případně substituovaný oligosacharid, nukleosid, nukleotid, oligonukleotid, polymer nebo

jeden, dva nebo více substituentů R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} a R^{18} jsou $=O$ nebo $=S$ a atom vodíku, který je připojen na stejný atom uhlíku není přítomen, nebo substituenty R^3 a R^4 společně vytvářejí strukturu vzorce 2



kde substituent R^7 je $-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{CHR}^{10}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{CHR}^{10}-\text{CHR}^{10}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{CHR}^{10}-\text{O}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{CHR}^{10}-\text{S}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{CHR}^{10}-\text{NR}^{\text{PR}}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{NR}^{\text{PR}}-$ nebo $-\text{NR}^{\text{PR}}-\text{CHR}^{10}-$;

substituenty R^8 a R^9 jsou nezávisle $-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{CHR}^{10}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{NR}^{\text{PR}}-$ nebo $-\text{NR}^{\text{PR}}-\text{CHR}^{10}-$ nebo substituenty R^8 nebo R^9 jsou nezávisle nepřítomny za vzniku 5-ti členného kruhu;

substituent R^{13} je nezávisle C_{1-6} alkylová skupina;

substituent R^{16} je nezávisle $-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ nebo $-\text{NH}-$;

D je heterocyklická skupina nebo 4-, 5-, 6- nebo 7-členný kruh, který obsahuje nasycené atomy uhlíku, kde 1, 2 nebo 3 atomy uhlíku 4-, 5-, 6- nebo 7-členného kruhu jsou případně nezávisle substituovány $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ nebo $-\text{NR}^{\text{PR}}-$ nebo kde 1, 2 nebo 3 atomy vodíku heterocyklické skupiny, nebo kde 1 nebo 2 atomy vodíku 4-, 5-, 6- nebo 7-členného kruhu jsou substituovány $-\text{OR}^{\text{PR}}$, $-\text{SR}^{\text{PR}}$, $-\text{N}(\text{R}^{\text{PR}})_2$, $-\text{O}-\text{Si}(\text{R}^{13})_3$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, esterem, thioesterem, fosfoesterem, fosfioesterem, fosfonoesterem, fosfiniesterem, sulfitesterem, sulfátesterem, amidem, aminokyselinou, peptidem, etherem, thioetherem, acylovou skupinou, thioacylovou skupinou, karbonátem, karbamátem, thioacetalem, halogenem, případně substituovanou alkylovou skupinou, případně substituovanou alkenylovou skupinou, případně substituovanou alkynylovou skupinou, případně substituovanou arylovou částí, případně substituovanou heteroarylovou částí, případně substituovaným monosacharidem, případně substituovaným oligosacharidem, nukleosidem, nukleotidem, oligonukleotidem, polymerem nebo

jeden nebo více atomů uhlíku v kruhu je substituovány =O nebo =S skupinou,
 nebo D obsahuje dva 5-ti členné nebo 6-ti členné kruhy, kde kruhy jsou kondenzovány nebo jsou spojeny 1 nebo 2 vazbami, a
 přičemž léčivo se subjektu podává s použitím intermitentního dávkovacího protokolu, který zahrnuje

- (a) podávání jedné nebo více sloučenin vzorce 1 subjektu alespoň jednou denně po dobu alespoň 2 dní;
- (b) nepodávání jedné nebo více sloučenin vzorce 1 subjektu po dobu alespoň 1 dne;
- (c) podávání jedné nebo více sloučenin vzorce 1 subjektu alespoň jednou denně po dobu alespoň 2 dní a
- (d) popřípadě opakování stupňů (a), (b) a (c) alespoň jednou nebo obměny stupňů (a), (b) a (c) alespoň jednou.

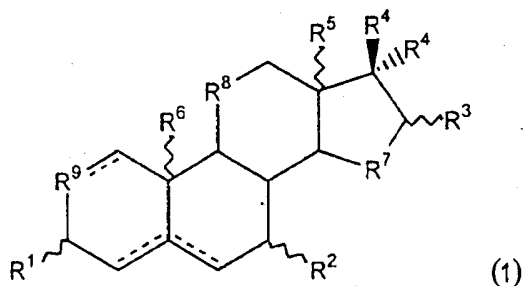
60. Použití podle nároku 59, kde se u subjektu zvyšují $\text{Lin}^- \text{HLA-DR}^+ \text{CD123}^+$ dendritické buňky, $\text{Lin}^- \text{HLA-DR}^+ \text{CD11c}^+$ dendritické buňky, $\text{CD8}^+ \text{CD16}^+ \text{CD38}^+$ lymfokinem aktivované zabíječské buňky, $\text{CD8}^- \text{CD16}^+ \text{CD38}^+$ lymfokinem aktivované zabíječské buňky, $\text{CD8}^- \text{CD16}^+$ přirozené zabíječské buňky, $\text{CD8}^+ \text{CD16}^+$ přirozené zabíječské buňky, $\text{CD8}^- \text{CD16}^+$ buňky zprostředkující buněčně zprostředkovanou cytotoxicitu závislou na protilátce, $\text{CD8}^+ \text{CD16}^+$ buňky zprostředkující buněčně zprostředkovanou cytotoxicitu závislou na protilátce u subjektu, CD45RA^+ T- buňky nebo $\text{CD45}^+ \text{R0}^+$ T- buňky.

61. Použití podle nároku 59 nebo 60, kde sloučeninou vzorce 1 je sloučenina ze skupiny 1 až sloučenina ze skupiny 42-25-10-6.

62. Použití podle nároku 61, kde sloučeninou vzorce 1 je 16α -brom- 3β -hydroxy- 5α -androstan-17-on, 16α -brom- $3\beta,7\beta$ -dihydroxy- 5α -androstan-17-on, 16α -brom- $3\beta,7\beta,17\beta$ -trihydroxy- 5α -androsten, 16α -brom- $3\beta,7\beta,17\alpha$ -dihydroxy- 5α -androsten, 16α -brom- $3\beta,7\alpha$ -dihydroxy- 5α -androstan-17-on, 16α -brom- $3\beta,7\alpha,17\beta$ -trihydroxy- 5α -androsten, 16α -brom- $3\beta,7\alpha,17\alpha$ -trihydroxy- 5α -androsten, 16α -brom- $3\beta,7\beta$ -dihydroxy- 5α -androstan, 16α -brom- $3\beta,7\beta$ -dihydroxy- 5α -androsten, 16α -brom- $3\beta,7\beta,17\beta$ -trihydroxy- 5α -androstan, 16β -brom- $3\beta,17\beta$ -dihydroxy- 5α -androstan, 16β -brom- $3\beta,17\beta$ -dihydroxy- 5α -androsten,

16 β -brom-3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5 α -androstan, 16 β -brom-3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-on, 16 β -brom-3 β -hydroxy-5 α -androsten-17-on, 16 β -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androstan-17-on, 16 β -brom-3 β ,7 β -dihydroxy-5 α -androsten-17-on, 3 β ,7 α -dihydroxyepiandrosteron, 3 β ,7 β -dihydroxyepiandrosteron, 3 β -hydroxy-7-oxoepiandrosteron, 3 β ,7 β ,17 β -trihydroxy-5-androsten, 3 β ,7 α ,17 β -trihydroxy-5-androsten, 3 β ,7 β ,17 α -trihydroxy-5-androsten, 3 β ,17 β -dihydroxy-5-androsten, 3 β ,17 α -dihydroxy-5-androsten, 16 α -fluorandrost-5-en-17-on, 16 α -chlorandrost-5-en-17-on, 16 α -bromandrost-5-en-17-on, 16 α -fluor-5 α -androstan-17-on, 16 α -chlor-5 α -androstan-17-on, 16 α -fluor-5 β -androstan-17-on, 16 α -chlor-5 β -androstan-17-on, 16 α -brom-5 β -androstan-17-on nebo 16 α -brom-5 α -androstan-17-on.

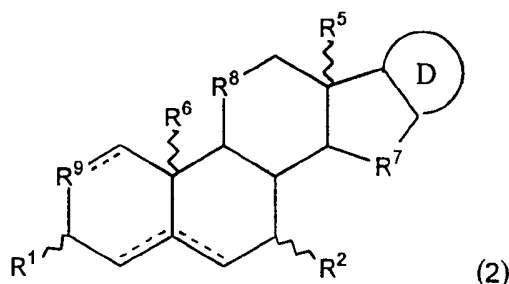
63. Použití sloučeniny vzorce 1 pro přípravu léčiva k léčení subjektu trpícího nebo náchylného ke stavu imunosuprese nebo nežádoucí imunitní odpovědi za účelem zvýšení vrozené imunity, specifické imunity nebo obou u subjektu, kde léčivo se podává subjektu s použitím intermitentního dávkovacího protokolu a vzorec 1 má strukturu



kde substituenty R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 a R^{10} jsou nezávisle atom vodíku, $-OR^{PR}$, $-SR^{PR}$, $-N(R^{PR})_2$, $-O-Si-(R^{13})_3$, $-CN$, $-NO_2$, ester, thioester, fosfoester, fosfthioester, fosfonoester, fosfiniester, sulfitester, sulfátester, amid, aminokyselina, peptid, ether, thioether, acylová skupina, thioacylová skupina, karbonát, karbamát, thioacetal, halogen, případně substituovaná alkylová skupina, případně substituovaná alkenylová skupina, případně substituovaná alkynylová skupina, případně substituovaná arylová část, případně substituovaná heteroarylová část, případně substituovaný monosacharid, případně substituovaný oligosacharid, nukleosid, nukleotid, oligonukleotid, polymer nebo

jeden, dva nebo více substituentů R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^{10} , R^{15} , R^{17} a R^{18} jsou $=O$ nebo $=S$ a atom vodíku, který je připojen na stejný atom uhlíku není přítomen, nebo

substituenty R^3 a R^4 společně vytvářejí strukturu vzorce 2



substituent R^7 je $-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{CHR}^{10}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{CHR}^{10}-\text{CHR}^{10}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{CHR}^{10}-\text{O}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{CHR}^{10}-\text{S}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{CHR}^{10}-\text{NR}^{\text{PR}}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{NR}^{\text{PR}}$ - nebo $-\text{NR}^{\text{PR}}-\text{CHR}^{10}$;

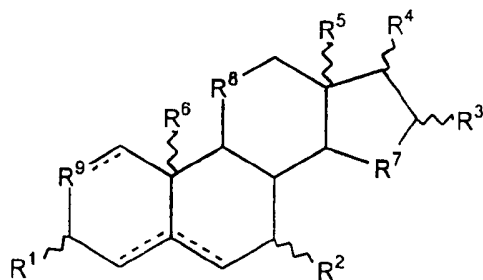
substituenty R^8 a R^9 jsou nezávisle $-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{CHR}^{10}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CHR}^{10}$ -, $-\text{NR}^{\text{PR}}$ - nebo $-\text{NR}^{\text{PR}}-\text{CHR}^{10}$ - nebo substituenty R^8 nebo R^9 jsou nezávisle nepřítomny za vzniku 5-ti členného kruhu;

substituent R^{13} je nezávisle C_{1-6} alkylová skupina;

substituent R^{16} je nezávisle $-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ nebo $-\text{NH}-$;

D je heterocyklická skupina nebo 4-, 5-, 6- nebo 7-členný kruh, který obsahuje nasycené atomy uhlíku, kde 1, 2 nebo 3 atomy uhlíku 4-, 5-, 6- nebo 7-členného kruhu jsou případně nezávisle substituovány $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ nebo $-\text{NR}^{\text{PR}}$ - nebo kde 1, 2 nebo 3 atomy vodíku heterocyklické skupiny, nebo kde 1 nebo 2 atomy vodíku 4-, 5-, 6- nebo 7-členného kruhu jsou substituovány $-\text{OR}^{\text{PR}}$, $-\text{SR}^{\text{PR}}$, $-\text{N}(\text{R}^{\text{PR}})_2$, $-\text{O}-\text{Si}(\text{R}^{13})_3$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, esterem, thioesterem, fosfoesterem, fosfioesterem, fosfonoesterem, fosfiniesterem, sulfitesterem, sulfátesterem, amidem, aminokyselinou, peptidem, etherem, thioetherem, acylovou skupinou, thioacylovou skupinou, karbonátem, karbamátem, thioacetalem, halogenem, případně substituovanou alkylovou skupinou, případně substituovanou alkenylovou skupinou, případně substituovanou alkynylovou skupinou, případně substituovanou arylovou částí, případně substituovanou heteroarylovou částí, případně substituovaným monosacharidem, případně substituovaným oligosacharidem, nukleosidem, nukleotidem, oligonukleotidem, polymerem nebo

jeden nebo více atomů uhlíku v kruhu je substituován $=\text{O}$ nebo $=\text{S}$ skupinou, nebo D obsahuje dva 5-ti členné nebo 6-ti členné kruhy, kde kruhy jsou kondenzovány nebo jsou spojeny 1 nebo 2 vazbami.



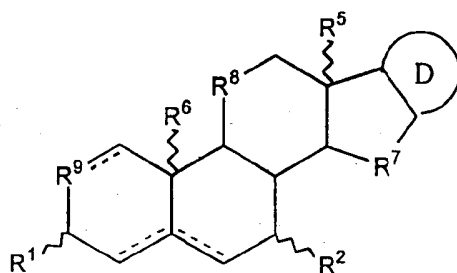
(1)

kde

substituenty R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 a R^{10} jsou nezávisle atom vodíku, $-OR^{PR}$, $-SR^{PR}$, $-N(R^{PR})_2$, $-O-Si-(R^{13})_3$, $-CN$, $-NO_2$, ester, thioester, fosfoester, fosfothioester, fosfonoester, fosfiniester, sulfitester, sulfátester, amid, aminokyselina, peptid, ether, thioether, acylová skupina, thioacylová skupina, karbonát, karbamát, thioacetal, halogen, případně substituovaná alkylová skupina, případně substituovaná alkenylová skupina, případně substituovaná alkynylová skupina, případně substituovaná arylová část, případně substituovaná heteroarylová část, případně substituovaný monosacharid, případně substituovaný oligosacharid, nukleosid, nukleotid, oligonukleotid, polymer nebo

jeden, dva nebo více substituentů R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 a R^{10} jsou nezávisle $=O$ nebo $=S$ a atom vodíku, který je připojen na stejný atom uhlíku, není přítomen, nebo

substituenty R^3 a R^4 společně vytvářejí strukturu vzorce 2



(2)

substituent R^7 je $-CHR^{10}-$, $-CHR^{10}-CHR^{10}-$, $-CHR^{10}-CHR^{10}-CHR^{10}-$, $-CHR^{10}-O-CHR^{10}-$, $-CHR^{10}-S-CHR^{10}-$, $-CHR^{10}-NR^{PR}-CHR^{10}-$, $-O-$, $-O-CHR^{10}-$, $-S-$, $-S-CHR^{10}-$, $-NR^{PR}-$ nebo $-NR^{PR}-CHR^{10}-$;

substituenty R^8 a R^9 jsou nezávisle $-CHR^{10}-$, $-CHR^{10}-CHR^{10}-$, $-O-$, $-O-CHR^{10}-$, $-S-$, $-S-CHR^{10}-$, $-NR^{PR}-$ nebo $-NR^{PR}-CHR^{10}-$ nebo substituenty R^8 nebo R^9 jsou nezávisle nepřítomny za vzniku 5-ti členného kruhu;

substituent R^{13} je nezávisle C_{1-6} alkylová skupina;

D je heterocyklická skupina nebo 4-, 5-, 6- nebo 7-členný kruh, který obsahuje nasycené atomy uhlíku, kde 1, 2 nebo 3 atomy uhlíku 4-, 5-, 6- nebo 7-členného kruhu jsou případně nezávisle substituovány -O-, -S- nebo -NR^{PR}- nebo kde 1, 2 nebo 3 atomy vodíku heterocyklické skupiny, nebo kde 1 nebo 2 atomy vodíku 4-, 5-, 6- nebo 7-členného kruhu jsou substituovány -OR^{PR}-, -SR^{PR}-, -N(R^{PR})₂-, -O-Si-(R¹³)₃-, -CN-, -NO₂, esterem, thioesterem, fosfoesterem, fosfioesterem, fosfonoesterem, fosfiniesterem, sulfitesterem, sulfátesterem, amidem, aminokyselinou, peptidem, etherem, thioetherem, acylovou skupinou, thioacylovou skupinou, karbonátem, karbamátem, thioacetalem, halogenem, případně substituovanou alkylovou skupinou, případně substituovanou alkenylovou skupinou, případně substituovanou alkynylovou skupinou, případně substituovanou arylovou částí, případně substituovanou heteroarylovou částí, případně substituovaným monosacharidem, případně substituovaným oligosacharidem, nukleosidem, nukleotidem, oligonukleotidem, polymerem nebo

jeden nebo více atomů uhlíku kruhu je substituovány =O nebo =S skupinou,

nebo D obsahuje dva 5-ti členné nebo 6-ti členné kruhy, kde kruhy jsou kondenzovány nebo jsou spojeny 1 nebo 2 vazbami,

kde jeden, dva nebo tři substituenty R⁷, R⁸ a R⁹ jsou -O-, -S-, -NH-, -O-CHR¹⁰-, -S-CHR¹⁰- nebo -NR^{PR}-CHR¹⁰-.

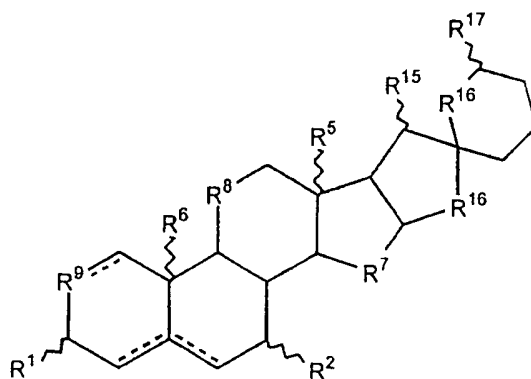
65. Sloučenina podle nároku 64, kde jeden nebo substituenty R⁵ a R⁶ jsou nezávisle -H, -CH₃, -CH₂OR^{PR}, -CH₂SR^{PR}, -CH₂O-C(O)-C₁₋₁₀ alkyl, -CH₂S-C(O)C₁₋₁₀ alkyl, -CH₂-C(O)-C₁₋₁₀ alkenyl, -CH₂S-C(O)-C₁₋₁₀ alkenyl, -CH₂O-C(O)-C₀₋₄ alkyl-heterocyklus, -CH₂S-C(O)-C₀₋₄ alkyl-heterocyklus, -CH₂O-C(O)C₀₋₄ alkyl-fenyl, -CH₂S-C(O)C₀₋₄ alkyl-fenyl, kde každá C₁₋₁₀ alkylová, heterocyklická nebo fenylová skupina je popřípadě substituována jedním nebo více substituenty.

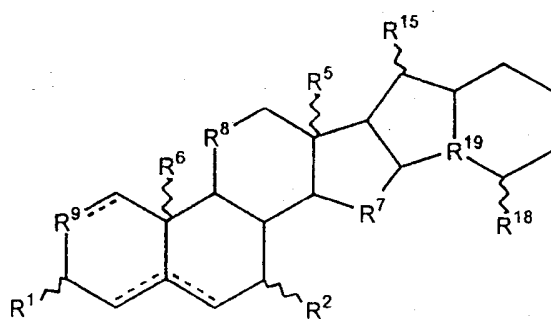
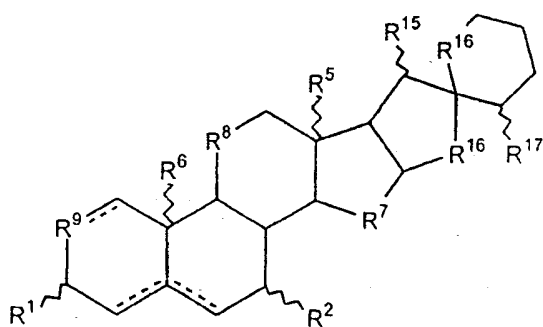
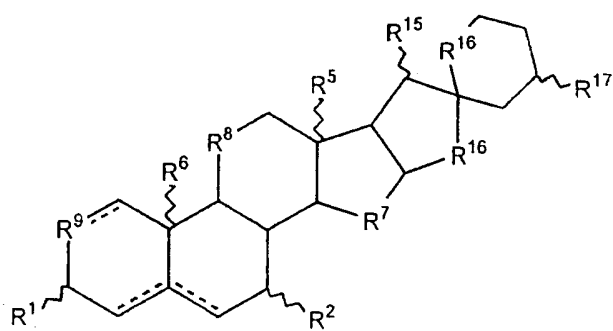
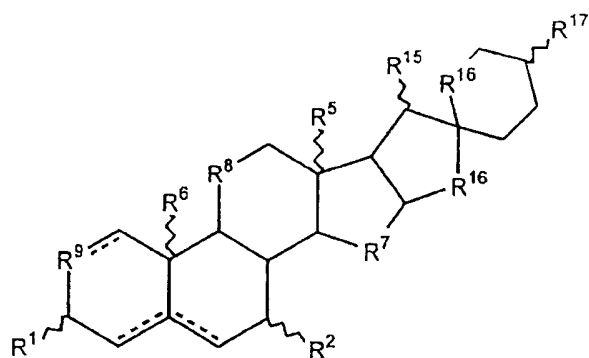
66. Sloučenina podle nároku 65, kde jedním nebo více substituenty jsou jeden, dva, tři nebo více substituentů, nezávisle vybraných ze skupiny zahrnující -O-, =O, -OR^{PR}-, -S-, =S, -SR^{PR}-, -NH-, -N(R^{PR})₂-, kde každý R^{PR} je nezávisle -H nebo chránicí skupina.

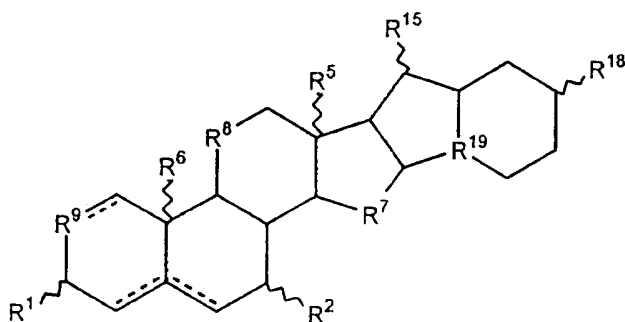
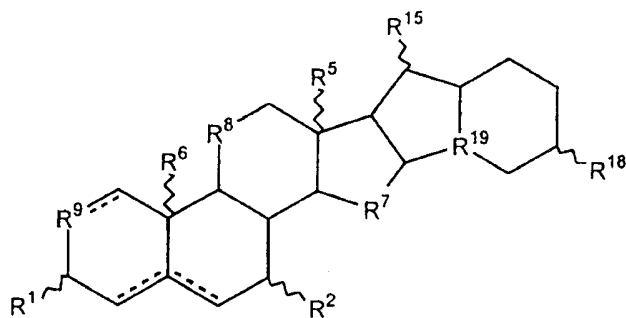
67. Sloučenina podle nároku 66, kde R¹ a R⁴ jsou nezávisle -OH, -O-alkyl, -O-C(O)-alkyl, =O, -SH, -S-alkyl, -S-C(O)-alkyl nebo =S a R² a R³ jsou nezávisle -H, -OH, -O-alkyl, -O-C(O)-alkyl, =O, -SH, -S-alkyl, -S-C(O)-alkyl nebo =S.

68. Sloučenina podle nároku 65, kde dva ze substituentů R^7 , R^8 a R^9 jsou nezávisle -O-, -S- nebo -NH-.

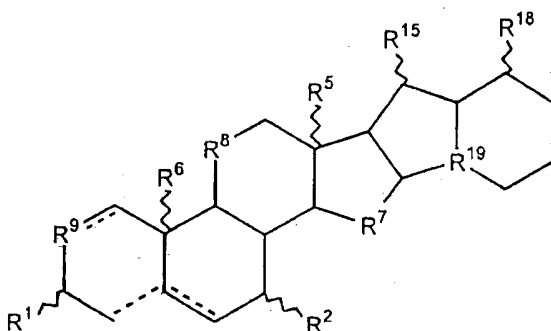
69. Sloučenina vzorce 2







nebo



kde

substituenty R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 a R^{10} jsou nezávisle atom vodíku, $-OR^{PR}$, $-SR^{PR}$, $-N(R^{PR})_2$, $-O-Si-(R^{13})_3$, $-CN$, $-NO_2$, ester, thioester, fosfoester, fosfothioester, fosfonoester, fosfiniester, sulfitester, sulfátester, amid, aminokyselina, peptid, ether, thioether, acylová skupina, thioacylová skupina, karbonát, karbamát, thioacetal, halogen, případně substituovaná alkylová skupina, případně substituovaná alkenylová skupina, případně substituovaná alkynylová skupina, případně substituovaná arylová část, případně substituovaná heteroarylová část, případně substituovaný monosacharid, případně substituovaný oligosacharid, nukleosid, nukleotid, oligonukleotid, polymer nebo

jeden, dva nebo více substituentů R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 a R^{10} jsou nezávisle $=O$ nebo $=S$ a atom vodíku, který je připojen na stejný atom uhlíku, není přítomen, nebo

substituent R^7 je $-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{CHR}^{10}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{CHR}^{10}-\text{CHR}^{10}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{CHR}^{10}-\text{O}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{CHR}^{10}-\text{S}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{CHR}^{10}-\text{NR}^{\text{PR}}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{NR}^{\text{PR}}-$ nebo $-\text{NR}^{\text{PR}}-\text{CHR}^{10}-$;

substituenty R^8 a R^9 jsou nezávisle $-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{CHR}^{10}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{NR}^{\text{PR}}-$ nebo $-\text{NR}^{\text{PR}}-\text{CHR}^{10}-$ nebo substituenty R^8 nebo R^9 jsou nezávisle nepřítomny za vzniku 5-ti členného kruhu;

substituent R^{16} je nezávisle $-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ nebo $-\text{NH}-$;

substituenty R^{15} , R^{17} a R^{18} jsou nezávisle atom vodíku, $-\text{OR}^{\text{PR}}$, $-\text{SR}^{\text{PR}}$, $-\text{N}(\text{R}^{\text{PR}})_2$, $-\text{O}-\text{Si}(\text{R}^{13})_3$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, ester, thioester, fosfoester, fosfioester, fosfonoester, fosfiniester, sulfitester, sulfátester, amid, aminokyselina, peptid, ether, thioether, acylová skupina, thioacylová skupina, karbonát, karbamát, thioacetal, halogen, případně substituovaná alkylová skupina, případně substituovaná alkenylová skupina, případně substituovaná alkynylová skupina, případně substituovaná arylová část, případně substituovaná heteroarylová část, případně substituovaný monosacharid, případně substituovaný oligosacharid, nukleosid, nukleotid, oligonukleotid, polymer nebo

jeden nebo více substituentů R^{15} , R^{17} a R^{18} je nezávisle $=\text{O}$ nebo $=\text{S}$ a atom vodíku, který je připojen na stejný atom uhlíku, není přítomen nebo

substituent R^{19} je dusík nebo CH ,

kde jeden, dva nebo tři ze substituentů R^7 , R^8 a R^9 jsou nezávisle $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{O}-\text{CHR}^{10}-$, $-\text{S}-\text{CHR}^{10}-$ nebo $-\text{NH}-\text{CHR}^{10}-$, nebo

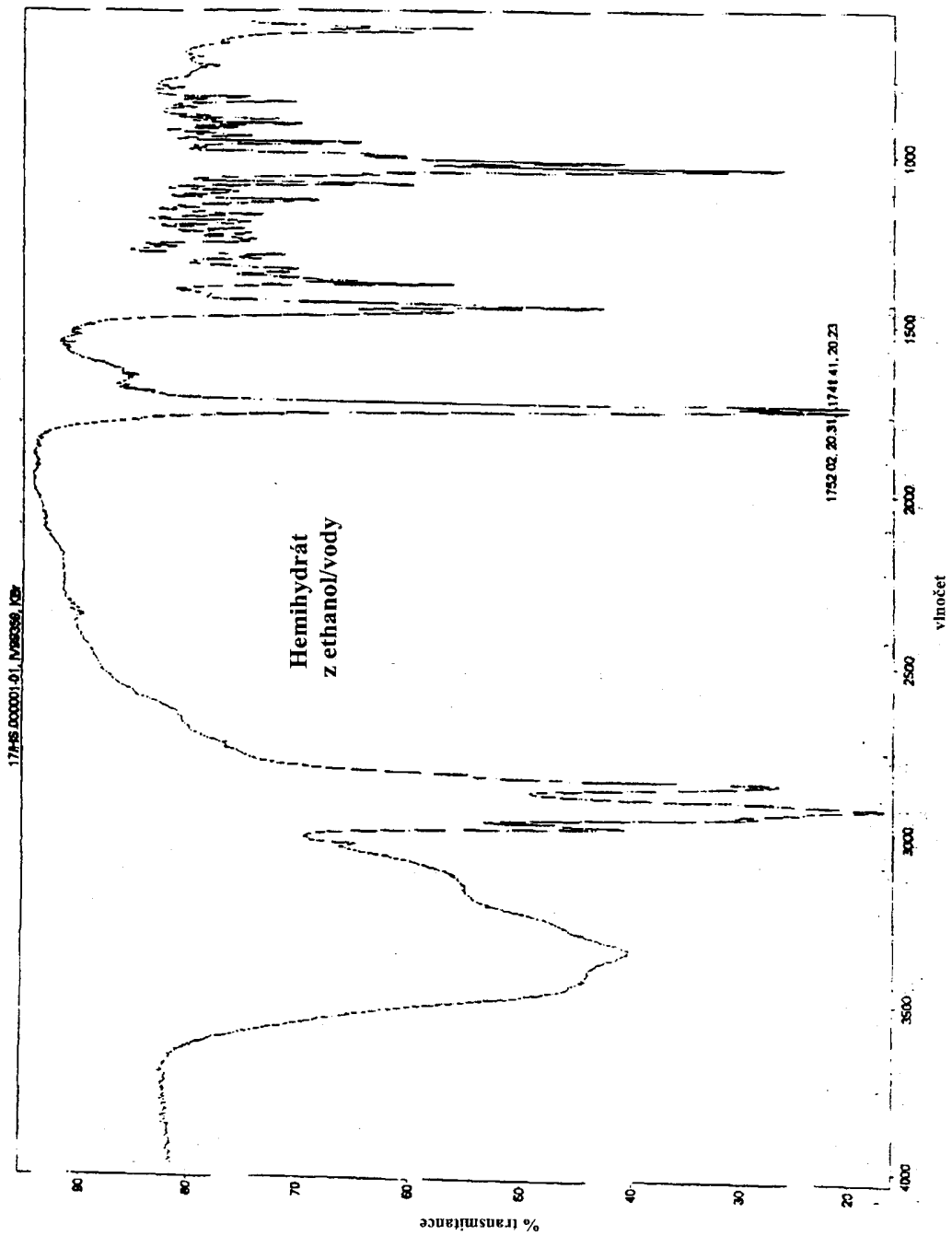
kde jeden, dva nebo tři ze substituentů R^7 , R^8 a R^9 jsou nezávisle $-\text{O}-\text{CHR}^{10}-$, kde každé R^{10} je nezávisle $-\text{OH}$, $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{I}$ nebo ester.

70. Produkt, získaný způsobem kontaktování sloučeniny podle nároku 64 a jednoho nebo více excipiencí vhodných pro humánní farmaceutické použití nebo pro veterinární použití.

71. Produkt podle nároku 70 kde produkt je ve formě jednotkové dávkové formulace, která zahrnuje asi 5 mg až asi 1000 mg jedné sloučeniny vzorce 1.

71 2001-3420
03.12.01

1 / 6

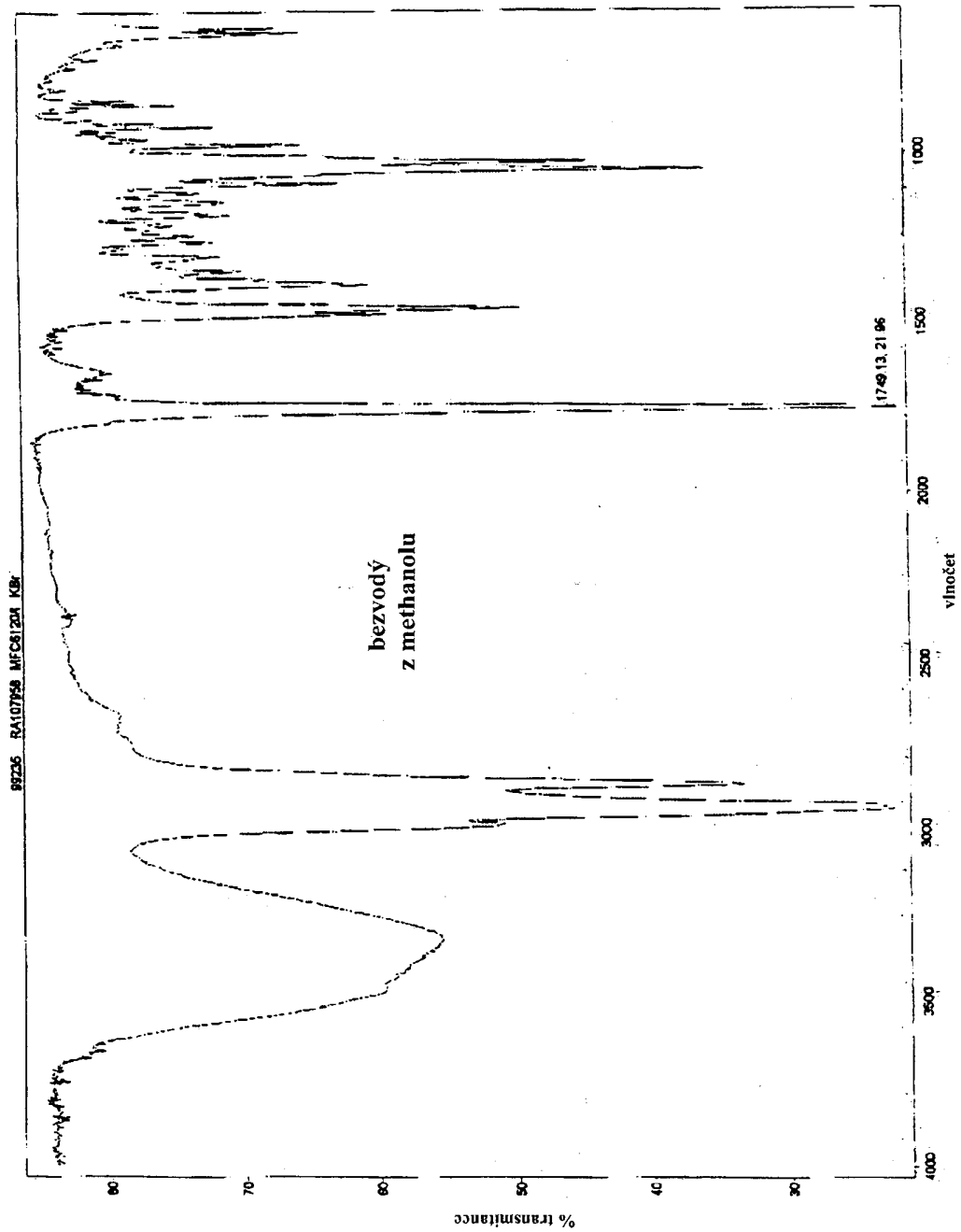


Obrázek 1

6.12.2001 beunas

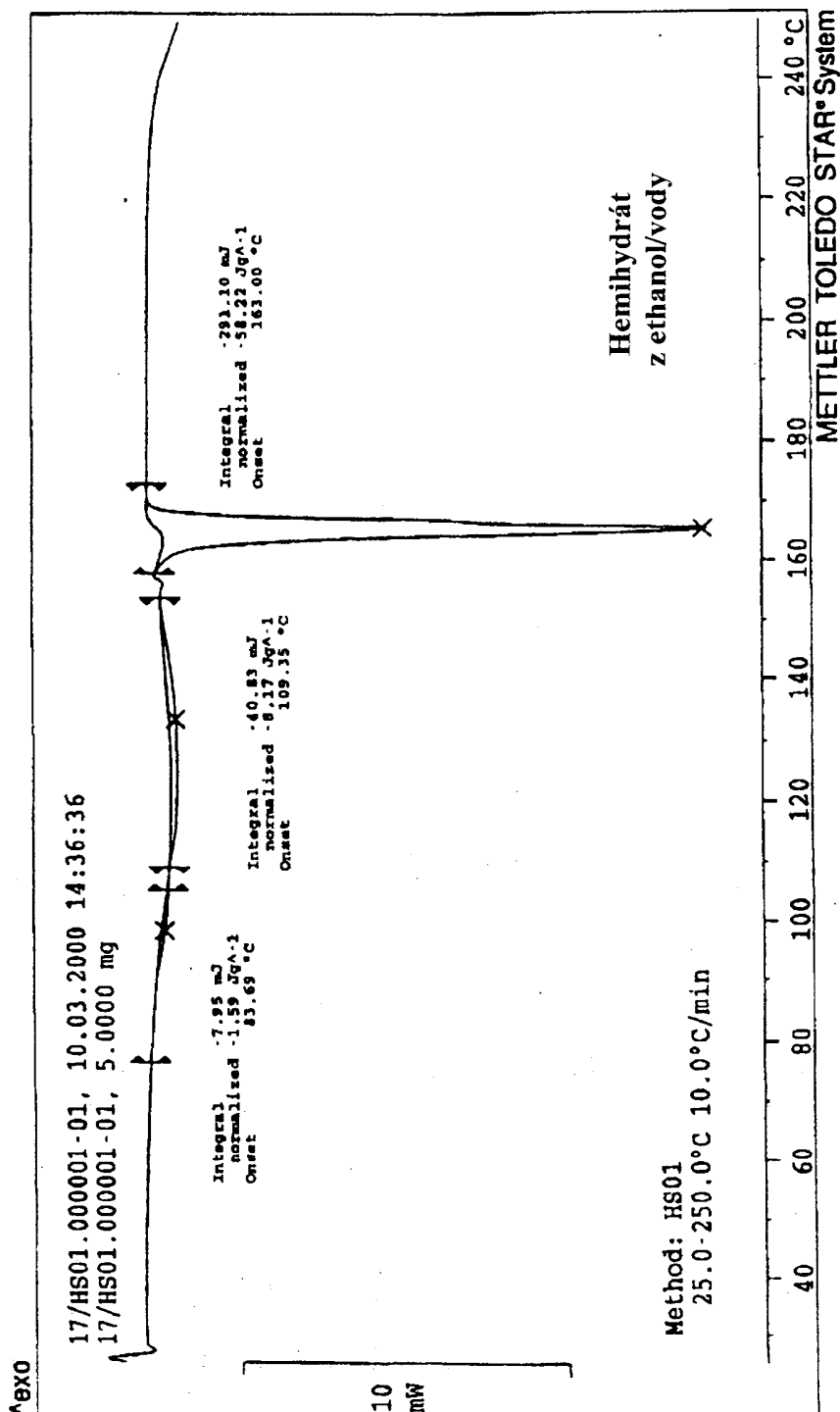
7V 2001-3420
03.12.01

2 / 6



Obrázek 2

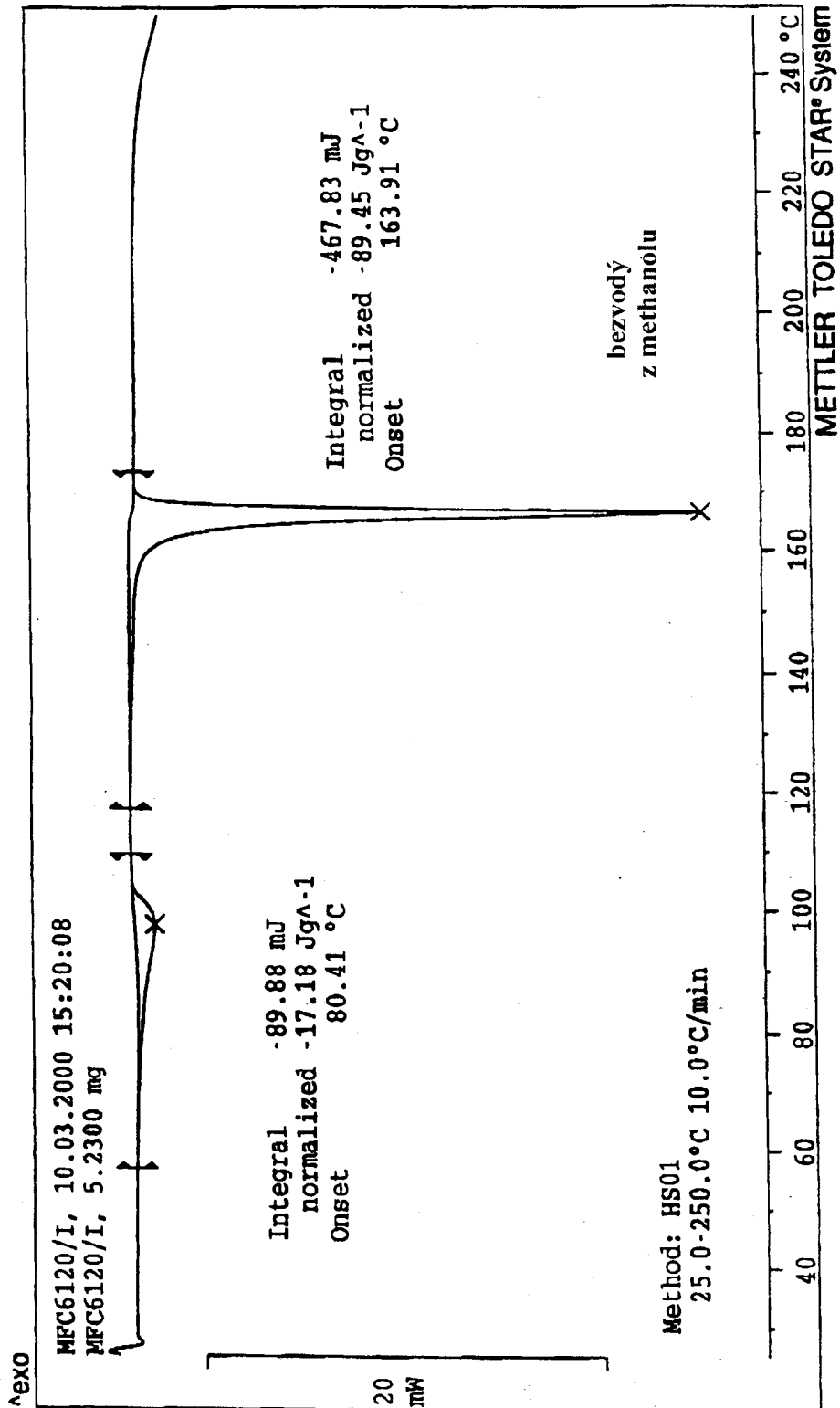
6.12.2001 *[signature]*



Obrázek 3

03.12.01

4 / 6

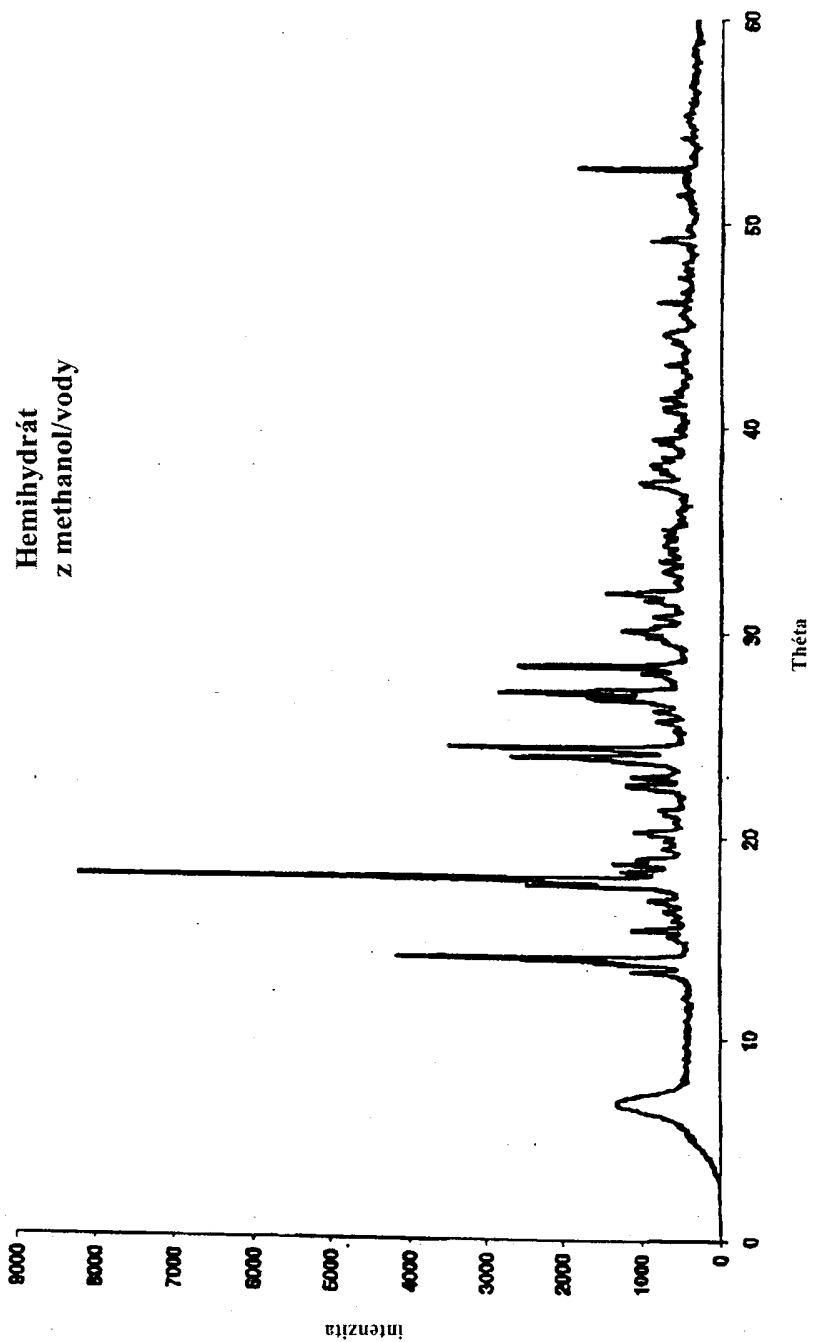


Obrázek 4

6.12.2001

03.12.01

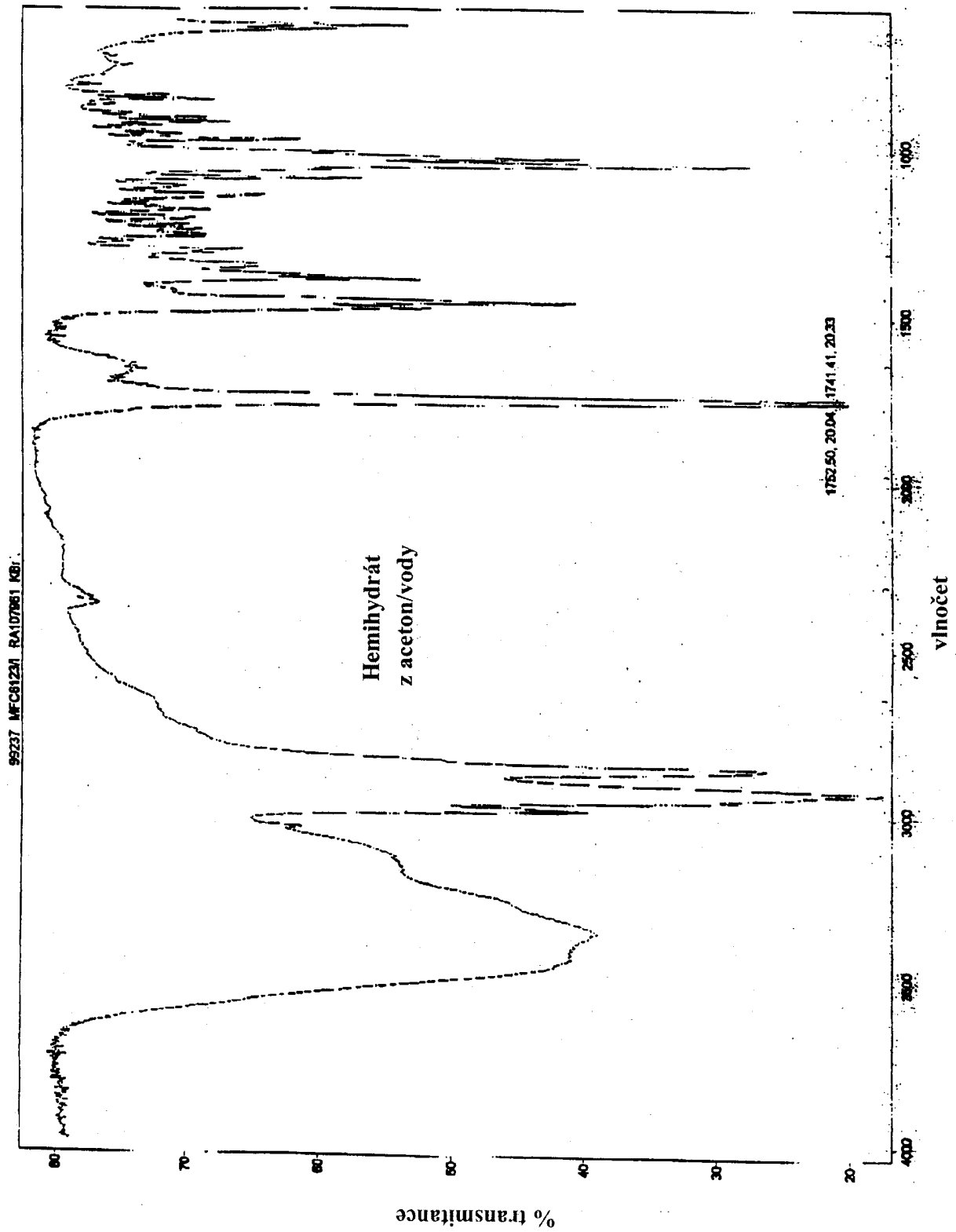
5 / 6



Obrázek 5

7V 2001-2420
03.10.01

6 / 6



Obrázek 6

6.12.2007 *kauc*