



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2432798 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.
C07J 31/00 (2006.01)
A61K 31/567 (2006.01)
A61P 5/36 (2006.01)
C07J 41/00 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2013.08.12
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2013.04.03
(86)	Europeisk søknadsnr	10735198.3
(86)	Europeisk innleveringsdag	2010.07.07
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2012.03.28
(30)	Prioritet	2009.07.20, DE, 102009034362
(84)	Utpekte stater	AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO SE SI SK SM TR
(73)	Utpekte samarbeidende stater Innehaver	BA ME RS Bayer Intellectual Property GmbH, Alfred-Nobel-Strasse 10, 40789 Monheim, Tyskland
(72)	Oppfinner	SCHWEDE, Wolfgang, Magdeburger Str. 41a, 16548 Glienicke, Tyskland KLAR, Ulrich, Isegrimsteig 8, 13503 Berlin, Tyskland MÖLLER, Carsten, Pflugstr. 9a, 10115 Berlin, Tyskland ROTGERI, Andrea, Damwildsteig 21, 13503 Berlin, Tyskland BONE, Wilhelm, Drewitzer Str. 46, 13467 Berlin, Tyskland
(74)	Fullmektig	Tandbergs Patentkontor AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	17-hydroksy-17-pentafluoretyl-estra-4,9(10)-dien-11-aryl-derivat, fremgangsmåte for fremstilling derav og dets anvendelse for behandling av sykdommer
(56)	Anførte publikasjoner	US-A- 4 609 651 US-A- 4 900 725 US-A- 5 712 264 US-A1- 2002 143 000 WO-A1-98/34947

Beskrivelse

Oppfinnelsen omhandler 17-hydroksy-17-pentafluoretyl-estra-4,9(10)-dien-11-aryl-derivatet med formel A med progesteronantagoniserende virkning og fremgangsmåte for fremstilling derav, dets anvendelse for behandlingen og/eller profylaksen av sykdommer samt dets anvendelse for fremstillingen av legemidler for behandlingen og/eller profylaksen av sykdommer, særlig uterusfibromer (myomer, uterine leiomyomer), endometriose, kraftige menstruasjonsblødninger, meningiomer, hormonavhengige mammakarsinomer og plager forbundet med menopausen eller for fertilitetskontroll og nødprevensjon.

Denne forbindelsen er et verdifullt farmasøytisk virkestoff. Den kan blant annet bli anvendt for fremstillingen av farmasøytiske preparater for behandlingen av uterusfibromer eller endometriose, kraftige menstruasjonsblødninger, meningiomer, hormonavhengige mammakarsinomer og plager forbundet med menopausen eller for fertilitetskontroll og nødprevensjon. For behandlingen av uterusfibromer og endometriose kan forbindelsen ifølge oppfinnelsen også bli administrert sekvensielt i kombinasjon med gestagener. I et slik behandlingsregime kunne forbindelsen ifølge oppfinnelsen bli gitt over et tidsrom på 1 - 6 måneder, fulgt av en behandlingspause eller en sekvensiell behandling med et gestagen over et tidsrom på 2 - 6 uker eller fulgt av behandlingen med et oralt prevensjonsmiddel (OC-kombinasjoner) over det samme tidsrommet.

Virksomheten for forbindelsen ifølge oppfinnelsen som progesteronreseptorantagonist ble vist in vitro i transaktiveringstester og in vivo på rotten (terminering av tidlig svangerskap). Forbindelser med antagonistisk virkning på progesteronreseptoren (konkurrerende progesteronreseptorantagonister) er først kjent i 1982 (RU 486; EP57115) og har siden det blitt beskrevet tallrikt.

Progesteronreseptorantagonister med fluorert 17 α -sidekjede ble offentliggjort i WO 98/34947 og Fuhrmann et al., J. Med. Chem. 43, 5010 - 5016 (2000).

Forbindelsene med fluorert 17 α -sidekjede beskrevet i WO 98/34947 oppviser generelt en svært sterk antagonistisk aktivitet på progesteronreseptoren. Svært potente og derfor i WO 98/34947 foretrukne forbindelser er 11 β -(4-acetylfenyl)-20,20,21,21,21-pentafluor-17-hydroksy-19-nor-17 α -pregna-4,9-dien-3-on, 11 β -(4-acetylfenyl)-20,20,21,21,21-pentafluor-17-hydroksy-19-nor-17 α -pregna-4-en-3-on og 6'-acetyl-9,11 β -dihydro-17 β -hydroksy-17 α -(1,1,2,2,2-pentafluoretyl)-4'H-naft[3',2',1':10,9,11]ester-4-en-3-on. Disse forbindelsene blir in vivo i betydelig grad overført til forskjellige metabolitter, som delvis oppviser sterk, delvis mindre farmakologisk aktivitet. Metabolismen opptrer overveiende på 4-substituenten av 11-fenylresten. I WO 2008/058767 blir det beskrevet forbindelser, som i det minste delvis er metabolitter av forbindelsene beskrevet i WO 98/34947.

Oppgave ved foreliggende oppfinnelse er det å stille en høy-potent konkurrerende progesteronreseptorantagonist til disposisjon og dermed tilveiebringe alternative behandlingsmuligheter for gynekologiske lidelser.

Det ble funnet at forbindelsen A ifølge oppfinnelsen er særlig egnet for å løse denne oppgaven. Den viser en svært sterk antagonistisk aktivitet på progesteronreseptoren, dvs. den inhiberer virkningen av progesteronet på sin reseptor.

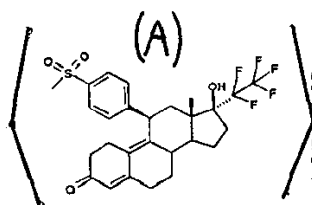
Videre ble det funnet at forbindelsen A sammenlignet f.eks. med alkanoylgruppene oppviser en vesentlig høyere metabolsk men også kjemisk stabilitet overfor temperatur, lys og oksidativt stress. Forbindelsen (11 β ,17 β)-17-hydroksy-11-[4-(metylsulfonyl)fenyl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on (eksempel 4) viser sammenlignet med den respektive analogen med en alkanoyl- eller hydroksyalkanoylgruppe (hhv. 11 β -(4-acetylphenyl)-20,20,21,21,21-pentafluor-17-hydroksy-19-nor-17a-pregna-4,9-dien-3-on eller 20,20,21,21,21-pentafluor-17-hydroksy-11 β -[4-(hydroksyacetyl)fenyl]-19-nor-17 β -pregna-4,9-dien-3-on) en overraskende høy stabilitet ved termisk belastning, under innvirkning av UV-lys og en overraskende liten oksidasjonsømfintlighet.

Overraskende er også at forbindelsene A, oppviser et lite inhiberingspotensiale når det gjelder de undersøkte CYP-isoenzymene CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2D6 og CYP3A4 og inntil en maksimal løselig eller anvendt konsentrasjon i analysen (minst 10 μ M, maksimalt 20 μ M) ble det ikke i noen undersøkte tilfeller oppnådd en 50 % inhibering.

Disse in vitro resultatene lar det, for den undersøkte substansen, antas en særlig lav risiko for vekselvirkninger med sam-administrerte legemidler når det gjelder CYP-inhibering.

Videre kunne det bli funnet en særlig gunstig sikkerhetsprofil for (11 β ,17 β)-17-hydroksy-11-[4-(metylsulfonyl)fenyl]-17-(pentafluoretyl)estra-0,9-dien-3-on i prekliniske undersøkelser på gnagere og ikke-gnagere (i akutte og kroniske forsøk).

Foreliggende oppfinnelse omhandler det ovennevnte 17-hydroksy-17-pentafluoretyl-estra-4,9(10)-dien-11-aryl-derivatet (dvs. forbindelse A) med den kjemiske formelen A.



"Forbindelse A" og "forbindelsen ifølge oppfinnelsen" inkluderer den ovennevnte forbindelsen og dens salter, solvater eller solvater av saltene, inklusive alle krystallmodifikasjonene.

Som salter er det innen rammen av foreliggende oppfinnelse foretrukket fysiologisk ubetenkelige salter av forbindelsene ifølge oppfinnelsen. Omfattet er imidlertid også salter, som selv ikke er egnet for farmasøytiske anvendelser men for

eksempel kan bli anvendt for isoleringen eller rensingen av forbindelsene ifølge oppfinnelsen.

Fysiologisk ubetenkelige salter av forbindelsen ifølge oppfinnelsen omfatter - når en basisk funksjon er inneholdt - salter med uorganiske eller organiske syrer, særlig av mineralsyrer, karbonsyrer og sulfonsyrer, f.eks. salter av saltsyre, hydrogenbromidsyre, 5 svovelsyre, fosforsyre, metansulfonsyre, etansulfonsyre, toluensulfonsyre, benzensulfonsyre, naftalendisulfonsyre, eddiksyre, trifluoreddiksyre, propionsyre, melkesyre, vinsyre, eplesyre, sitronsyre, fumarsyre, maleinsyre og benzosyre.

Fysiologisk ubetenkelige salter av forbindelsen ifølge oppfinnelsen omfatter - når 10 en sur funksjon er inneholdt - alkalimetallsalter, jordalkalimetallsalter eller ammoniumsalter, slik de kan bli oppnådd ved omsetning med tilsvarende uorganiske eller organiske baser. Eksempelvis og fortrinnsvis blir det nevnt alkalimetallsalter (f.eks. natrium- og kaliumsalter), jordalkalisalter (f.eks. kalsium- og magnesiumsalter) og ammoniumsalter, avledet fra ammoniakk eller organiske aminer med 1 til 16 C-atomer, så 15 som eksempelvis og fortrinnsvis etylamin, dietylamin, trietylamin, etyldiisopropylamin, monoetanolamin, dietanolamin, trietanolamin, dicykloheksylamin, dimetylaminoetanol, prokain, dibenzylamin, N-metylmorfolin, arginin, lysin, etylendiamin, N-metylpiperidin, N-metyl-glukamin, D-metyl-glukamin, etyl-glukamin, 1,6-heksadiamin, glukosamin, N-metylglycin, 2-amino-1,3-propandiol, tris-hydroksy-metyl-aminometan og 1-amino-2,3,4- 20 butantriol. Som solvater blir det innen rammen av oppfinnelsen betegnet slike former av forbindelsen ifølge oppfinnelsen, som i fast eller flytende tilstand viser en adduktdannelse med løsemiddelmolekyler. Løsemidlet kan derved foreligge i et støkiometrisk eller ustøkiometrisk forhold. Ved støkiometriske solvater snakker man også om hemi-, (semi-), mono-, seskvi-, di-, tri-, tetra-, penta-, osv. solvater. Hydrater er en spesiell form av 25 solvatene, hvor det skjer koordinasjon med vann.

Innen rammen av foreliggende beskrivelse har substituentene, så langt ikke noe annet er spesifisert, den følgende betydning:

Alkyl står for rett- eller forgrenet-kjedede alkylgrupper med 1-6 karbonatomer, så som eksempelvis metyl, etyl, propyl, isopropyl, n-butyl, sec.-butyl, isobutyl, tert.- 30 butyl, n-pentyl, isopentyl, neopentyl, heksyl, heptyl, oktyl, nonyl og dekyll.

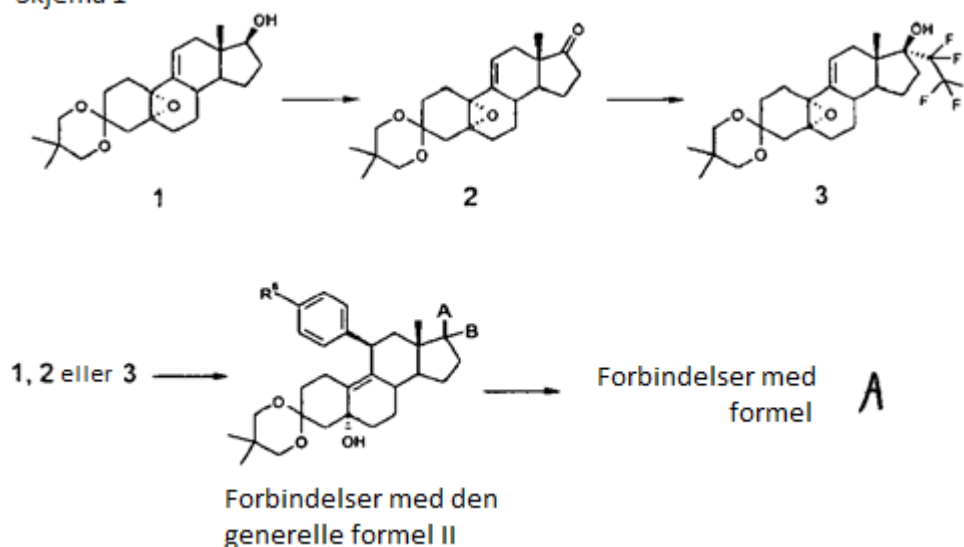
Aryl står for en mono- til tricyklisk aromatisk, substituert eller usubstituert karbocyklisk rest, så som for eksempel fenyl, naftyl, som kan være substituert én eller flere ganger med halogen (F, Cl, Br, I), OH, O-alkyl, CO₂H, CO₂-alkyl, NH₂, NH(C₁-C₁₀-alkyl), N(C₁-C₁₀-alkyl)₂, særlig N(CH₃)₂, NO₂, N₃, CN, C₁-C₁₀-alkyl, 35 C₁-C₁₀-perfluor-alkyl, C₁-C₁₀-acyl, C₁-C₁₀-acyloksy-grupper. Heteroaryl står for en aromatisk, mono- eller bicyklisk rest med som regel 5 til 10, fortrinnsvis 5 til 6 ringatomer og inntil 5, fortrinnsvis inntil 4 heteroatomer fra serien S, O og N, eksempelvis og fortrinnsvis for benzofuranyl, benzotiofenyl, kinolinyl, furyl, imidazolyl, indazolyl, indolyl, isokinolinyl, oksazolyl, pyridazinyl, pyridyl,

pyrimidyl, pyrrolyl, tiazolyl, tienyl, pyrazolyl, isoksazolyl, pyrazinyl, kinolyl eller tetrazolyl.

Aralkyl står for aralkylgrupper, som i ringen kan inneholde inntil 14 karbonatomer, foretrukket 6-10 karbonatomer, og i alkylkjeden 1-8, foretrukket 1-4, karbonatomer. Som aralkylrester kan det for eksempel anvendes benzyl, fenyletyl, naftylmetyl, naftyletyl, furylmetyl, tienyletyl, pyridylpropyl. Ringene kan være substituert én eller flere ganger med halogen, OH, O-alkyl, CO₂H, CO₂alkyl, NH₂, NH(C₁-C₁₀-alkyl), N(C₁-C₁₀-alkyl)₂, NO₂, N₃, CN, C₁-C₂₀-alkyl, C₁-C₁₀-perfluoralkyl, C₁-C₂₀acyl, C₁-C₂₀-acyloksy-grupper.

Det ble funnet at forbindelsen ifølge oppfinnelsen oppviser en god, progesteron-antagoniserende virkning. I flere kliniske studier ble det funnet at behandlingen med progestronreseptorantagonister (mifepriston, asoprisnil, proellex) kan føre til en signifikant krymping av uterusfibromer og en signifikant reduksjon av symptomene assosiert med disse uterusfibromene. Videre ble det i kliniske studier vist at under en behandling med de nevnte progesteronreseptorantagonistene blir også symptomene forårsaket av endometriose (særlig smerter) tydelig redusert.

Skjema 1



(A og B har i den ovennevnte formelen følgende betydning: =O; -OH/-H eller -OH/-C₂F₅)

En oversikt for fremstillingen av forbindelser med formel A er vist i skjema 1.

Representasjonen av forbindelsen med den kjemiske formelen A skjer ved å gå ut fra (5'R,8'S,10'R,13'S,14'S,17'S)-5,5,13'-trimetyl-1',2',7',8',12',13',14',15',16',17-dekahydro-6'H-spiro[1,3-dioksan-2,3'-[5,10]epoksycyklopenta[a]fenantren)-17'-ol (fremstilling se Tetrahedron Lett. 26, 2069-2072 (1985) analogt til fremgangsmåten vist i WO 98/34947 og i WO 2008/058767. Etter oksidasjon av hydroksygruppen i posisjon 17 på steroidskjellettet skjer innføringen av 17 α -pentafluoretylsidekjeden på de tilsvarende 17-ketoforbindelsene ifølge fremgangsmåten beskrevet i WO 98/34947 og i WO 2008/058767. Innføringen av 11 β -fenylsubstituentene skjer over konjugert addisjon av

arylgrignard- eller aryllitiumreagenser under kobberkatalyse. Herved blir det oppnådd forbindelser med den generelle formel II, hvori R^8 alle kan ha betydningene allerede nevnt for R^1 og i tillegg kan være en hydroksy-, C_1 - C_{10} -alkoksy-, benzyloksy-, C_{1-10} alkanoyloksy-, benzoyloksy-, silyloksyl-, alkoksyalkyloksygruppe en Cl, Br, I eller en gruppering $C_mF_{m+1}SO_3$ med $m=1-4$ og hhv. A eller B står for enten en karbonylgruppe eller for en 17β -OH/ 17α -H gruppering eller står for en 17β -OH/ 17α - C_2F_5 gruppering. Fra forbindelser med den generelle formel II kan så forbindelsen med formel A bli oppnådd. For dette blir funksjonelle grupper eventuelt videre modifisert. Herved skal det særlig nevnes oksidasjonen av sulfidene til sulfoner ifølge metoder kjent for fagmannen.

Alternativt til dette kan det imidlertid også bli benyttet fremgangsmåter kjent for fagmannen som utgår fra tilsvarende sulfoksid. Generelt kan såvel 11β -fenylresten som 17β -pentafluoretylsidekjeden bli innført først. Funksjonelle grupper, særlig 3-ketogruppen blir eventuelt beskyttet i mellomtiden, f.eks. som ketal. Som ketalbeskyttelsesgrupper skal det eksempelvis nevnes etylendioksy- eller 2,2-dimetylpropylen-1,2-dioksygruppen.

Hydroksygrupper blir eksempelvis beskyttet i form av metoksymetyl-, metoksy-etyl-, tetrahydropyranyl-, benzyl- eller silyletere.

På et egnet trinn skjer så avspaltingen av beskyttelsesgruppene ifølge fremgangsmåter kjent for fagmannen. Ved spaltingen av 3-ketalet til 3-ketogruppen på steroidskjellettet blir en eventuelt fremdeles foreliggende 5α -hydroksygruppe eliminert, slik at forbindelse A oppstår.

Så lenge fremstillingen av utgangsforbindelsene ikke er beskrevet her, er denne kjent for fagmannen eller kan fremstilles analogt til kjente forbindelser eller fremgangsmåter beskrevet her. Isomerblandingene kan bli separert til de enkelte forbindelsene ifølge vanlige metoder, så som eksempelvis krystallisasjon, kromatografi eller saltdannelse.

Fremstillingen av saltene skjer på vanlig måte, idet man blander en løsning av forbindelsen A med den ekvivalente mengden eller et overskudd av en base eller syre, som eventuelt befinner seg i løsning, eventuelt separerer bunnfallet eller på vanlig måte opparbeider løsningen.

Den resulterende forbindelsen med formel A blir eventuelt omsatt med de tilsvarende (i) løsemidler og/eller (ii) baser eller syrer til dens solvater, salter og/eller solvater av saltene.

De generelle rest-definisjonene oppført over eller angitt i foretrukne områder gjelder så vel for sluttproduktet med formel A som tilsvarende for de respektive utgangsmaterialene eller mellomproduktene som er nødvendige for fremstillingen.

Forbindelsen ifølge oppfinnelsen viser en ikke forutseelig, verdifull farmakologisk, farmakokinetisk og farmakodynamisk virkeprofil.

Den egner seg derfor for anvendelsen som legemiddel for behandlingen og/eller profylaksen av sykdommer hos mennesker og dyr.

Den farmasøytiske virksomheten for forbindelsen ifølge oppfinnelsen lar seg forklare ved dens virkning som progesteronreseptorantagonist, altså dens antagoniserende virkning på progesteronreseptoren. Ytterligere gjenstand ifølge foreliggende oppfinnelse er anvendelsen av forbindelsen ifølge oppfinnelsen for behandlingen og/eller profylaksen av lidelser basert på hormonavhengige hyperproliferative prosesser, fortrinnsvis av gynekologiske sykdommer, særlig av uterusfibromer, endometriose eller av hormonavhengige mammakarsinomer.

Ytterligere gjenstand ifølge foreliggende oppfinnelse er anvendelsen av forbindelsen ifølge oppfinnelsen for behandlingen og/eller profylaksen av lidelser, særlig de tidligere nevnte lidelsene.

Ytterligere gjenstand ifølge foreliggende oppfinnelse er forbindelsen ifølge oppfinnelsen for anvendelsen i en fremgangsmåte for behandlingen og/eller profylaksen av uterusfibromer, endometriose og av hormonavhengige mammakarsinomer.

Ytterligere gjenstand ifølge foreliggende oppfinnelse er anvendelsen av forbindelsen ifølge oppfinnelsen for fremstillingen av et legemiddel for behandlingen og/eller profylaksen av lidelser, særlig de tidligere nevnte lidelsene.

Ytterligere gjenstand ifølge foreliggende oppfinnelse er forbindelse A for behandlingen og/eller profylaksen av lidelser, særlig de tidligere nevnte lidelsene, ved anvendelse av 0,1-100 mg av forbindelsen ifølge oppfinnelsen per dag og pasient ved behandlingen av uterusfibromer eller endometriose og for den preventive anvendelse eller av 0,1-500 mg av forbindelsen ifølge oppfinnelsen per dag og pasient ved tumor-lidelser (f.eks. meningiom eller hormonavhengige tumorer så som f.eks. mammakarsinomet) og ved nødprevensjon.

Ytterligere gjenstand ifølge foreliggende oppfinnelse er legemiddel, som inneholder forbindelsen ifølge oppfinnelsen og minst ett eller flere ytterligere virkestoff, særlig for forbindelsen ifølge oppfinnelsen og minst ett eller flere ytterligere virkestoffer, særlig for behandlingen og/eller profylaksen av de tidligere nevnte lidelsene.

For behandlingen av tumor-lidelser kan f.eks. de følgende virkestoffer/virkestoffklasser bli administrert samtidig eller sekvensielt: SERMer, SERDer, antiøstrogener, aromataseinhibitorer, kinaseinhibitorer, angiogeneseinhibitorer og/eller cytostatika.

For behandlingen av uterusfibromer eller endometriose kan forbindelsene ifølge oppfinnelsen bli kombinert samtidig eller sekvensielt med gestagener eller kombinasjoner av østrogener og gestagener.

I WO 96/15794 (Spicer et al., Balance Pharm. Inc.), WO 96/03130 (Stöckemann et al., Schering AG) og PCT/EP2009/003249 (Möller et al., Bayer Schering Pharma AG) er det vist progesteronreseptorantagonister/gestagen-regimer. Velegnet for behandlingen av uterusfibromer og endometriose er - eventuelt gjentakende - regimer hvor progesteronreseptorantagonisten blir gitt over et tidsrom på to til fire måneder, fulgt av

administreringen av gestagenet over et tidsrom på én til fire uker. Spesielt godt egnet er den - eventuelt gjentakende – 84-dagers administrering av progesteronreseptorantagonisten fulgt av den 14-dagers administrasjon av gestagenet.

For behandlingen av plager assosiert med menopausen kan det anvendes en samtidig eller sekvensiell administrering av forbindelsen ifølge oppfinnelsen f.eks. med SERMer, SERDer og østrogener.

SERMer (Selective Estrogen Receptor Modulators) er slike forbindelser som vevsselektivt enten har en antiøstrogen eller østrogen virkning, for eksempel inhiberer virkningen av østrogen på livmoren, men har en nøytral eller østrogen-lignende virkning på knokler. Eksempler er Clomifen, Raloxifen, Tamoxifen, Torimifen, Bazedoxifen, Lasofoxifen og Ormeloxifen.

Selektive østrogenreseptordestabilisatorer (SERD) er medikamenter som fullstendig antagoniserer østrogenreseptoren ("rene antiøstrogener" uten østrogene virkekomponenter) og fører til en nedregulering av reseptoren (for eksempel fulvestrant, ZK-703 og ZK-253 (Hoffmann J et al., J Natl Cancer Inst 2004, 96:210-218) samt forbindelser beskrevet i WO 98/007740, WO 99/33855 og WO 03/045972.

Antiøstrogener er forbindelser som fullstendig antagoniserer østrogenreseptoren, eksempelvis fulvestrant.

Aromataseinhibitorer inhiberer enzymet aromatase og dermed aromatiseringen av androgener i østrogener. Til disse hører bl.a. anastrozol, letrozol, exemestan, vorozol, formestan og fadrozol. Kinaseinhibitorer er enzymer, som overfører en fosfatrest av ATP til andre substrater, der særlig på hydroksygrupper, f.eks. sorafenib (nexavar) eller Imatinib (Gleevec). Angiogenesehemmere, f.eks. avastin, reduserer eller blokkerer karforsyningen og dermed blodgjennomstrømningen i en tumor.

Zytostatika, f.eks. cis-platin, taxol, taxotere er naturlige eller syntetiske substanser, som hemmer celleveksten eller celledelingen.

Som gestagener blir det innen betydningen av foreliggende oppfinnelse enten forstått selve det naturlige progesteron eller syntetiske derivater, som binder som selve progesteronet på progesteronreseptoren, og i doseringer, som ligger over den egglosningshemmende dosen, hemmer eggløsningen. Som eksempler på de syntetiske derivatene er det nevnt drospirenon, gestoden, levonorgestrel, cyproteronacetat, desogestrel og 3-ketodesogestrel, noretisteron, noretisteronacetat og dienogest.

Ved kombinasjoner av gestagener og østrogener handler det om de virkestoffkombinasjonene, som er inneholdt i kjente orale prevensjonsmidlene, for eksempel Yasmin, Femovan, Triquilar, Marvelon, YAZ etc.

Forbindelsen ifølge oppfinnelsen kan virke systemisk og/eller lokalt. For dette formålet kan de bli administrert på egnet måte, så som f.eks. oralt, intrauterint, intravaginalt, parenteralt, pulmonalt, nasalt, sublingvalt, lingvalt, bukkalt, rektalt, dermalt, transdermalt, konjunktivalt, otisk eller som hhv. implantat eller stent.

Intrauterin betyr derved særlig applikasjonen ved hjelp av IUS (intrauterint system) eller IUD (intrauterin anordning). Den intravaginale applikasjonen kan bl.a. skje ved hjelp av IVRNRs (intra-vaginalring/vaginalringsystem).

Intrauterine eller intravaginale applikasjonsformer (smnl. f.eks. WO 01/47490, særlig side 1, linje 10 til side 5, linje 13 og side 7, linje 19 til side 58, linje 6, eller for vaginalringer: WO 06/010097, særlig side 10, linje 22 til side 14, linje 28) kan derved inneholde forbindelsen ifølge oppfinnelsen og ikke-silikon- og/eller silikonpolymere, særlig også siloksanbaserte elastomerer (smnl. WO 01/47490, særlig side 7, linje 19-side 15, linje 15).

For disse applikasjonsveiene kan forbindelsen ifølge oppfinnelsen bli administrert i egnede applikasjonsformer.

For den orale applikasjonen er det egnet med applikasjonsformer ifølge teknikkens stand med hurtig- eller modifisert-frigivelse av forbindelsen ifølge oppfinnelsen, som inneholder forbindelsen ifølge oppfinnelsen i krystallinsk og/eller amorfisert og/eller løst form, så som f.eks. tabletter (ikke-overtrukne eller overtrukne tabletter, eksempelvis med magesaftresistent eller forsinket oppløselige eller uløselige overtrekk, som kontrollerer frigivelsen av forbindelsen ifølge oppfinnelsen), tabletter som raskt brytes ned i munnhulen eller filmer/oblater, filmer/lyofilisater, kapsler (for eksempel harde eller myke gelatinkapsler), dragéer, granulater, pellets, pulver, emulsjoner, suspensjoner, aerosoler eller løsninger.

Den parenterale applikasjonen kan skje ved å unngå et resorpsjonstrinn (f.eks. intravenøst, intraarterielt, intrakardialt, intraspinalt eller intralumbalt) eller under igangsetting av en resorpsjon (f.eks. intramuskulær, subkutan, intrakutan, perkutan eller intraperitoneal). For den parenterale applikasjonen er det som applikasjonsformer bl.a. egnet med injeksjons- og infusjonspreparater i form av løsninger, suspensjoner, emulsjoner, lyofilisater eller sterile pulvere.

For de øvrige applikasjonsveiene er det f.eks. egnet med inhalasjonsbehandlingsformer (bl.a. pulverinhalatorer, forstøver), nesedråper, -løsninger, -sprayer; lingvalt, sublingvalt eller bukkalt administrerte tabletter, filmer/oblater eller kapsler, suppositorier, øre- eller øyepreparater, vaginalkapsler, vandige suspensjoner (løsninger, ristemiksturer), lipofile suspensjoner, salver, kremer, transdermale terapeutiske systemer (så som eksempelvis plaster), melk, pastaer, skum, strøpulver, implantater eller stenter.

Forbindelsen ifølge oppfinnelsen kan bli overført til de anførte applikasjonsformene. Dette kan skje på en måte kjent i seg selv ved blanding med inerte, ikke-toksiske, farmasøytisk egnede hjelpestoffer. Til disse hjelpestoffene hører bl.a. bærermaterialer (for eksempel mikrokrySTALLinsk cellulose, laktose, mannitol), løsemiddel (f.eks. flytende polyetylenglykoler), emulgatorer og dispergerings- eller fuktemiddel (for eksempel natriumdodekylsulfat, polyoksysorbitanoleat), bindemiddel (for eksempel polyvinylpyrrolidon), syntetiske og naturlige polymerer (for eksempel albumin),

stabilisatorer (f.eks. antioksidanter så som for eksempel askorbinsyre), fargestoffer (f.eks. uorganiske pigmenter så som for eksempel jernoksider) og smaks- og/eller luktkorrigerende midler. Ytterligere gjenstand ifølge foreliggende oppfinnelse er legemidler som inneholder forbindelsen ifølge oppfinnelsen, vanligvis sammen med ett eller flere inerte, ikke-toksiske, farmasøytisk egnede hjelpestoffer, samt deres anvendelse for de tidligere nevnte formålene.

Til tross for dette kan det eventuelt være nødvendig, å avvike fra de nevnte mengdene, og det avhengig av kroppsvekt, applikasjonsmåte, individuell opptreden overfor virkestoffet, type preparat og tidspunkt eller intervall, som applikasjonen skjer ved. Slik kan det i enkelte tilfeller være tilstrekkelig, å komme ut med mindre enn den tidligere nevnte minstemengden, mens den nevnte øvre grensen må bli overskredet i andre tilfeller. I tilfelle applikasjonen av større mengder kan det være anbefalt å fordele disse i flere enkeltadministrasjoner over dagen.

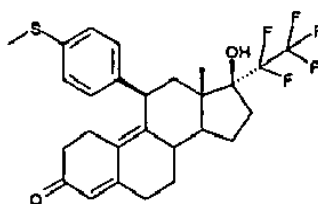
Prosentangivelsene i de følgende testene og eksemplene er, så lenge ikke noe annet er angitt, vektprosent; deler er vektdeler. Løsemiddelforhold, fortynningsforhold og konsentrasjonsangivelser av flytende/flytende-løsninger er i hvert tilfelle med referanse til volumet.

De følgende eksemplene 1-3 og 5-15 er sammenligningseksempler. Eksempel 4 er et eksempel i følge oppfinnelsen.

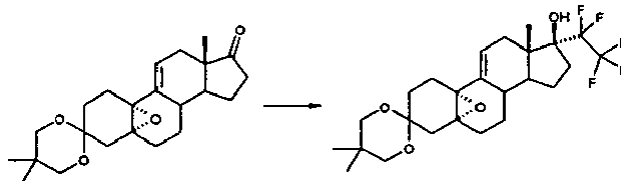
De følgende eksemplene tjener belysningen av oppfinnelse uten å begrense denne på noen som helst måte.

Eksempel 1:

(11 β ,17 β)-17-hydroksy-11-[4-(metylsulfanyl)fenyl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on



a) (5'R,8'S,10'R,13'S,14'S,17S)-5,5,13'-trimetyl-17'-(pentafluoretyl)-1',2',7',8',12',13',14',15',16',17'-dekahydro-6'H-spiro[1,3-dioksan-2,3'-[5,10]epoksycyklopenta[a]fenantren]-17'-ol



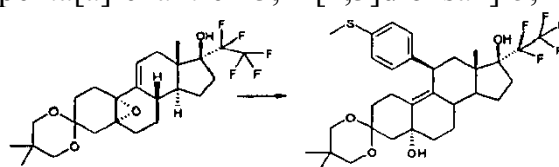
Til 116 g kondensert pentafluorjodetan i 500 ml absolutt toluen ble det ved -70 °C gitt 50 g (5'R,8'S,10'R,13'S,14'S)-5,5,13'-trimetyl-1',2',6',7',8',12',13',14',15',16'-dekahydro-17'H-spiro[1,3-dioksan-2,3'-[5,10]epoksycyklopenta[a]fenantren]-17'-on (fremstilling se Tetrahedron Lett. 26, 2069-2072 (1985). Til dette ga man 290 ml av en

1,5 molar løsning av metyllitium-litiumbromid-kompleks i dietyleter ved lik temperatur. Deretter ble det etterrørt én time ved 0 °C. Så ble reaksjonsblandingen gitt på mettet vandig ammoniumkloridløsning og ekstrahert med etylacetat. Den organiske fasen ble vasket med mettet vandig natriumkloridløsning, tørket over natriumsulfat og kondensert i vakuum. Råproduktet ble løst opp i 200 ml aceton og blandet med 450 ml vann. Det utfelte produktet ble filtrert av og tørket i vakuum.

Utbytte 61,6 g

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ= 6,04 brd (1H); 3,60 d (1H); 3,35-3,50 m (3H); 2,51 dbr (1H); 1,06 s (3H); 0,93 s (3H); 0,85 s (3H).

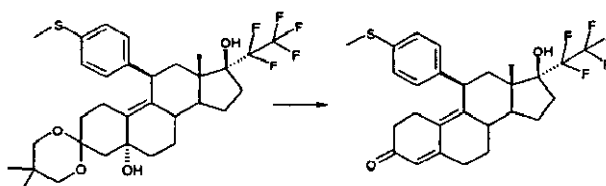
b) (5R,8S,11R,13S,14S,17S)-5',5',13-trimetyl-11-[4-(metylsulfanyl)fenyl]-17-(pentafluoretyl)-1,2,6,7,8,11,12,13,14,15,16,17-dodekahydrospiro[cyklopenta[a]fenantren-3,2'-[1,3]dioksan]-5,17(4H)-diol



1,23 g Magnesium-spon ble suspendert i 5 ml THF og under røring blandet med 50 µl dibrometan. Til suspensjonen ble det tilsatt en løsning av 10,31 g 1-brom-4-(metyltiofeny)benzen i 60 ml THF slik at reaksjonstemperaturen ikke steg over 55 °C. Deretter ble det etterrørt én time. Så ble den oppståtte løsningen kjølet til 0 °C. Man tilsatte 151 mg CuCl og lot det etterrøre ytterligere 15 minutter ved 0 °C. Deretter ble det tilsatt en løsning av 5 g av substansen beskrevet under eksempel 1a) i 50 ml THF. Så lot man reaksjonsblandingen under røring over ca. 3 timer komme til 23 °C og etterrørte deretter 10 timer ved denne temperaturen. Deretter ble mettet vandige NH₄Cl-løsning tilsatt til reaksjonsblandingen under ekstern kjøling. Man etterrørte ytterligere 30 minutter og ekstraherte så flere ganger med etylacetat. De kombinerte organiske fasene ble vasket med mettet natriumkloridløsning og tørket over natriumsulfat. Råproduktet ble rensert ved kromatografi på kieselgel og påfølgende krystallisasjon fra en blanding av diklormetan og diisopropyleter. Man oppnådde 5,72 g av tittelforbindelsen.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 7,50 d (2H); 7,30 d (2H); 4,41 s (1H); 4,28 dbr (1H); 3,40-3,60 m (4H); 2,51 s (3H); 1,05 s (3H); 0,87 s (3H); 0,53 s (3H).

c) (11β,17β)-17-hydroksy-11-[4-(metylsulfanyl)fenyl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on

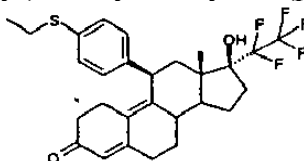


500 mg av forbindelsen beskrevet under 1b) ble løst i 15 ml metanol. Man tilsatte 360 µl halvkonsentrert svovelsyre og lot det etterrøre 3 timer ved 23 °C. Deretter ble

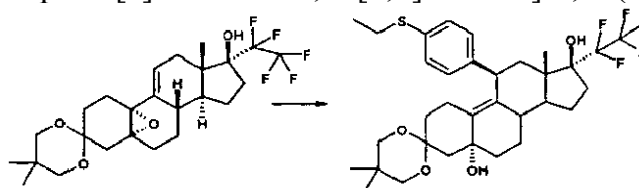
reaksjonsblandingen helt på mettet vandig natriumhydrogenkarbonatløsning. Man ekstraherte flere ganger med etylacetat. De kombinerte organiske fasene ble vasket med mettet vandig natriumkloridløsning, tørket over natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Råproduktet ble rensert ved kromatografi på kiselgel. Man oppnådde 297 mg av tittelforbindelsen. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 7,20 d (2H); 7,13 d (2H); 5,80 sbr (1H); 4,45 dbr (1H); 2,51 s (3H); 0,68 s (3H).

Eksempel 2

(11β,17β)-11-(4-(Etylsulfanyl)fenyl)-17-hydroksy-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on



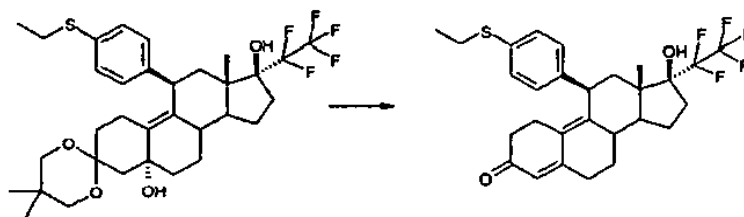
a) (5R,8S,11R,13S,14S,17S)-11-[4-(Etylsulfanyl)fenyl]-5',5',13-trimetyl-17-(pentafluoretyl)-1,2,6,7,8,11,12,13,14,15,16,17-dodekahydrospiro[cyklopenta[a]fenantren-3,2'-[1,3]dioksan]-5,17(4H)-diol



Analogt med eksempel 1b) ble det fra 3 g av forbindelsen beskrevet under 1a), 888 mg magnesium-spon, 91 mg CuCl og 7,94 g 1-brom-4-(etyltiofeny)benzen i THF fremstilt 2,7 g av tittelforbindelsen.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 7,50 d (2H); 7,38 d (2H); 4,43 s (1H); 4,39 dbr (1H); 3,40-3,60 m (3H); 2,95 q (2H); 1,30 t (3H); 1,07 s (3H); 0,87 s (3H); 0,53 s (3H).

b) (11β,17β)-11-[4-(Etylsulfanyl)fenyl]-17-hydroksy-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on

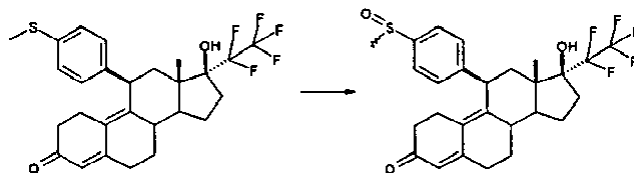


Analogt med eksempel 1c) ble det fra 200 mg av forbindelsen fremstilt under 2a) ved omsetning med halvkonsentrert svovelsyre i metanol fremstilt 125 mg av tittelforbindelsen.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 7,21 d (2H); 7,08 d (2H); 5,78 sbr (1H); 4,43 dbr (1H); 2,93 q (2H); 1,29 t (3H); 0,60 s (3H).

Eksempel 3

(11 β ,17 β)-17-hydroksy-11-{4-[(RS)-metylsulfinyl]fenyl}-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on



Til 0,5 ml trifluoreddiksyre ble det ved 23 °C tilsatt 180 μ l 30 %

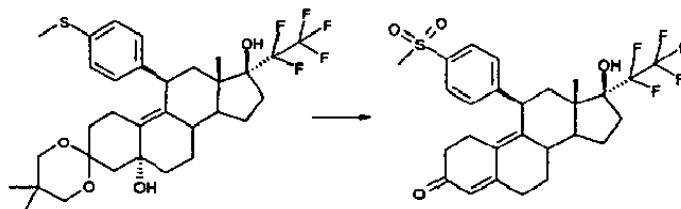
hydrogenperosidløsning. Man etterrørte 30 minutter og tilsatte så blandingen til en suspensjon kjølt av 533 mg av forbindelsen fremstilt under eksempel 1c) i 1,8 ml trifluoreddiksyre til 10 °C. Det ble etterrørt 2 timer ved 10 °C. Deretter ble reaksjonsblandingen helt på isvann. Man lot det etterrøre 2 timer og filtrerte deretter av det utfelte produktet. Det oppnådde råproduktet ble rensed ved kromatografi på kiselgel.

Man oppnådde 146 mg av tittelforbindelsen samt 123 mg av forbindelsen beskrevet under eksempel 4.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 7,58 d (2H); 7,38 d (2H); 5,80 sbr (1H); 4,50 dbr (1H); 2,71 s (3H); 0,58 s (3H) + 0,56 s (3H) (blanding av diastereomerene).

Eksempel 4

(11 β ,17 β)-17-hydroksy-11-[4-(metylsulfonyl)fenyl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on

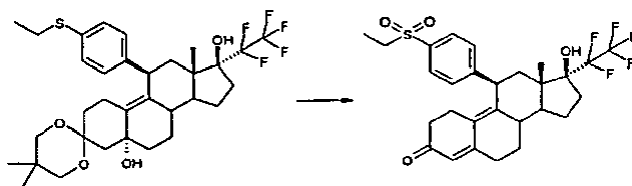


5 g av forbindelsen beskrevet under eksempel 1b) ble løst i en blanding av 140 ml THF og 140 ml metanol. Ved 0 °C satte man dråpevis langsomt til en løsning av 20 g Oxone[®] i 94 ml vann. Deretter lot man det etterrøre 3,5 timer ved 0 °C. Så ble reaksjonsblandingen blandet med en blanding av vann og diklormetan. Man skilte fasene og ekstraherte den vandige fasen flere ganger med diklormetan. De kombinerte organiske fasene ble vasket med mettet vandig natriumkloridløsning, tørket over natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Råproduktet ble rensed ved kromatografi på kiselgel. Man oppnådde 3,8 g av tittelforbindelsen.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 7,86 d (2H); 7,40 d (2H); 5,81 sbr (1H); 4,50 dbr (1H); 3,07 s (3H); 0,51 s (3H).

Eksempel 5

(11 β ,17 β)-11-[4-(Etylsulfonyl)fenyl]-17-hydroksy-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on

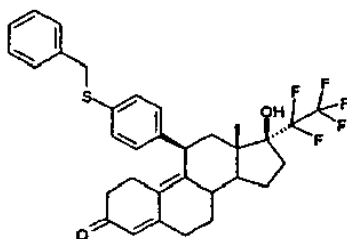


Analogt med eksempel 4) ble det ved omsetning av 400 mg av forbindelsen beskrevet under eksempel 2a) med 1,56 g Oxone[®] i en blanding av 10 ml THF og 10 ml metanol etter opprensing ved kromatografi på kiselgel oppnådd 183 mg av tittelforbindelsen.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ= 7,82 d (2H); 7,40 d (2H); 5,80 sbr (1H); 4,52 dbr (1H); 3,13 q (2H); 1,28 t (3H); 0,51 s (3H).

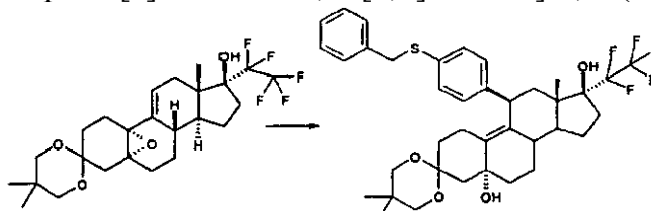
Eksempel 6

(11β,17β)-11-[4-(benzylsulfanyl)fenyl]-17-hydroksy-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on



a) (5R,8S,11R,13S,14S,17S)-11-[4-(benzylsulfanyl)fenyl]-5',5',13-Mmetyl-17-(pentafluoretyl)-1,2,6,7,8,11,12,13,14,15,16,17-

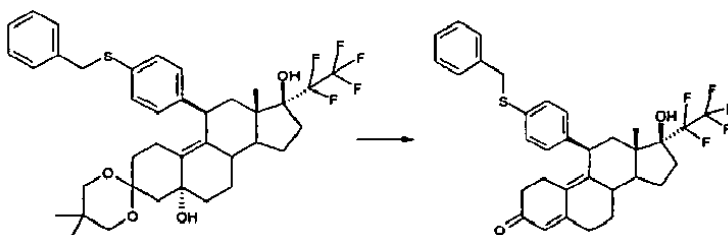
dodekahydrospiro[cyklopenta[a]fenantren-3,2'-[1,3]dioksan]-5,17(4H)-diol



Analogt med eksempel 1b) ble det fra 8,5 g av forbindelsen beskrevet under 1a), 2,64 g magnesium-spon, 171 mg CuCl og 30,36 g 1-benzylsulfanyl-4-brombenzen i THF fremstilt 6,65 g av tittelforbindelsen.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 7,13-7,30 m (7H); 7,10 d (2H); 4,44 s (1H); 4,27 dbr (1H); 4,05 s (2H); 3,40-3,60 m (4H); 1,05 s (3H); 0,87 s (3H); 0,51 s (3H).

b) (11β,17β)-11-[4-(benzylsulfanyl)fenyl]-17-hydroksy-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on

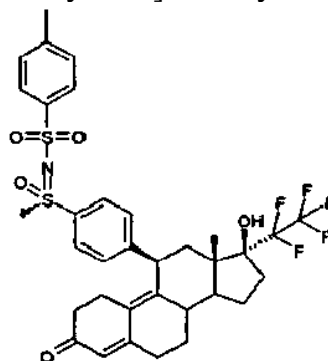


Analogt med eksempel 1c) ble det fra 1,62 g av forbindelsen fremstilt under eksempel 6a) ved omsetning med halvkonsentrert svovelsyre i metanol fremstilt 1,02 g av tittelforbindelsen. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 7,15-7,40 m (7H); 7,06 d (2H); 5,78 sbr (1H); 4,40 dbr (1H); 4,08 s (2H); 0,59 s (3H).

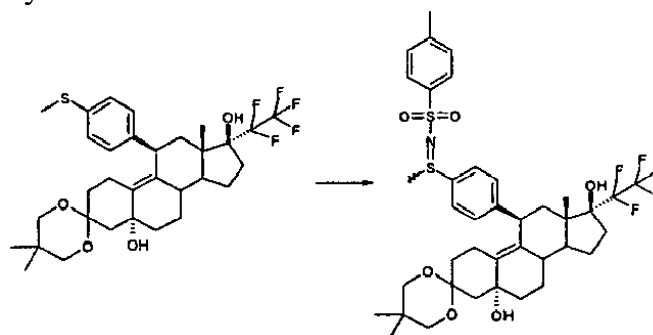
5

Eksempel 7

N-[{4-[(11 β ,17 β)-17-hydroksy-3-okso-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-11-yl]fenyl}(RS)(metyl)oksido- λ^6 -sulfanyliden]-4-metylbenzensulfonamid



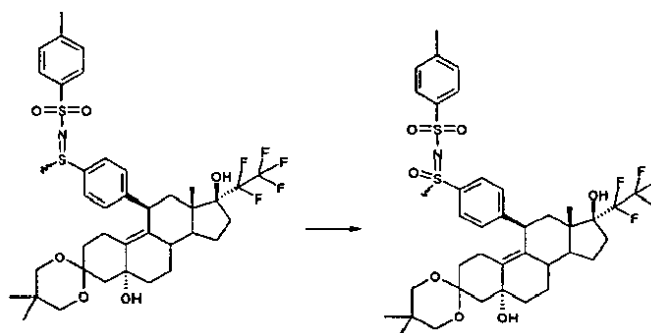
- 10 a) N-[{4-[(5R,8S,11R,13S,14S,17S)-5,17-dihydroksy-5',5',13-trimetyl-17-(pentafluoretyl)-1,2,4,5,6,7,8,11,12,13,14,15,16,17-tetradekahydrospiro[cyklopenta[a]fenantren-3,2'-[1,3]dioksan]-11-yl]fenyl}(RS)(metyl)- λ^4 -sulfanyliden]-4-metylbenzensulfonamid



- 15 3 g av substansen beskrevet under eksempel 1b) ble suspendert i 80 ml acetonitril. Man tilsatte 1,64 g kloramin-T-trihydrat® og lot det etterrøres 20 timer ved 23 °C. Deretter ble reaksjonsblandingen fortynnet med 70 ml diklormetan. Man filtrerte av utfelt natriumklorid, og konsentrerte så i vakuum. Råproduktet ble renset ved kromatografi på kiselgel. Man oppnådde 3,16 g av tittelforbindelsen.

- 20 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 7,74 d (2H); 7,49 d (2H); 7,38 d (2H); 7,18 d (2H); 4,40 s (1H); 4,33 dbr (1H); 3,40-3,70 m (4H); 2,80 (3H); 2,37 s (3H), 1,05 s (3H); 0,89 s (3H); 0,45 s (3H) (blanding av diastereomerer).

- b) N-[{4-[(5R,8S,11R,13S,14S,17S)-5,17-dihydroksy-5',5',13-trimetyl-17-(pentafluoretyl)-1,2,4,5,6,7,8,11,12,13,14,15,16,17-tetradekahydrospiro[cyklopenta[a]fenantren-3,2'-[1,3]dioksan]-11-yl]fenyl}(RS)(metyl)oksido- λ^6 -sulfanyliden]-4-metylbenzensulfonamid
- 25



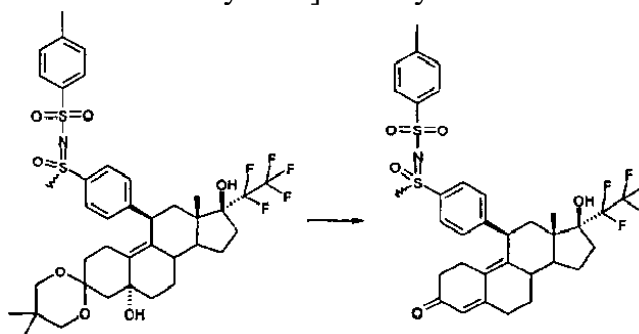
3,16 g av forbindelsen oppnådd under 7a) ble løst i 2,5 ml acetonitril og 1,6 ml metanol. Det ble tilsatt 1,22 g natriumkarbonat og 2,34 ml 30 %

hydrogenperoksidløsning. Deretter lot man det etterrøre 2,5 timer ved 23 °C. Så ble

reaksjonsblandingen helt på vann. Man ekstraherte flere ganger med diklormetan. De kombinerte organiske fasene ble vasket med mettet vandig natriumkloridløsning, tørket over natriumsulfat og kondensert i vakuum. Råproduktet ble renset ved kromatografi på kiselgel. Man oppnådde 2,56 g av tittelforbindelsen.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 7,78-8,00 m (4H); 7,51 d (2H); 7,31 d (2H); 4,50 s (1H); 4,44 dbr (1H); 3,45-3,67 m (7H); 2,46 s (3H); 1,09 s (3H); 0,91 s (3H); 0,51 s (3H) (blanding av diastereomerer).

c) N-[{4-[(11β,17β)-17-hydroksy-3-okso-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-11-yl]fenyl}(RS)(metyl)oksido-λ⁶-sulfanyliden]-4-metylbenzensulfonamid

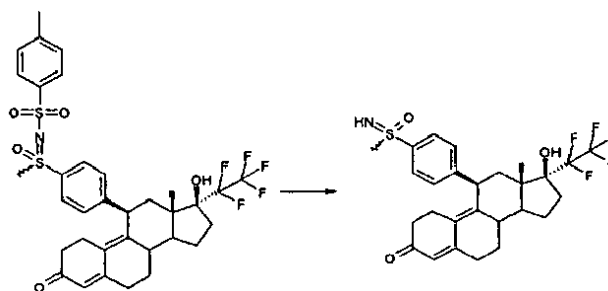


Analogt med eksempel 1c) ble det fra 2,72 g av forbindelsen fremstilt under 7b) ved omsetning med halvkonsentrert svovelsyre i metanol fremstilt 2,2 g av tittelforbindelsen.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 7,95 d (2H); 7,86 d (2H); 7,45 d (2H); 7,28 d (2H); 5,81 sbr (1H); 4,51 dbr (1H); 3,41 s (3H); 2,40 s (3H); 0,51 s (3H) (blanding av diastereomerer).

Eksempel 8

(11β,17β)-17-hydroksy-11-[4-(RS-metylsulfonimidoyl)fenyl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on



500 mg av forbindelsen fremstilt under eksempel 7c) ble løst i 10 ml kloroform. Man tilsatte ved 0 °C 1,15 ml konsentrert svovelsyre og lot etterrøre 7 timer ved 0 °C.

Deretter ble reaksjonsblandingen helt på mettet vandig natriumhydrogenkarbonatløsning.

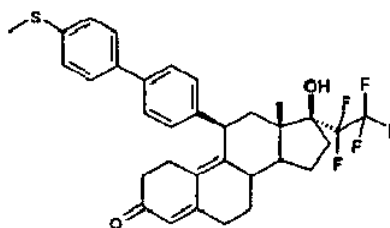
Deretter ble det innstilt basisk ved tilsats av 5 % NaOH. Man ekstraherte flere ganger med diklormetan. De kombinerte organiske fasene ble vasket med mettet vandig natriumkloridløsning, tørket over natriumsulfat og kondensert i vakuum. Råproduktet ble rensed ved kromatografi på kiselgel. Man oppnådde 306 mg av tittelforbindelsen.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 7,91 d (2H); 7,39 d (2H); 5,81 sbr (1H); 4,50 dbr (1H);

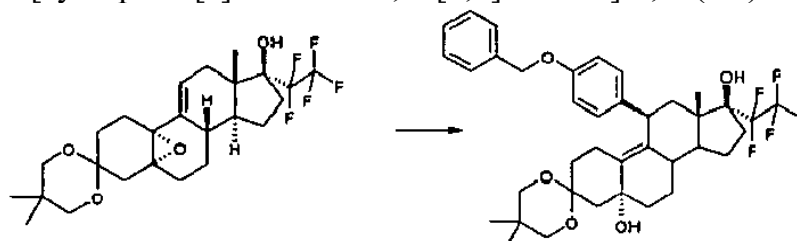
3,12 s (3H) + 3,10 s (3H); 0,56 s (3H) + 0,40 s (3H) (blanding av diastereomerer).

Eksempel 9

(11β,17β)-17-hydroksy-11-[4'-(metylsulfanyl)bifenyl-4-yl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on



a) (5R,8S,11R,13S,14S,17S)-11-[4-(benzyloksy)fenyl]-5',5',13-trimetyl-17-(pentafluoretyl)-1,2,6,7,8,11,12,13,14,15,16,17-dodekahydrospiro[cyklopenta[a]fenantren-3,2'-[1,3]dioksan]-5,17(4H)-diol



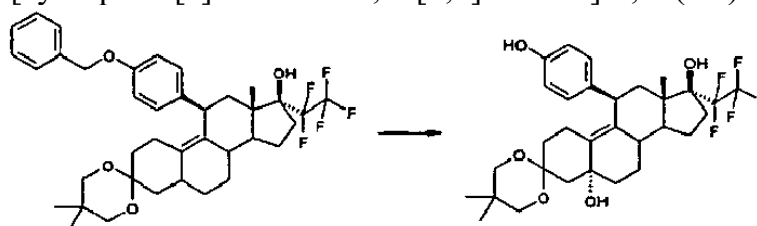
2,47 g Magnesium-spon ble suspendert i 5 ml THF og under røring blandet med 50 µl dibrometan. Til suspensjonen ble det langsomt satt en løsning av 26,7 g 1-brom-4-(fenylmetoksy)benzen i 115 ml THF ved 65 °C. Den oppståtte løsningen ble kjølt til 0 °C. Til dette ble det gitt 301 mg CuCl. Man etterrørte 10 minutter ved 0 °C og tilsatte så langsomt en løsning av 10 g av substansen beskrevet under eksempel 1a) i 70 ml THF.

Man lot reaksjonsblandingen komme til 23 °C under røring i løpet av ca. 3 timer og etterrørte deretter 10 timer ved denne temperaturen. Deretter ble mettet vandig NH₄Cl-

løsning tilsatt til reaksjonsblandingen under ekstern kjøling. Man etterrørte ytterligere 30 minutter og ekstraherte så flere ganger med etylacetat. De kombinerte organiske fasene ble vasket med mettet natriumkloridløsning og tørket over natriumsulfat. Råproduktet ble rensset ved kromatografi på kiselgel og påfølgende krystallisasjon fra en blanding av

diklormetan og diisopropyleter. Man oppnådde 9,7 g av tittelforbindelsen.
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ= 7,30-7,50 m (5H); 7,12 d (2H); 6,88 d (2H); 5,02 s (2H); 4,43 s (1H); 4,28 dbr (1H); 3,50-3,60 m (3H); 3,42 d (1H); 1,06 s (3H); 0,87 s (3H); 0,56 s (3H).

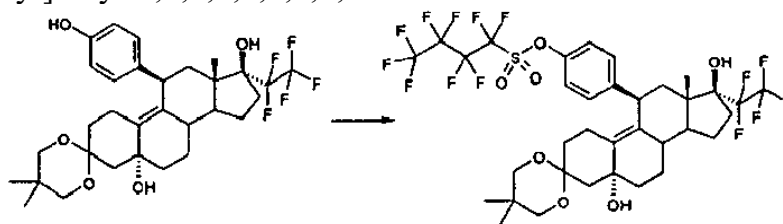
b) (5R,8S,11R,13S,14S,17S)-11-[4-(benzyloksy)fenyl]-5',5',13-trimetyl-17-(pentafluoretyl)-1,2,6,7,8,11,12,13,14,15,16,17-dodekahydrospiro[cyklopenta[a]fenantren-3,2'-[1,3]dioksan]-5,17(4H)-diol



Til en løsning av 9,72 g av forbindelsen beskrevet under 9a) i 100 ml metanol ble det tilsatt 5,53 g ammoniumformiat og 972 mg palladium på aktivkull (10 %). Man etterrørte 2 timer ved 23 °C og filtrerte så over Celite®. Filtratet ble konsentrert i vakuum. Man oppnådde 8,5 g råprodukt, som ble anvendt uten rensing i følgetrinnet.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 7,05 d (2H); 6,70 d (2H); 4,43 sbr (1H); 4,27 dbr (1H); 3,50-3,58 m (3H); 3,41 sbr (1H); 1,94 s (3H); 0,86 s (3H); 0,54 s (3H).

c) 4-[(5R,6S,11R,13S,14S,17S)-5,17-dihydroksy-5',5',13-trimetyl-17-(pentafluoretyl)-1,2,4,5,6,7,8,11,12,13,14,15,16,17-tetradekahydrospiro[cyklopenta[a]fenantren-3,2'-[1,3]dioksan]-11-yl]fenyl-1,1,2,2,3,3,4,4,4-nonafluorbutan-1-sulfonat

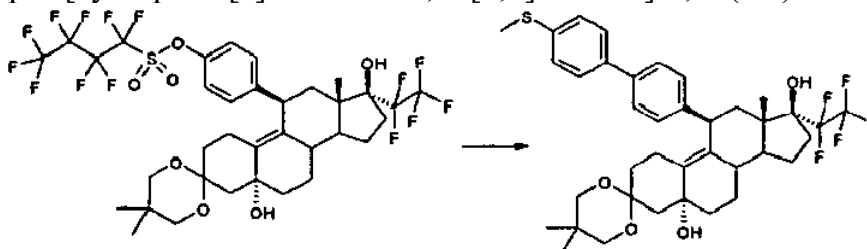


Til en løsning av 9,16 g av forbindelsen beskrevet under 9b) i 100 ml absolutt THF ble det ved 0 °C tilsatt 14,64 ml av en 1,6 molar løsning av n-butyllitium i heksan. Man lot det etterrøre 30 minutter ved 0 °C og tilsatte så langsomt 5,62 ml perfluorbutan-1-sulfonsyrefluorid. Deretter lot man det etterrøre ytterligere 1,5 timer ved 0 °C. Deretter ble reaksjonsblandingen helt på en blanding av 300 ml mettet natriumhydrogenkarbonatløsning og 90 ml 2 N natronlut. Det ble rørt 45 minutter og så ekstrahert flere ganger med etylacetat. De kombinerte organiske fasene ble vasket med mettet natriumkloridløsning og tørket over natriumsulfat. Det oppnådde råproduktet ble rensset ved kromatografi på kiselgel. Man oppnådde 10,1 g av tittelforbindelsen.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 7,28 d (2H); 7,18 d (2H); 4,42 s (1H); 4,34 dbr (1H); 3,50-3,58 m (3H); 3,42 d (1H); 1,05 s (3H); 0,86 s (3H); 0,50 s (3H).

d) (5R,8S,11R,13S,14S,17S)-5',5',13-trimetyl-11-[4'-(metylsulfanyl)bifenyl-4-yl]-17-(pentafluoretyl)-1,2,6,7,8,11,12,13,14,15,16,17-

5 dodekahydrospiro[cyklopenta[a]fenantren-3,2'-[1,3]dioksan]-5,17(4H)-diol



Til en løsning av 1,2 g av forbindelsen beskrevet under 9c) i en blanding av 12 ml toluen og 6 ml etanol ble det tilsatt 2 ml av en 2 molar vandig natriumkarbonatløsning, 131 mg litiumklorid, 240 mg 4-(metyltio)fenylboronsyre og 192 mg

10 tetrakis(trifenylfosfin)palladium. Umiddelbart ble det kokt 2 timer under tilbakesløp.

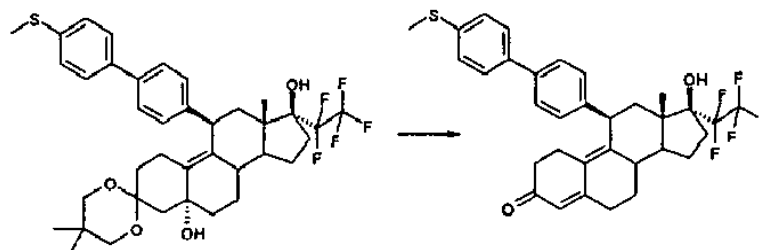
Deretter ble reaksjonsblandingen blandet med en blanding av etylacetat og vann. Man ekstraherte flere ganger med etylacetat. De kombinerte organiske fasene ble vasket med mettet vandig natriumkloridløsning, tørket over natriumsulfat og konsentrert i vakuum.

Råproduktet ble rensert ved kromatografi på kiselgel. Man oppnådde 927 mg av

15 tittelforbindelsen.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 7,45-7,55 m (4H); 7,30 d (2H); 7,27 d (2H); 4,45 s (1H); 4,35 dbr (1H); 3,40-3,60 m (4H); 2,50 s (3H); 1,07 s (3H); 0,97 s (3H); 0,58 s (3H).

e) (11 β ,17 β)-17-hydroksy-11-[4'-(metylsulfanyl)bifenyl-4-yl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on



20

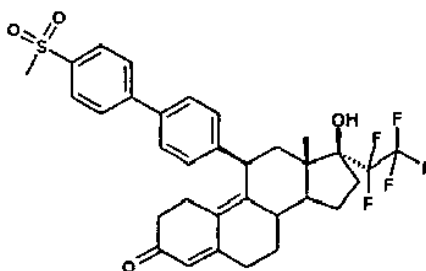
Analogt med eksempel 1c) ble det fra 120 mg av forbindelsen fremstilt under 9d) ved omsetning med halvkonsentrert svovelsyre i metanol fremstilt 82 mg av tittelforbindelsen.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 7,45-7,58 m (4H); 7,30 d (2H); 7,24 d (2H); 5,80 sbr (1H); 4,50 dbr (1H); 2,50 s (3H); 0,62 s (3H).

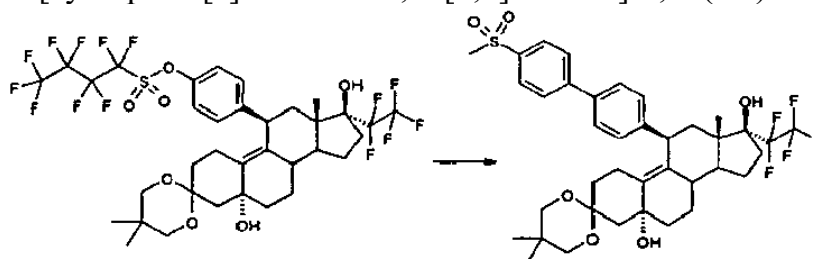
25

Eksempel 10

(11 β ,17 β)-17-hydroksy-11-[4'-(metylsulfonyl)bifenyl-4-yl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on



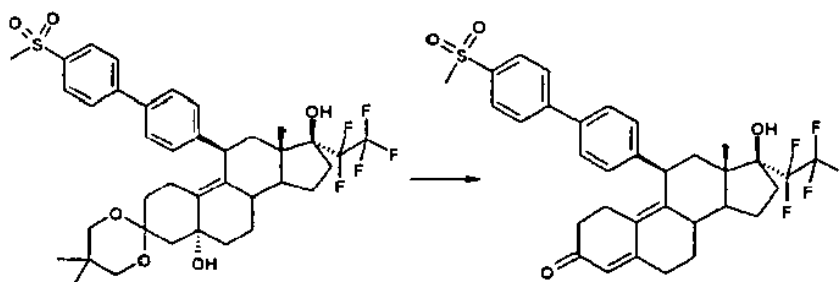
a) (5R,8S,11R,13S,14S,17S)-5',5',13-trimetyl-11-[4'-(metylsulfonyl)bifenyl-4-yl]-17-(pentafluoretyl)-1,2,6,7,8,11,12,13,14,15,16,17-dodekahydrospiro[cyklopenta[a]fenantren-3,2'-[1,3]dioksan]-5,17(4H)-diol



Analogt med eksempel 9d) ble det fra 500 mg som under eksempel 9c) og (4-metylsulfonylphenyl)boronsyre i nærvær av tetrakis(trifenylfosfin)palladium, litiumklorid, 2 molar vandig natriumkarbonatløsning i en blanding av toluen og etanol fremstilt 256 mg av tittelforbindelsen.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 8,03 d (2H); 7,80 d (2H); 7,58 d (2H); 7,39 d (2H); 4,48 s (1H); 4,45 dbr (1H); 3,45-3,65 m (4H); 3,12 s (3H); 1,10 s (3H); 0,91 s (3H); 0,62 s (3H).

b) (11β,17β)-17-hydroksy-11-[4'-(metylsulfonyl)bifenyl-4-yl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on

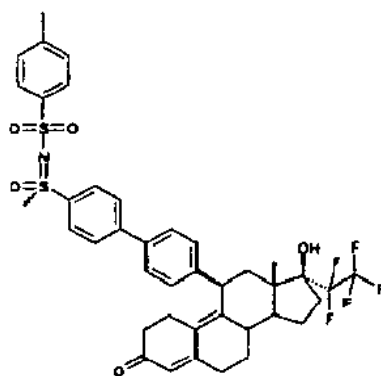


Analogt med eksempel 1c) ble det fra 110 mg av forbindelsen fremstilt under 10a) ved omsetning med halvkonsentrert svovelsyre i metanol fremstilt 62 mg av tittelforbindelsen.

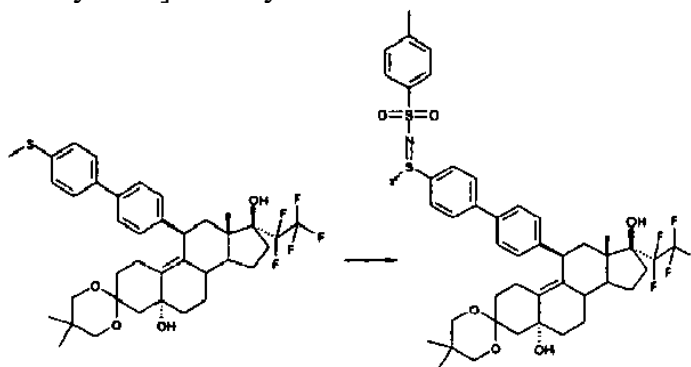
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ= 8,00 d (2H); 7,75 d (2H); 7,55 d (2H); 7,30 d (2H); 5,80 sbr (1H); 4,50 dbr (1H); 3,09 s (3H); 0,65 s (3H).

Eksempel 11

N-[{4'-[(11β,17β)-17-hydroksy-3-okso-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-11-yl]bifenyl-4-yl}(RS)(metyl)oksidolambda⁶-sulfanyliden]-4-metylbenzensulfonamid



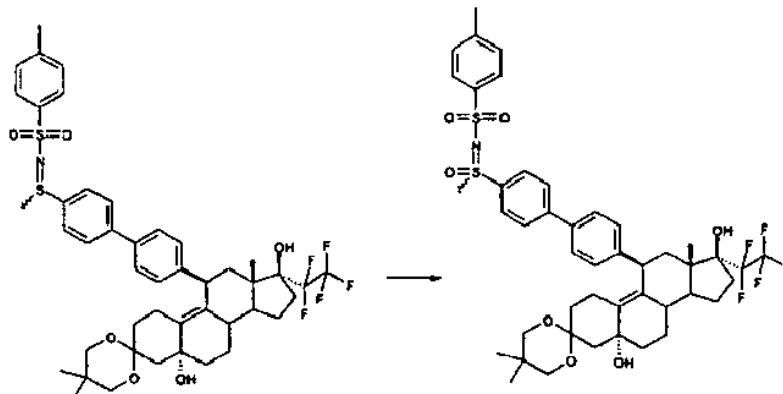
a) N-[{4'-[(5R,8S,11R,13S,14S,17S)-5,17-dihydroksey-5',5',13-trimetyl-17-(pentafluoretyl)-1,2,4,5,6,7,8,11,12,13,14,15,16,17-tetradekahydrospiro[cyklopenta[a]fenantren-3,2'-[1,3]dioksan]-11-yl]bifenyl-4-yl}(RS)(metyl)-λ⁴-sulfanyliden]-4-metylbenzensulfonamid



Analogt med eksempel 7a) ble det fra 800 mg av forbindelsen fremstilt under eksempel 9d) med kloramin-T-Trihydrat® i acetonitril fremstilt 715 mg av tittelforbindelsen.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 7,65-7,80 (6H); 7,47 d (2H); 7,30 d (2H); 7,18 d (2H); 4,45 s (1H); 4,39 dbr (1H); 3,40-3,60 m (4H); 2,87 (3H); 2,35 s (3H), 1,03 s (3H); 0,87 s (3H); 0,56 s (3H) (blanding av diastereomerer).

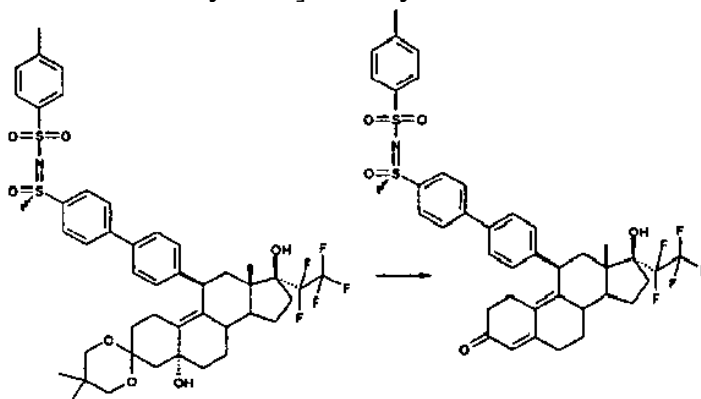
b) N-[{4'-[(5R,8S,11R,13S,14S,17S)-5,17-dihydroksey-5',5',13-trimetyl-17-(pentafluoretyl)-1,2,4,5,6,7,8,11,12,13,14,15,16,17-tetradekahydrospiro[cyklopenta[a]fenantren-3,2'-[1,3]dioksan]-11-yl]bifenyl-4-yl}(RS)(metyl)oksido-λ⁶-sulfanyliden]-4-metylbenzensulfonamid



Analogt med eksempel 7b) ble det fra 709 mg av forbindelsen oppnådd under eksempel 11a) ved omsetning med 30 % hydrogenperoksidløsning og natriumkarbonat i en blanding av acetonitril og metanol oppnådd 638 mg av tittelforbindelsen.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 8,04 d (2H); 7,87 d (2H); 7,78 d (2H); 7,50 d (2H); 7,35 d (2H); 7,27 d (2H); 4,46 s (1H); 4,40 dbr (1H); 3,40-3,60 m (4H); 3,46 s (3H); 2,39 s (3H); 1,07 s (3H); 0,87 s (3H); 0,56 s (3H) (blanding av diastereomerer).

c) N-[{4'-[(11β,17β)-17-hydroksy-3-okso-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-11-yl]bifenyl-4-yl}(RS)(metyl)-oksidol⁶-sulfanyliden]-4-metylbenzensulfonamid

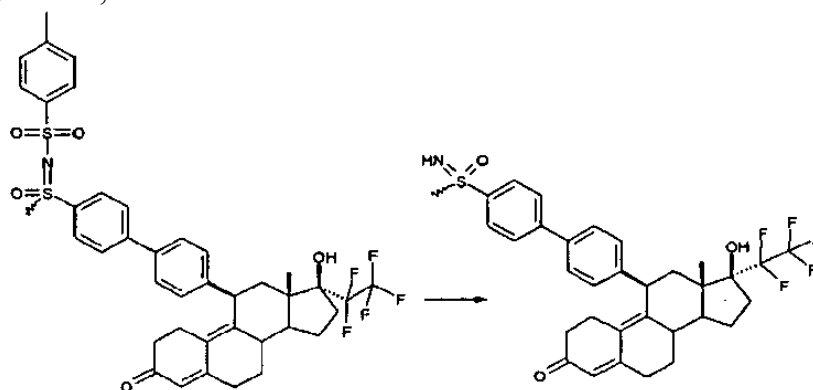


Analogt med eksempel 1c) ble det fra 633 mg av forbindelsen fremstilt under 11b) ved omsetning med halvkonsentrert svovelsyre i metanol fremstilt 523 mg av tittelforbindelsen.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 8,06 d (2H); 7,87 d (2H); 7,78 d (2H); 7,52 d (2H); 7,20-7,35 m (4H); 5,80 sbr (1H); 4,51 dbr (1H); 3,45 s (3H); 2,39 s (3H); 0,62 s (3H) (blanding av diastereomerer).

Eksempel 12

(11β,17β)-17-hydroksy-11-[4'-(RS-metylsulfonimidoyl)bifenyl-4-yl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on

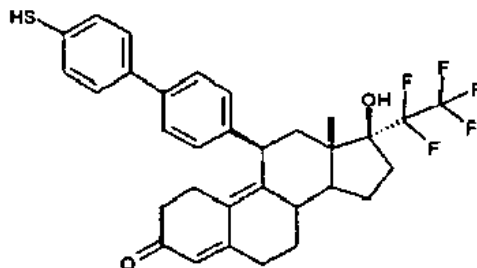


Analogt med eksempel 8 ble det fra 500 mg av forbindelsen fremstilt under eksempel 11c) ved omsetning med konsentrert svovelsyre i kloroform oppnådd 325 mg av tittelforbindelsen.

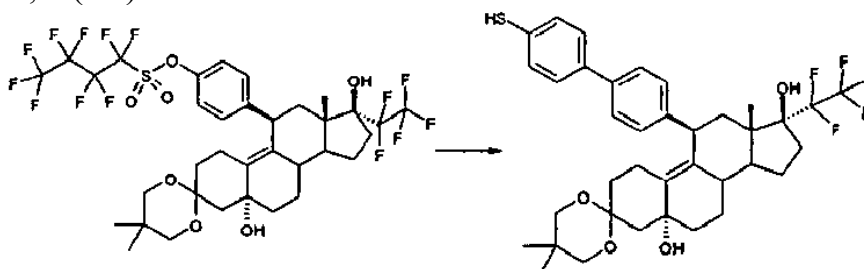
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 8,07 d (2H); 7,74 d (2H); 7,55 d (2H); 7,30 d (2H); 5,80 sbr (1H); 4,51 dbr (1H); 3,15 s (3H); 0,64 s (3H) (blanding av diastereomerer).

Eksempel 13

(11 β ,17 β)-17-hydroksy-17-(pentafluoretyl)-11-(4'-sulfanylbifenyl-4-yl)estra-4,9-dien-3-on



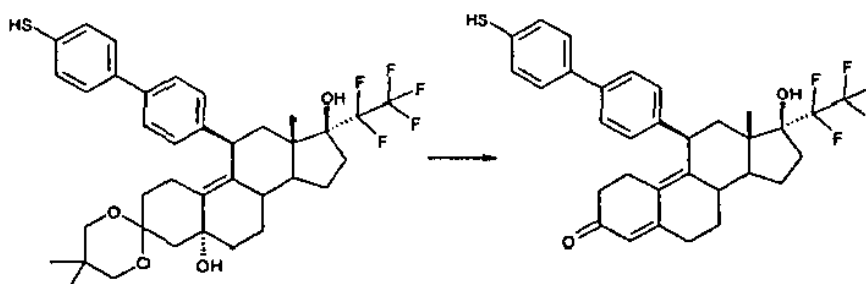
a) (5R,8S,11R,13S,14S,17S)-5',5',13-trimetyl-17-(pentafluoretyl)-11-(4'-sulfanylbifenyl-4-yl)-1,2,6,7,8,11,12,13,14,15,16,17-dodekahydrospiro[cyklopenta[a]fenantren-3,2'-[1,3]dioksan]-5,17(4H)-diol



Analogt med eksempel 9d) ble det fra 1 g av forbindelsen beskrevet under eksempel 9c) og (4-merkaptofenyl)boronsyre i nærvær av tetrakis(trifenylfosfin)palladium, litiumklorid, 2 molar vandig natriumkarbonatløsning i en blanding av toluen og etanol fremstilt 478 mg av tittelforbindelsen.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 7,14-7,32 m (8H); 4,42 s (1H); 4,30 dbr (1H); 3,40-3,60 m (4H); 1,05 s (3H); 0,88 s (3H); 0,54 s (3H).

b) (11 β ,17 β)-17-hydroksy-17-(pentafluoretyl)-11-(4'-sulfanylbifenyl-4-yl)estra-4,9-dien-3-on

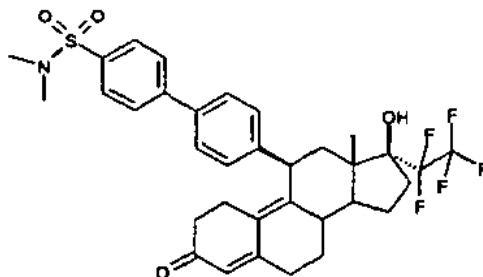


Analogt med eksempel 1c) ble det fra 200 mg av forbindelsen fremstilt under 13a) ved omsetning med halvkonsentrert svovelsyre i metanol fremstilt 103 mg av tittelforbindelsen.

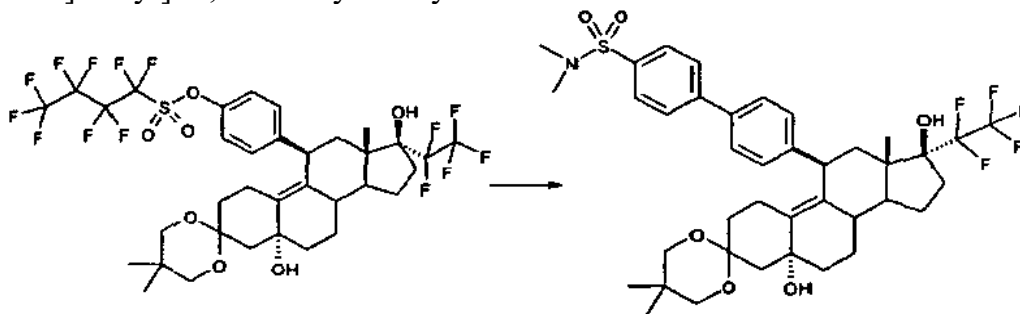
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 7,20-7,38 m (6H); 7,11d (2H); 5,78 sbr (1H); 4,42 dbr(1H); 0,61 s (3H).

Eksempel 14

- 5 4'-[(11 β ,17 β)-17-hydroksy-3-okso-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-11-yl]-N,N-dimetylbifenyl-4-sulfonamid



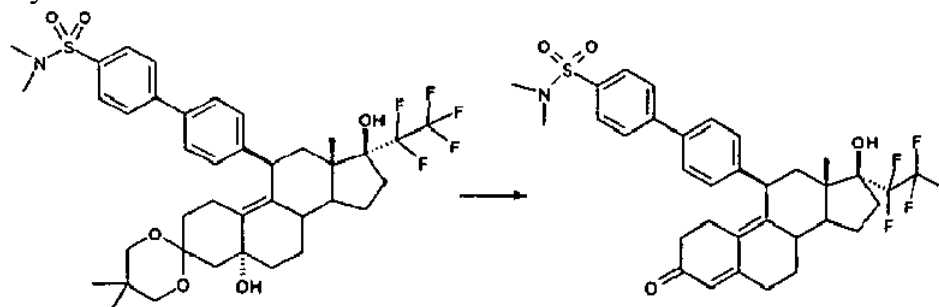
- 10 a) 4'-[(5R,8S,11R,13S,14S,17S)-5,17-dihydroksy-5',5',13-trimetyl-17-(pentafluoretyl)-1,2,4,5,6,7,8,11,12,13,14,15,16,17-tetradekahydrospiro[cyklopenta[a]fenantren-3,2'-[1,3]dioksan]-11-yl]-N,N-dimetylbifenyl-4-sulfonamid



- 15 Analogt med eksempel 9d) ble det fra 300 mg av forbindelsen beskrevet under eksempel 9c) og [4-[(dimetylamino)sulfonyl]fenyl]boronsyre i nærvær av tetrakis(trifenylfosfin)palladium, litiumklorid, 2 molar vandig natriumkarbonatløsning i en blanding av toluen og etanol fremstilt 235 mg av tittelforbindelsen.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 7,83 d (2H); 7,73 d (2H); 7,52 d (2H); 7,33 d (2H); 4,47 s (1H); 4,39 dbr (1H); 3,40-3,60 m (4H); 2,75 s (6H); 1,06 s (3H); 0,88 s (3H); 0,57 s (3H).

- 20 b) 4'-[(11 β ,17 β)-17-hydroksy-3-okso-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-11-yl]-N,N-dimetylbifenyl-4-sulfonamid

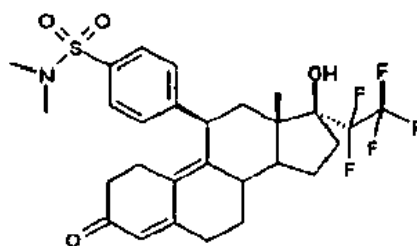


Analogt med eksempel 1c) ble det fra 230 mg av forbindelsen fremstilt under 14a) ved omsetning med halvkonsentrert svovelsyre i metanol fremstilt 113 mg av tittelforbindelsen.

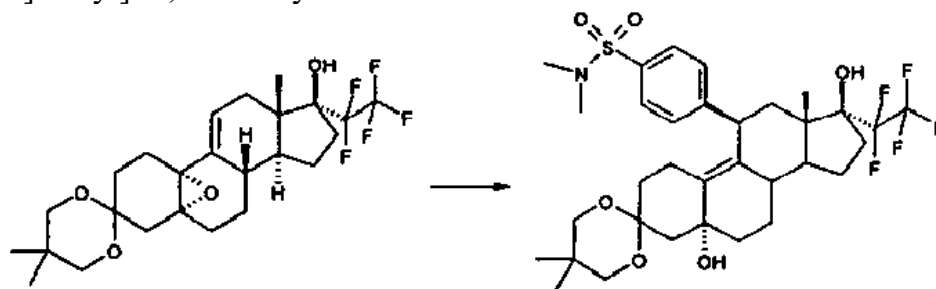
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ= 7,83 d (2H); 7,72 d (2H); 7,55 d (2H); 7,30 d (2H); 5,80 sbr (1H); 4,52 dbr (1H); 2,75 s (6H); 0,64 s (3H).

Eksempel 15

4-[(11β,17β)-17-hydroksy-3-okso-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-11-yl]-N,N-dimetylbenzensulfonamid



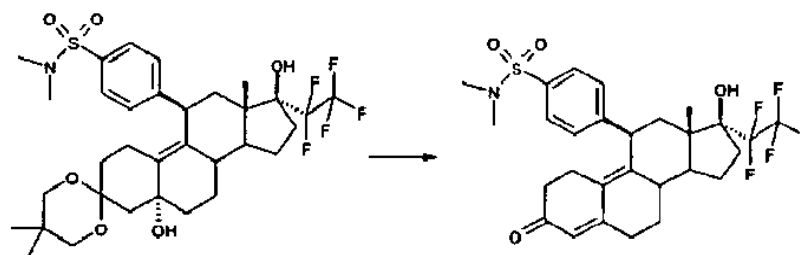
a) 4-[(5R,8S,11R,13S,14S,17S)-5,17-dihydroksy-5',5',13-trimetyl-17-(pentafluoretyl)-1,2,4,5,6,7,8,11,12,13,14,15,16,17-tetradekahydrospiro[cyklopenta[a]fenantren-3,2'-[1,3]dioksan]-11-yl]-N,N-dimetylbenzensulfonamid



5,1 ml av en 2 molar løsning av diisopropylmagnesiumklorid i dietyleter ble under kjøling (-10 °C) fortynnet med 10 ml THF. Deretter ble 8,12 ml av en 2,5 molar løsning av n-butyllitium i heksan dråpevis tilsatt ved -10 °C i løpet av 30 minutter. Man lot det etterrøre 2 timer og tilsatte så 15,1 mg CuCl. Etter at det var blitt etterrørt ytterligere 5 minutter, ble det tilsatt en løsning av 500 mg av substansen beskrevet under eksempel 1a) i 5 ml THF. Man lot det etterrøre 3 timer ved -10 °C og så langsomt varmet til 23 °C. Det ble rørt ytterligere 12 timer ved 23 °C. Deretter ble mettet vandig NH₄Cl-løsning tilsatt til reaksjonsblandingen under ekstern kjøling. Man etterrørte ytterligere 30 minutter og ekstraherte så flere ganger med etylacetat. De kombinerte organiske fasene ble vasket med mettet natriumkloridløsning og tørket over natriumsulfat. Råproduktet ble renset ved kromatografi på kiselgel. Man oppnådde 214 mg av tittelforbindelsen.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 7,65 d (2H); 7,40 d (2H); 4,45 s (1H); 4,38 dbr (1H); 3,40-3,60 m (4H); 2,69 s (6H); 1,03 s (3H); 0,89 s (3H); 0,49 s (3H).

b) 4-[(11β,17β)-17-hydroksy-3-okso-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-11-yl]-N,N-dimetylbenzensulfonamid



Analogt med eksempel 1c) ble det fra 100 mg av forbindelsen fremstilt under 15a) ved omsetning med halvkonsentrert svovelsyre i metanol fremstilt 74 mg av tittelforbindelsen.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ= 7,69 d (2H); 7,38 d (2H); 5,80 sbr (1H); 4,04 dbr (1H); 2,68 s (6H); 0,52 s (3H)

Eksempel 16 Progesteronreseptor-antagonistisk virkning i stabile transfektante humane neuroblastom-celler (SK-N-MC celler) med den humane progesteron A- eller progesteron B-reseptoren og en MTV-LUC reporterkonstrukt

SK-N-MC celler (humane neuroblastomceller), som er stabilt transfisert med plasmider, som uttrykker den humane progesteronreseptor-B (pRChPR-B-neo) eller den humane progesteronreseptor-A (pRChPR-A-neo) og en reporterkonstrukt (pMMTV-LUC), ble inkubert 24 timer enten i fravær (negativ kontroll) eller i nærvær av stigende mengder av den respektive testforbindelsen (0,01 nmol/l, 0,1 nmol/l, 1 nmol/l, 10 nmol/l, 100 nmol/l og 1 µmol/l), for å bestemme den agonistiske virksomheten. Som positiv kontroll av reporterengeninduksjonen ble cellene behandlet med det syntetiske gestagenet promegeston (0,01 nmol/l, 0,1 nmol/l, 1 nmol/l, 10 nmol/l, 100 nmol/l og 1 µmol/l). For bestemmelse av den antagonistiske aktiviteten ble cellene behandlet med 0,1 nmol/l promegeston og i tillegg med stigende mengder av den respektive testforbindelsen (0,01 nmol/l, 0,1 nmol/l, 1 nmol/l, 10 nmol/l, 100 nmol/l og 1 µmol/l). Aktiviteten av reporter-genet LUC (LUC = Luciferase) ble bestemt i cellelysaten og målt som RLU (Relative Light Units). Alle måleverdier blir angitt som % virksomhet og som EC₅₀ eller IC₅₀ konsentrasjoner.

Ved siden av testforbindelsen ble det som sammenligningsforbindelser testet 11β-(4-acetylphenyl)-20,20,21,21,21-pentafluor-17-hydroksy-19-nor-17α-pregna-4,9-dien-3-on og 20,20,21,21,21-pentafluor-17-hydroksy-11β-[4-(hydroksyacetyl)fenyl]-19-nor-17α-pregna-4,9-dien-3-on, svært potente og derfor foretrukne eksempler fra WO98/34947 og WO2008/058767.

a) agonistisk aktivitet:

Ingen av de nevnte testforbindelsene viser en agonistisk aktivitet.

b) antagonistisk aktivitet:

Alle nevnte forbindelser viser en 100 % antagonistisk virksomhet.

Den antagonistiske virkestyrken av forbindelsene er sammenfattet i tabell 1.

Forbindelse	Progesteronreseptor-A (PR-A)		Progesteronreseptor-B (PR-B)	
	Potens IC ₅₀ [nmol/l]	Virksomhet [%]	Potens IC ₅₀ [nmol/l]	Virksomhet [%]
11β-(4-Acetylfenyl)- 20,20,21,21,21-pentafluor-17- hydroksy-19-nor-17α-pregna-4,9- dien-3-on	0,014	100	0,02	100
20,20,21,21,21-pentafluor-17- hydroksy-11β-[4-(hydroksyacetyl)- fenyl]-19-nor-17α-pregna-4,9-dien- 3-on dien-3-on	0,18	100	0,28	100
eksempel 1	0,011	100	0,012	100
eksempel 2	0,01	100	0,01	100
eksempel 3	0,11	100	0,12	100
eksempel 4	0,096	100	0,087	100
eksempel 5	0,1	100	0,09	100
eksempel 6	0,2	100	0,23	100
eksempel 7	1,0	100	0,8	100
eksempel 8	0,9	100	0,9	100
eksempel 9	0,01	100	0,01	100
eksempel 10	0,011	100	0,013	100
eksempel 11	0,01	100	0,01	100
eksempel 12	0,08	100	0,08	100
eksempel 13	0,072	100	0,072	100
eksempel 14	0,01	100	0,01	100
eksempel 15	0,1	100	0,2	100

Eksempel 17 Abortivtest på hunnrotter

Virkingen av progesteron og progesteronreseptoren er grunnleggende forutsetninger for et vellykket svangerskap eller drektighet hos pattedyr. Den progesteronantagonistiske virkingen av forbindelsen ifølge oppfinnelsen og forbindelsene ifølge sammenligningseksemplene 1 og 8 ble testet på drektige rotter (6 rotter per gruppe) på dag 5 til 7 post coitum under tradisjonelle holde- og fôringsbetingelser. Etter vellykket paring, ble de drektige dyrene (foreliggelse av spermier i vaginalstrykning på dag 1 av svangerskapet = d1 p.c.) randomisert og delt opp på behandlings- og kontrollgruppen. Dyrene mottok så subkutan eller oralt hver 0,15; 0,5;

1,5 eller 5 mg/kg av testforbindelsen eller 1,0 ml/kg vehikkel (benzylbenzoat/ricinusolje: 1+4 [v/v]) daglig fra dag 5 til dag 7 (d5 - d7 p.c.).

Autopsien ble gjennomført på dag 9 (d9 p.c.). Som parameter for den progesteronreseptorantagonistiske virkningen ble livmoren undersøkt for foreliggelsen av nidasjonssteder. Derved ble den fullstendige mangelen, men også foreliggelsen av patologiske, hemoragiske eller ellers abnorme nidasjonssteder på dag 9 (d9 p.c.) vurdert som abort. Resultatene av testen er fremstilt i tabell 3.

Tab. 3: Resultater på rotten (terminering av det tidlige svangerskapet)

Testforbindelse ifølge	Dagsdose [mg/kg] s.c. eller p.o.	Abortrate [%]
Vehikkel		0
Eksempel 1 (11 β ,17 β)-17-hydroksy-11-[4-(metylsulfanyl)fenyl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on	0,5	80
	1,5	100
	5,0	100
Eksempel 4 (11 β ,17 β)-17-hydroksy-11-[4-(metylsulfonyl)fenyl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on	0,15	40
	0,5	100
	1,5	100
	5,0	100
Eksempel 8 (11 β ,17 β)-17-hydroksy-11-[4-(RS-metylsulfonimidoyl)-fenyl]-17-(pentafluor-etyl)estra-4,9-dien-3-on	0,15	40
	0,5	100
	1,5	100
	5,0	100

Eksempel 18) Metabolsk stabilitet av (11 β ,17 β)-17-hydroksy-11-[4-(metylsulfonyl)fenyl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on og (11 β ,17 β)-17-hydroksy-11-[4'-(metylsulfonyl)-bifenyl-4-yl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on i humane levermikrosomer (HLM)

Det ble anvendt isolerte humane levermikrosomer (HLM) for vurdering av den metabolske stabiliteten av forbindelser ifølge eksemplene.

Inkubasjonene ble gjennomført med 2,4 ml HLM-løsning (0,5 mg/ml proteininnhold), 30 μ l av testforbindelsen (sluttkonsentrasjon 1 μ M) og 0,6 ml av kofaktorblandingen (=NADPH-genererende system av 3 IU glukose-6-fosfatdehydrogenase, 14,6 mg glukose-6-fosfat, 1,2 mg NADP) ved 37 °C i 100 mM fosfatbuffer ved pH 7,4. På 6 tidspunkter (2 - 60 min) blir det tatt ut prøver, felt med likt volum metanol og gjenvinningen av de anvendte testsubstansene i supernatanten ble bestemt ved hjelp av LC-MS/MS-analytikk. Fra halveringstiden for substansnedbrytningen bestemt derfra kan man beregne den egentlige clearance av substansen levermikrosomansatsen. Med hjelp av denne kan en så ved utnyttelse av forskjellige fysiologiske parametere ifølge den godt-omrørte modellen

forutsi en (metabolsk) in vivo clearance med hensyn til fase I reaksjoner. Den tilsvarende for testforbindelsene (11 β ,17 β)-17-hydroksy-11-[4-(metylsulfonyl)fenyl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on og (11 β ,17 β)-17-hydroksy-11-[4'-(metylsulfonyl)bifenyl-4-yl]-17-(pentafluoretyl)-estra-4,9-dien-3-on forutsagte (metabolske) in vivo Clearance i mennesker var svært lav med hhv. 0,1 l/h/kg og < 0,01 l/h/kg.

Eksempel 19) Permeasjon av (11 β ,17 β)-17-hydroksy-11-[4-(metylsulfonyl)fenyl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on i Caco-2 celler.

For permeasjonsstudiene ble Caco2 cellene med et celletall på 300000 celler/ml kultivert på Transwell Clear filterinnsatser (polyester; porestørrelse 0,4 μ m) i 12 hull-cellekulturplate i minst 14 dager i cellekulturmedium (1,5 ml) ved 37 °C, 5 % CO₂ og 95 % luftfuktighet. Før forsøket ble den transepiteliale motstanden (TEER-verdi) bestemt for etterprøving av "tettheten" av cellemonolaget, som må være større enn 300 Ω cm². Deretter ble cellekulturmediet byttet mot varm transportbuffer (0,5 ml apikal, 1,5 ml basolateral) og cellene deri brakt til likevekt i 5 min. Permeabilitetsforsøket ble gjennomført i dobbeltbestemmelse ved en substanskonsentrasjon på 2 μ M. Til begynnelsen av forsøket ble 100 μ l (Ap0min) tatt ut fra det apikale kompartiment og umiddelbart blandet med 100 μ l iskald stoppløsning. Filteret ble deretter inkubert ved 37 °C under myk risting i 90 min, deretter ble igjen 100 μ l tatt ut fra den apikale siden (Ap90min) og 400 μ l fra den basolaterale siden (Bas90min) og i hvert tilfelle blandet med likt volum av stoppløsning. Etter ytterligere fortynning av prøvene med det 4-doble volumet stopplsg/transportbuffer (1+1) ble de felt ut over natten ved -20 °C og supernatanten analytisk målt ved hjelp av LCMS/MS. Ved hjelp av formelen gitt under ble Papp-verdien for substansene beregnet.

$$P_{app} = \frac{V_{res}}{A \cdot C_{t0, don}} \cdot \frac{\Delta C_{res}}{\Delta t}$$

V_{res} : Buffervolumen på reseptorsiden; A: Filterflate = 1 cm²; $C_{t0, don}$: substanskonsentrasjon på donorsiden; $\Delta C_{res}/\Delta t$: Endring av substanskonsentrasjonen over tiden på reseptorsiden

(11 β ,17 β)-17-hydroksy-11-[4-(metylsulfonyl)fenyl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on viste i denne analysen en svært høy permeasjon på 104 nm/s.

Eksempel 20) Undersøkelse av virkningen på hjerte-kar-systemet (inkl. EKG) Beagle hunder gitt narkose

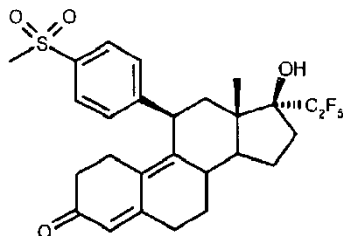
(11 β ,17 β)-17-hydroksy-11-[4-(metylsulfonyl)fenyl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on ble løst i en blanding av PEG 400 og HP- β -CD (60 % PEG 400, 40 % HP- β -CD 30 %) intravenøst administrert til hunn Beagle-hunder som var gitt narkose. Kroppsvekten

til hundene var > 9 kg. Per gruppe ble 3 hunder behandlet og i tillegg 3 hunder i kontrollgruppen. Substansen ble gitt i 3 etterfølgende infusjoner i hvert tilfelle over 30 minutter 0,1; 0,33 og 1 mg/kg. Den maksimale mengden vehikkel var 0,4 ml per kg over 30 minutter. Til forskjellige tidspunkter ble det tatt blodprøver av dyrene. Det høyeste plasmanivået (gjennomsnitt over alle 3 dyrene) var ved slutten av den tredje infusjonen 1650 ng/ml.

I det testede doseområdet ble det, sammenlignet med kontrollen, ikke observert noen biologisk relevante virkninger på hjerte-kar-systemet (pulmonalt arterielt blodtrykk, systemisk arterielt blodtrykk, hjerterefrekvens, EKG).

P a t e n t k r a v

1. (11 β , 17 β)-17-hydroksy-11-[4-(metylsulfonyl)fenyl]-17-(pentafluoretyl)estra-4,9-dien-3-on med formel



5

eller salter derav.

2. Legemiddel som inneholder en forbindelse som definert i krav 1, i kombinasjon med et inert, ikke toksisk, farmasøytisk egnet hjelpestoff.