

# EKVILIN SAVAS IZOMERIZÁLÁSÁVAL ELŐÁLLÍTOTT EKVILIN KETTŐS KÖTÉS IZOMER

## K I V O N A T

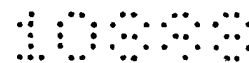
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁN

(VI) képletű  $\Delta^9(11)$ -dehidro-8-izoösztron és gyógyszerészeti-  
leg alkalmazható sói.

A találmány vonatkozik a vegyület előállítására szolgáló eljárásra, a vegyületet tartalmazó gyógyszerkészítményre és a vegyületek alkalmazására a csontfelszívódás és -képződés egyensúlyának módosítására szolgáló gyógyszerkészítmény előállítására.

*Dr.*

*gyógyászati alkalmazás: (VI)*



## **EKVILIN SAVAS IZOMERIZÁLÁSÁVAL ELŐÁLLÍTOTT EKVILIN KETTŐS KÖTÉS IZOMER**

A találmány tárgya (VI) képletű  $\Delta 9(11)$ -dehidro-8-izoösztion, amelyet  $8\alpha$ -3-hidroxi-ösztion-1,3,5(10),9(11)tetraén-17-onnak is nevezhetünk. A találmány a vegyület előállítására szolgáló eljárásra, az említett (VI) képletű  $\Delta 9(11)$ -dehidro-8-izoösztion tartalmozó gyógyszerkészítményekre és az említett (VI) képletű  $\Delta 9(11)$ -dehidro-8-izoösztion felhasználására is vonatkozik a csontképződés és a csontfelszívódás közötti egyensúly módosítására, valamint gazdaállatban, beleértve az embert is, antioxidánsként.

Az oszteoporózis a csontváz rendellenessége, amely abban nyilvánul meg, hogy a csont sűrűsége az egész testben csökken. Tulajdonképpen lassan csökken mind a csont ásványi anyaga (kálcium-foszfát, amelyet "hidroxi-apatit"-nak neveznek), mind a csont mátrix (a fő fehérjét "kollagénnek" nevezzük). Ez az állapot embereknél már 30 éves korban is megkezdődhet. Általában a folyamat gyorsabb menopauza utáni nőknél, mint férfiaknál. 80 év felett azonban a nemek között már nincs különbség az oszteoporózis előfordulásában. 10-20 éves csontvesztés folyamatán hátfájás tünetek fordulhatnak elő, valamint a gerinc deformációjának röntgensugaras kimutatása is lehetséges. Idősebb korban a csontok törékenysége által nyilvánul meg, hogy a proximális femur (combnyak) nagyon könnyen eltörik. A 45 évnél idősebb embereknél előforduló csonttörések leggyakoribb oka az oszteoporózis.

Habár az oszteoporózis pontos oka nemigen ismeretes, feltételezések szerint megbomlik az egyensúly a csontképződés és a csontfelszívódás (csontlebonlás) között. A csont az állatok teljes élete során dinamikus szövet marad. Ez azt jelenti, hogy új csont képződik folyamatosan és a régi csont folyamatosan felszívódik. Az oszteoporózis állapotban szenvedő állatoknál azonban a teljes csontfelszívódás nagyobb, mint a csontképződés.

Egy tanulmány szerint az Egyesült Államokban 15-20 millió ember szenvedhet oszteoporózisban [lásd W.A. Peck (chairman) NIH Osteoporosis Consensus Conference, J. Am. Med. Assoc., 10, 252:799-802 (1984)]. A különböző speciális, oknak feltételezett állapotok függvényében különböző fajta oszteoporózist különböztetnek meg: időskori (öregedési); menopauza utáni (nőknél csökken az ösztrogenezis); használati hiánya (krónikus helyhez kötöttség); szteroid (hosszú távú szteroidkezelés, például arthritis miatt). Az oszteoporózis fogproblémákban is megnyilvánulhat, mivel az állkapocs valószínűleg az összes többi csontnál gyorsabban veszti el tömegét. Az oszteoporózis egyik korai jele lehet tehát, ha a fogakkal kapcsolatos betegség, beleértve a felnőtt fog elvesztését, jelentkezik.

A csontvesztés mechanizmusa jelenleg kevésbé érthető. Ezen kívül a jelenleg rendelkezésre álló kezelési eljárások általában nem kielégítőek. Ezen kívül megemlítjük az anabolikus szereket, a különböző foszfor, D-vitamin, kalciumsó, fluorid és kalcitonin tartalmú gyógyszereket.

A menopauza utáni nők oszteoporózisa kezelésére elsősorban az ösztrogénpótló terápiát alkalmazzák.

A fizikai terápia egy másik gyakran használt eljárás oszteoporózis kezelésére, hiszen a mozgáshiány bármely életkorban oszteoporózist okozhat. Sok orvos hiszi, hogy a testgyakorlás és a

fizikai terápia megakadályozhatja a betegség előrehaladását idősebb betegeknél. A fizikai terápia azonban káros lehet a töréses betegeknél, továbbá a túlterhelő gyakorlatok a súlyos oszteoporózisban szenvedő betegeknél töréseket okozhatnak.

Az egyéb ismert kezelési módszerek közül megemlítjük még a fluoridsók, például nátrium-fluorid adagolását, amely klinikailag igazoltan elősegíti a csontnövekedést, valószínűleg azért, hogy a kollagénszintézist stimulálja. Ennek súlyos mellékhatása azonban a gyengén meszesedett, szabálytalan csontnövekedés. Ugyancsak ismert kezelés a kalcium és D-vitamin injekció a kalciumhiány vagy a gátolt kalciumfelszívódás ellensúlyozására, amelyek néhány idősebb betegnél tünetként jelentkeznek. Nincs azonban bizonyíték arra, hogy a nagyobb kalciumbevitel megelőzné az oszteoporózist vagy növelné felnőtteknél a csont tömegét.

Az oszteoporózis kezelésében a legígéretesebb gyógyászati eljárás olyan szerek adagolása, amelyek a csontképződés sebessége és a csontfelszívódás sebessége közötti egyensúlyt módosítják, oly módon, hogy az előző aránya növekedjen az utóbbihoz viszonyítva, azzal az eredménnyel, hogy megszűnne a nettó csontveszteség. Miután a korábban kialakult csontveszteséget pótolják, egy olyan állandósult állapot érhető el, amelyben a csontképződés sebessége megegyezik a csontfelszívódás sebességével. Az ilyen módosulás úgy érhető el, hogy a csontlerakódás, vagyis a csontképződés fiziológiai mechanizmusát stimulálják, vagy késleltetik a csontfelszívódás mechanizmusát, vagy mindkettőt egyszerre. Az ilyen célra használt vagy ilyen célra kísérleti stádiumban lévő gyógyszerek közül megemlítjük a foszfonátokat, a kalcitonint és a mitramicint. Valamennyi említett hatóanyag azonban komoly hátrányokkal is rendelkezik.

A mitramicin, amely egy antibiotikum, daganatellenes hatású és hipokalcémiás hatású, amely a szérumban a kalcium csökkenését okozza, amelyről pedig feltételezik, hogy a csontfelszívódás relatív sebességének csökkenését jelzi (vagyis a csontképződéshez viszonyított csontfelszívódási sebességét). A mellékhatások közé tartozik azonban a vese és máj toxicitás, valamint a hányinger. Hasonlóképpen a szerves foszfonátoknak is mellékhatásaik vannak, ezek közül a csontvázon kívüli meszesedést, a csökkentett vérnyomást és vesekárosodást említjük. A kalcitoninnal immunológiai problémák jelentkezhetnek, mivel az általában nem emberi forrásból származik. Tehát az említett szerek egyike sem alkalmas önmagában az oszteoporózis kezelésére.

Maga az ekvilin ismert [lásd Budavari S (1989). *The Merck Index*, 11. kiadás, Merck & Co. Inc., Rahway, New Jersey, 3582. oldal]. Ugyancsak ismert egy másik ekvilin izomer, a 3-hidroxi-ösztro-1,3,5(10),9(11)tetraén-17-on, amelyet D9(11)-dehidro-ösztro-1,3,5(10),9(11)tetraén-17-on néven is szoktak említeni és a (II) képlettel ábrázolható [lásd Magerlein BJ, Hogg JA (1958). *J. Am. Chem. Soc.* 80:2220-2225]. Hasonló témával foglalkoznak még a következő irodalmi helyeken: Schering A-G (Weiske R) (1964). *Ger Offen* 1,177,636. *Chem. Abstr.* 61:14748h; és Collins DJ, Sjövall J (1983). The structure and function of oestrogens. IV. Synthesis of 17 $\alpha$ -ethynyl-17 $\beta$ -estradiol specifically polydeuterated in ring C., *Aust. J. Chem.* 36:339-360.

A találmány (VI) képletű  $\Delta$ 9(11)-dehidro-8-izoösztro-1,3,5(10),9(11)tetraén-17-onra és gyógyászati lág alkalmazható sóira vonatkozik.

Ez a (VI) képletű, találmány szerinti vegyület az ekvilin, vagyis a (III) képlettel ábrázolható  $\Delta$ 7-dehidro-ösztro-1,3,5(10),9(11)tetraén-17-on, egy kettős kötés izomerje. A találmány szerinti vegyületet ekvilinből állítjuk elő erős savval aprotikus közegben.

A találmány szerinti (VI) képletű vegyület a következőkre használható:

1. ösztrogénhiány által kiváltott csontveszteség kezelésére vagy megelőzésére;
2. szív-érrendszeri vérlemezke-képződés csökkentésére, és így a mortalitás csökkentésére;
3. menopauza utáni ösztrogénhiány tüneteinek, például de nem kizárólag vazomotoros hőhullámok, depresszió és álmatlanság enyhítése;
4. vizelet-inkontinencia megelőzése;
5. fogászati betegségek kezelése;
6. antioxidánsként.

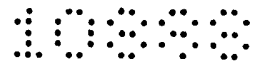
A találmány további célja olyan eljárás megalkotása, amelynél oszteoporózisban szenvedő gazdaállatot, beleértve az embert is, kezelünk, annak érdekében, hogy módosítsuk a gazdaállatban a csontlerakódás és a csontfelszívódás sebességének arányát, oly módon, hogy az utóbbinak az előbbihez való arányát csökkentjük.

A találmány további célja olyan eljárás kidolgozása, amelynél egy gazdaállatot kezelünk annak érdekében, hogy megelőzzük az állatban a meglévő egészséges csontszövetek károsodását. Lehetőséges, hogy ezek a szerek használhatók rosszindulatú hiperkalcémia, a Paget-féle betegség és arthritisek kezelésére is.

A találmány további célja eljárás fogászati betegségek kezelésére.

A találmány további célja a találmány szerinti (VI) képletű vegyület alkalmazása antioxidánsként.

A találmány szerinti (VI) képletű vegyületet önmagában vagy gyógyászatilag alkalmazható vivőanyagokkal együtt alkalmazzuk, ez utóbbiak arányát a vegyület oldhatóságának, kémiai tulajdonságai-



nak, az adagolás módjának és a szokásos orvosi gyakorlatnak a függvényében határozzuk meg. Például az adagolás történhet orálisan, kapszula, tablettá, szuszpenzió vagy oldat formájában, vagy történhet parenterális injekció formájában. Az adagolást előnyösen kapszulában vagy tablettában végezzük. Parenterális adagolás esetén használhatunk steril oldatot, amely egyéb oldott anyagot is tartalmazhat, például annyi só vagy glükóz, amellyel az oldat izotóniás lesz.

A kapszula vagy tablettá alakú készítmények a hatóanyagot nem toxikus gyógyszerészeti vivőanyagokkal együtt tartalmazzák, amelyek a kapszula vagy tablettá gyártásnál ismertek. A megfelelő gyógyszerészeti vivőanyagok közül példaként megemlítjük a keményítőt, tejcukrot, bizonyos agyagfajtákat és hasonlókat. A tabletták lehetnek bevonat nélküliek vagy ismert eljárással bevonva, úgy hogy a bevonat késleltetheti a szétesést, vagy a gyomor-bélrendszerben való felszívódást, és ezáltal nyújtott, hosszabb ideig tartó hatást érhetünk el.

A (VI) képletű vegyület vizes szuszpenziói a hatóanyagot egy vagy több nem toxikus, a vizes szuszpenziók gyártásánál ismert vivőanyaggal összekeverve tartalmazzák. Az ilyen vivőanyagok közül példaként megemlítjük a metil-cellulózt, a nátrium-alginátot, akácigumit, lecitint és hasonlókat. A vizes szuszpenziók tartalmazhatnak egy vagy több konzerválószeret, egy vagy több színezőanyagot, egy vagy több illatosító és egy vagy több édesítőszeret is.

Nem vizes szuszpenziót úgy készíthetünk, hogy a hatóanyagot valamely növényi olajban, például mogyoróolajban, olívaolajban, szezámolajban vagy kókuszdióolajban, vagy valamely ásványi olajban, például folyékony paraffinban szuszpendáljuk, a szuszpenzió tartalmazhat sűrítőszeret, például méhviaszt, kemény paraffint vagy

cetil-alkoholt is. Ezek a készítmények ugyancsak tartalmazhatnak édesítőszeret, ízesítőszeret és antioxidánst is.

A (VI) képletű vegyület adagolása függ az adagolás módjától és az adott választott vegyülettől. Ezen kívül függ a kezelendő személytől, annak életkorától, testtömegétől és állapotától, valamint a tünetek jellegétől és mértékétől. A kezelést általában kis adagokkal kezdjük, amelyek lényegesen alacsonyabbak, mint a vegyület optimális dózisa. Ezután a dózist fokozatosan kissé megnövelve érjük el azt az optimális hatást, amely a körülmények között lehetséges. Általában a találmány szerinti vegyületeket legelőnyösebben olyan koncentrációban adagoljuk, amellyel általában jó hatást érünk el káros mellékhatások nélkül. Például orális adagolásnál a vegyületből a hatékony mennyiség általában kb. 200 mg és 1200 mg/nap közötti, ezt adagolhatjuk egyszerre vagy többszörre elosztva, ettől - amint fentebb már említettük -, eltérés is lehetséges. Orális adagolás esetén azonban a kb. 500 és 900 mg/nap közötti dózissal, amelyet adagolhatunk egyszerre vagy több részre elosztva, érjük el a leggyakrabban a jó eredményeket. A (VI) képletű  $\Delta^9(11)$ -dehidro-8-izoöszt-ront embernek napi 200-1200 mg közötti dózisban adagoljuk.

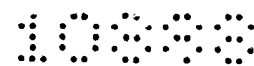
A következőkben néhány példával illusztráljuk a találmány szerinti vegyület előállítását és vizsgálatát. A példák semmiképpen sem jelenthetik a találmány oltalmi körének korlátozását. A példákban a hőmérsékletet °C-ban adjuk meg.

### 1. példa

#### **Általános eljárások**

Az olvadáspontot (o.p.) Thomas-Hoover Capillary olvadáspontmérő készülékkel határoztuk meg és nem korrigáltuk. A fajlagos forgatóképességet ( $[\alpha]_D$ ) Perkin-Elmer 241-es típusú polariméterrel





és mikrocellával határoztuk meg szobahőmérsékleten. Ha másként nem jelezzük, a koncentráció dioxánban kb. 1 %-os volt. Az ultraibolya (UV) spektrumot Hewlett-Packard 8452 típusú diódás elrendezésű spektrofotométerrel vettük fel USP minőségű alkoholban. Az infravörös (IR) spektrumot KBr pasztillában vettük fel Nicolet 20DX FTIR spektrométerrel. Az  $^1\text{H}$  magmágneses rezonancia (NMR) spektrumot Bruker AM 400 spektrométerrel vettük deuterio-kloroformban, ha másként nem jelezzük, és azt part/million eltolódásként adjuk meg tetrametil-szilántól. A tömegspektrumot (MS) Finnigan-MAT 8230-as típusú kettős fókuszáló mágneses szektorral rendelkező készülékkel, vagy egy Hewlett-Packard 5995 típusú egyszerű kvadripollal rendelkező készülékkel vettük fel elektronütközéses ionizációval.

**(I) képletű  $\Delta 8(9)$ -dehidro-ösztron [3-hidroxi-ösztra-1,3,5(10),8,(9)-tetraén-17-on] előállítása**

500 ml-es 125 ml folyékony hidrogén-fluoridot tartalmazó polietilén edénybe keverés közben  $-50\text{ }^\circ\text{C}$ -on 5 g (18,7 mmól) (III) képletű ekvilint adunk. A reakcióelegyet  $-50\text{ }^\circ\text{C}$ -on 24 órán keresztül keverjük, majd 2 l jeges vízre öntjük. A kapott szilárd anyagot leszűrjük, vízzel mossuk és vákuumban foszfor-pentoxid felett megszárítjuk. 4,8 g nyers terméket kapunk (kitermelés: 96 %), ezt gázkromatográfiás eljárással elemezzük (a The United States Pharmacopeia 22. kiadás suppl. 1 (1990) irodalmi helyen ismertetett eljárással). Eszerint a termék 90 %-ban (I) képletű 3-hidroxi-ösztra-1,3,5(10),-8,(9)-tetraén-17-onból és 10 % más termékből [(VI) képletű vegyületből] áll. Ezt a nyers terméket forró benzol/hexán 1:1 térfogatarányú elegyből átkristályosítottuk, de így nem sikerült eltávolítani a (VI) képletű vegyületet. 500 mg nyers terméket kromatográfiás eljárással

két részletben tisztítottunk Sephadex LH-20-as kolonnán (5x50 cm, amely 47 cm magasságig töltött), eluensként ciklohexán, benzol és metanol 500:150:75 térfogatarányú elegyét használtuk (a kromatográfiás eljárást a Krol GJ, Masserano RP, Carney JF, Kho BT (1970) irodalmi helyen ismertetett módon végeztük. Az áramlási sebesség 4 ml/perc, az eluenst 270 nm-nél detektáltuk. Néhány frakciót összegyűjtöttünk és gázkromatográfiás eljárással megvizsgáltunk. Az (I) képletű vegyületet tartalmazó frakció kb. 2350 ml-nél eluálódik. A hasonló összetételű és tisztaságú frakciókat egyesítettük és szárazra pároltuk. 350 mg (I) képletű vegyületet kaptunk, amely már mentes volt a másik (VI) képletű vegyülettől. Ezt a kromatografált anyagot tovább tisztítottuk úgy, hogy a vegyületet feloldottuk forró benzolban, majd a zavarosságig hexánt adtunk hozzá. Az oldatot hagyjuk szobahőmérsékletre lehűlni, majd 24 órán keresztül 4 °C-on tartottuk. A kapott terméket leszűrtük, levegőn megszárítottuk és forró etanolban feloldottuk. A forró oldathoz aktív szenet adtuk, majd leszűrtük és a zavarosodásig forró vizet adtunk a szűrlethez. Az elegyet szobahőmérsékletre lehűtöttük, majd 60 órán keresztül 4 °C-on állni hagytuk, leszűrtük és levegőn megszárítottuk. 300 mg tiszta (I) képletű vegyületet kaptunk, amelynek olvadáspontja 229-230 °C-on, bomlik (olvadás előtt bíborszínű). A spektrum és egyéb adatokat az 1. táblázatban adjuk meg.

A (VI) képletű terméket tartalmazó frakciókat további feldolgozáshoz megőriztük.

### **(II) képletű $\Delta^9(11)$ -dehidro-ösztroon [3-hidroxi-ösztroon-1,3,5(10),9(11)-tetraén-17-on] előállítás**

500 ml-es polietilén reakcióedénybe 150 ml folyékony hidrogén-fluoridot adunk, majd 0 °C-on keverés közben hozzáadunk 6 g

(22,4 mmól) (III) képletű ekvilint. Az elegyet 0 °C-on fél órán keresztül keverjük, majd 50 ml-t kiveszünk és 1 l jeges vízre öntünk. A kapott szilárd anyagot leszűrjük, vízzel mossuk és vákuumban foszfor-pentoxid felett megszárítjuk. A nyers terméket gázkromatográfiás eljárással vizsgáljuk (a The United States Pharmacopeia 22. kiadás suppl 1 (1990) irodalmi helyen ismertetett eljárással), eszerint a termék három komponensből áll: 38 % (II) képletű 3-hidroxi-ösztro-1,3,5(10),9(11)-tetraén-17-on, 55 % (I) képletű 3-hidroxi-ösztro-1,3,5(10),8,(9)-tetraén-17-onból és 7 % ugyanaz a (VI) képletű vegyület, amelyet az (I) képletű vegyület előállításánál is kaptunk. A reakcióelegy többi részét 0 °C-on még egy órán keresztül keverjük, majd további 50 ml-t kiveszünk belőle. Ezt a fentiek szerint megelemezük, a gázkromatográfiás eljárás szerint ugyanazt a három komponenst tartalmazza a következő arányban: 55 % (II) képletű 3-hidroxi-ösztro-1,3,5(10),9(11)-tetraén-17-on, 40 % (I) képletű 3-hidroxi-ösztro-1,3,5(10),8,(9)-tetraén-17-on, és 5 % ugyanolyan (VI) képletű vegyület, amelyet az (I) képletű vegyület előállításánál is kaptunk. A visszamaradó 50 ml reakcióelegyet még 2 órán keresztül keverjük 0 °C-on, majd ismét feldolgozzuk a fentiek szerint. A gázkromatográfiás elemzés szerint a nyers termék 100 %-ban (II) képletű 3-hidroxi-ösztro-1,3,5(10),9(11)-tetraén-17-onból áll. Ezt az 1,6 g anyagot (kitermelés: 80 %) 60 ml forrásban lévő metanol/aceton 2:1 térfogatarányú oldószer elegyben feloldjuk és aktív szenet adunk hozzá. Az oldatot forrón leszűrjük az aktív szén eltávolítására, és a még mindig forrásban lévő oldathoz 10 ml desztillált vizet adunk. A reakcióelegyet hagyjuk szobahőmérsékletre lehűlni, majd 48 órán keresztül 4 °C-on tároljuk. A kapott terméket leszűrjük és levegőn megszárítjuk. 1,2 g tiszta (II) képletű 3-hidroxi-ösztro-1,3,5(10),9(11)-tetraén-17-

ont kapunk. O.p.: 255-257 °C (bomlik). A fizikai jellemzőket az 1. táblázatban adjuk meg.

**(VI) képletű  $\Delta 9(11)$ -dehidro-8-izoösztion [ $8\alpha$ -3-hidroxi-ösztion-1,3,5(10),9(11)tetraén-17-on] előállítása**

Az (I) képletű vegyület előállításából származó (VI) képletű vegyületet tartalmazó frakciókat egyesítjük és azonos kolonnán és eluláló oldószerrel ismét kromatográfiás eljárásnak vetjük alá. A frakciókat kinyerjük és gázkromatográfiás eljárással analizáljuk. A (VI) képletű vegyületet tartalmazó tiszta frakciókat egyesítjük, szárazra pároljuk és etanol/víz elegyből átkristályosítjuk. 120 mg terméket kapunk, amelynek olvadáspontja 243,5-244,5 °C (bomlik). A spektrumokat és egyéb adatokat az 1. táblázatban adjuk meg.

Az eredményeket a következőképpen értelmezhetjük.

Jacquesy (lásd Jacquesy JC, Joly G, Gesson JP (1972)) megállapítása szerint 0 °C-on a (II) képletű  $\Delta 9(11)$ -dehidro-ösztion az egyetlen termék, és -30 °C-on az (I) képletű vegyület az egyetlen termék. A berendezés hiányosságai miatt az (I) képletű vegyületet -50 °C-on állítottuk elő. A -50 °C-on előállított nyers reakciótermék analízise szerint az (I) képletű vegyület az ismeretlen (VI) képletű vegyülethez viszonyítva (amely sem nem kiindulási vegyület, sem nem (II), sem nem (IV) képletű vegyület) 9:1 arányban van jelen. Ezen kívül ha a 0 °C-on végzett reakciót a reakció teljessé válása előtt leállítjuk, különböző arányban (I), (II), (VI) képletű vegyületet kapunk. A (VI) képletű vegyületet folyadékmegosztásos kromatográfiás eljárással választottuk szét nagy Sephadex LH-20 kolonnán (a Krol GJ, Masserano RP, Carney JF, Kho BT (1970) irodalmi helyen ismertetett módon. A (VI) képletű vegyületet megelemeztek tömeg-

spektrométeres, infravörös, ultraibolya és  $^1\text{H-NMR}$  kromatográfiás eljárással. Az analízis eredményéből azt a következtetést vonjuk le, hogy a (VI) képletű vegyület egy ekvilin izomer. A Jacquesy-féle izomerizációs reakcióval kapcsolatos elméleti fejtegetés alapján azt gondoltuk, hogy a (VI) képletű vegyület megfelel az (V) képletű 3-hidroxi-ösztro-1,3,5(10),8,(14)-tetraén-17-onnak ( $\Delta^8(14)$ -dehidro-ösztro).

A (VI) képletű vegyület magmágneses rezonancia spektrumában azonban egy proton multipliett található 6,00 ppm  $\delta$ -nál ( $\text{CDCl}_3$ ), ez pedig egy viniles protont mutat. Ezen kívül a (VI) képletű vegyület  $^1\text{H-NMR}$  spektruma hasonló a (II) képletű vegyületéhez. Mindkettőben található egy vinil-proton multipliett 6 ppm  $\delta$  közelében ( $\text{CDCl}_3$ ), és mindkettőnél hasonló az aromás színkép. Az (I) képletű vegyület aromás színképe azonban lényegesen eltér a (VI) képletű vegyületétől. Mivel egy 8-14 helyzetű kettős kötésű izomerben nincs vinil-proton, az (V) képletet elvetettük és helyette 9-11 helyzetű kettős kötés izomert tételeztünk fel, amelyben a 8-as és/vagy 14-es helyzetben lévő protonnak ellenkező az orientációja, mint a (II) képletben (lásd a (VI), (VII) és (VIII) képletet, amelyek valamennyien a 9-11 helyzetben tartalmazznak kettős kötést, és csak a 8-as és 14-es helyzetben térnek el egymástól).

A (VI) képletű vegyület UV spektruma is igen hasonló a (II) képletű vegyületéhez, ami tovább erősíti azt a feltételezést, hogy a kettős kötés a 9-11 helyzetben található.

Nagy térerősségű  $^1\text{H-NMR}$  spektrummal végzett vizsgálatok azt mutatják, hogy a (VI) képletű vegyület spontán visszaalakul (I) képletű vegyületté kloroformos oldatban, és ez azt jelzi, hogy a 14-helyzetű proton  $\alpha$ -helyzetű, ugyanúgy, ahogy valamennyi egyéb ösztrogén szteroid esetében, és hogy a 8-as helyzetű proton az,

amelyik megfordul. Ezen az alapon határoztuk meg a (VI) képletű  $\Delta 9(11)$ -dehidro-8-izoösztion szerkezetét.

A (VI) képletű vegyület analitikai adatait és spektrumait, továbbá az ekvilin és az (I), (II) és (IV) képletű ekvilin izomerek hasonló adatait az 1. táblázatban tüntetjük fel.

1. táblázat

Vegyület	O.p. (°C)	$[\alpha]^{RT}$	MS (m/e)	IR (KBr) $\nu$ (cm <sup>-1</sup> )
(III) képletű ekvilin ( $\Delta 7$ -dehidro-ösztion)	237-239 238-240 <sup>1</sup>	+308 +308 <sup>1</sup>	268 (M+)	1719 (C=O) 1615 (aromás)
(IV) képletű $\Delta 6$ - dehidro-ösztion	265-269 261-263 <sup>2</sup> 265-266 <sup>3</sup>	-129 -127	268 (M+)	1714,1725 (C=O) 1615 (aromás)
(I) képletű $\Delta 8(9)$ - dehidro-ösztion	229-230 228-230 <sup>4</sup>	+40,7 +86 <sup>4,b</sup>	268 (M+)	1717 (C=O) 1607 (aromás)
(II) képletű $\Delta 9(11)$ - dehidro-ösztion	255-257 257-259 <sup>5</sup>	+295 +297,5 +299 <sup>b</sup> +301 <sup>7,b</sup>	268 (M+)	1721 (C=O) 1606 (aromás)
(VI) képletű $\Delta 9(11)$ - -dehidro-8-izoösztion	243,5- 244,5	+182	268 (M+)	1719 (C=O) 1607 (aromás)

<sup>a</sup> etanol

<sup>b</sup> kloroform

<sup>RT</sup>= szobahőmérséklet

1. táblázat folytatása			
Vegyület	UV (nm)		<sup>1</sup> H-NMR (CDCl <sub>3</sub> /TMS): δ (ppm)
	λ max	ε	
(III) képletű ekvilin (Δ7-dehidro-öszttron)	281	1977	0,79 (s, 3H, 18-CH <sub>3</sub> ), 5,52 (m, 1H, 7-H), 6,60 (d, 1H), 4-H), 6,70 (dd, 1H, 2-H), 7,26 (d, 1H, 1-H)
	282	2291 <sup>8,a</sup>	
(IV) képletű Δ6- dehidro-öszttron	304	2522	0,81 (s, 3H, 18-CH <sub>3</sub> ), 6,04 (dd, 1H), 7-H), 6,46 (dd, 1H, 6-H), 6,52 (d, 1H, 4- H), 6,57 (dd, 1H, 2-H), 7,01 (d, 1H, 1-H) <sup>b</sup>
	271	6096	
	262	7477	
	221	25731	
	304	2754 <sup>2,a</sup>	
	262	8913 <sup>2,a</sup>	
(I) képletű Δ8(9)- dehidro-öszttron	279	15565	0,90 (s, 3H, 18-CH <sub>3</sub> ), 6,64 (s, 3/2H, 2-H, 3-H), 6,66 (d, 1/2H, 2-H), 7,09 (d, 1H, 1-H)
	214	17229	
	275	15900 <sup>a</sup>	
(II) képletű Δ9(11)- dehidro-öszttron	289	3334	0,94 (s, 3H, 18-CH <sub>3</sub> ), 6,13 (m, 1H, 11-H), 6,57 (d, 1H, 4-H), 6,65 (dd, 1H, 2- H), 7,49 (d, 1H, 1-H)
	263	17913	
	298	3138 <sup>7,a</sup>	
	263,5	18073 <sup>7,a</sup>	
(VI) képletű Δ9(11)- -dehidro-8-izoöszttron	295	2580	0,97 (s, 3H, 18-CH <sub>3</sub> ), 6,00 (m, 1H, 11-H), 6,58 (d, 1H, 4-H), 6,65 (dd, 1H, 2- H), 7,40 (d, 1H, 1-H)
	260	16943	
<sup>a</sup> etanol			
<sup>b</sup> DMSO-d <sub>6</sub>			

Leírásunkban a következő irodalmi helyekre hivatkozunk:

1. Budavari S (1989). *The Merck Index* 11. kiadás, Merck & Co Inc, Rahway, New Jersey, 3582. oldal;
2. Kaufmann St, Pataki J, Rosenkranz G, Romo J, Djerassi C (1950). SteroidsVI. The Wohl-Ziegler bromination of steroidal 1,4-dien-3-ones. Partial synthesis of 6-dehydroestrone and equilenin. *J. Am. Chem. Soc.* **72**: 4531-4534;
3. Pearlman WH, Wintersteiner O (1940). Estrogens with oxygen in ring B. II.  $\Delta^6$ -isoequilin from 7-hydroxyestrone *J. Biol. Chem.* **132**: 605-612;
4. Banes D, Carol J (1953). The constituents of isoequilin A. *J. Biol. Chem.* **204**: 509-515;
5. Magerlein BJ, Hogg JA (1958). Preparation and reactions of 11-substituted 1,3,5(10)-estratrienes. I. 11-Oxygenated estrones and estradiols. *J. Am. Chem. Soc.* **80**:2220-2225;
6. Schering A-G (Weiske R) (1964). *Ger. Offen* 1, 1,177,636. *Chem. Abstr.* **61**: 14748h;
7. Collins DJ, Sjövall J (1983). The structure and function of oestrogens. IV. Synthesis of  $17\alpha$ -ethynyloestradiol specifically polydeuterated in ring C. *Aust. J. Chem.* **36**: 339-360;
8. Zderic JA, Carpio H, Bowers A, Djerassi C (1963): Steroids CCXXVIII. The synthesis of equilin. *Steroids* **1** 233-249.

A (VI) képletű vegyület értékes oszteoporózis ellenes hatását standard farmakológiai vizsgálatokkal mutattuk ki, például az alábbi vizsgálattal: Bone Resorption Assay:  $^{45}\text{Ca}$  Release from Rat Limb Bones (Csontfelszívódás vizsgálata  $^{45}\text{Ca}$  leadás patkány végtag-csontból).



Ennek a vizsgálatnak a célja olyan vegyületek azonosítása, amelyek a bazális vagy stimulált csontreszorpciót tenyészetben gátlják.

A (VI) képletű  $\Delta^9(11)$ -dehidro-8-izoösztion azon képességét, hogy módosítani tudja a csontfelszívódási eljárást, lényegében ismert módon határozhatjuk meg [lásd L.G. Raisz, "Bone resorption in tissue culture. Factors influencing the response to parathyroid hormone", *J. Clin. Invest.* **44**: 103-116 (1965), és P.H. Stern és munkatársai, "Comparisons of fetal rat limb bones and neonatal mouse calvaria: Effects of parathyroid hormone and 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>", *Calcif. Tissue Int.*, **35**, 172-176 (1983).

Az eljárást a következőképpen végezzük:

Végtagcsont-preparátumot készítünk a következőképpen: Ismert időpontban megtermékenyített Sprague-Dawley CD<sup>®</sup> (Charles Rivers) patkányoknak 100  $\mu$ Ci <sup>45</sup>Ca<sub>2</sub>-t adagolunk (NEN kalcium, -45 NEZ-013) 100  $\mu$ l 0,9 %-os sóoldatban, szubkután a terhesség 18. napján. A patkányokat a következő napon szén-dioxidos fullasztással leöljük. A magzatokat eltávolítjuk és a jobb első lábakat levágjuk és jéghideg tenyésztőközeget tartalmazó Petri-csészébe helyezzük. A tenyésztőközeg módosított HGJ<sub>b</sub>-Fitton-Jackson közeg (szokásos összetételű, Gibco No. 78-0088). A közeg pH-ját 7,3-ra állítjuk be és hozzáadunk 10 mmól TES-t. A módosított BGJ<sub>b</sub> közeget só, glükóz vagy hidrogén-karbonát nélkül állítjuk elő és felhasználás előtt kiegészítjük a következő komponensekkel: 0,1 mM MgCl<sub>2</sub>, 1,25 mM CaCl<sub>2</sub>, 5,3 mM KCl, 0,7 mM MgSO<sub>4</sub>, 130 mM NaCl, 1,0 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 g/l glükóz, 50mg/l nátrium-acetát és 100 U/ml penicillin G. A közeget 0,2  $\mu$ mólos szűrőn (Nalge) sterilizáljuk. Preparálós mikroszkóp alatt a csontokat óvatosan megtisztítjuk a rátapadó szövetektől és a porcos végeket eltávolítjuk.



Az inkubálást és a hatóanyag-kezelést a következőképpen végezzük:

A középső szárazakat egyenként 3x3 mm-es négyzet alakú szűrőpapírra helyezzük (Gelman GN-6 metricel szűrő, 0,45  $\mu\text{m}$  pórusméret), amely 0,5 ml előinkubáló közeget tartalmazó 24-lyukú tenyésztőlemez lyukában lévő rozsdamentes acélszítán fekszik. A csontátvitel előtt az előinkubáló közeget 37 °C-ra melegítjük. Az előinkubáló közeg módosított BGJ<sub>b</sub> közegből áll (amely a fent felsorolt sókat és glükózt tartalmaz), pH-ja 7,3, és 29 mmól NaHCO<sub>3</sub>-at is tartalmaz. A csontokat 18-24 órán keresztül 37 °C-on 5 % CO<sub>2</sub>-vel inkubáljuk, majd a szita/szűrőpapír hordozólyukon új lemezekre viszszük át, amelyek összesen lyukanként 0,5 ml térfogatban 37 °C-on a vizsgálandó vegyületet tartalmazzák, amelyet az előinkubáló közeggel hígítottunk és 15 % hővel inaktivált lószérumot (Gibco 230-6050) is adtunk hozzá, amelynek pH-ja 7,3, és amely adott esetben tartalmaz egy csontfelszívódást stimuláló szert, például paratiroid hormont [PTH], vagy interleukin 1-et [IL-1]. Az olyan vegyületek esetén, amelyekhez nem vizes oldószer szükséges, a hígítást a megfelelő törzsolatban a közeggel végeztük. Ilyenkor ekvivalens vivőanyag koncentrációjú alap és csontreszorpció stimuláló szert tartalmazó összehasonlítókat is alkalmazunk. Egy további csont-csoportot is használunk, amelyet előzetesen 1 órán keresztül forraltunk, hogy megállapítsuk a <sup>45</sup>Ca alap (nem sejttel közvetített) kicserélődését. Az egyes magzatokból a jobboldali singcsontot és orsócsontot használjuk. Mindkét csontot azonos módon kezeljük, a kezelést négy vagy több magzattól származó csontokat tartalmazó csoportokban végezzük. A kezelést véletlenszerűen jelöljük ki preklinikai statisztikus programot (PS-ALLOC) alkalmazva. A csontokat 48 órán keresztül 37 °C-on 5 % CO<sub>2</sub>-t tartalmazó közegben inkubáljuk, majd a közeg-

ből kivesszük és 0,5 ml 0,1 n sósavval egy vagy több napig extra-háljuk. Kettő 150 µl-es alikvot mennyiségeket vizsgálunk az inkubáló közegből és a csontkivonatból, meghatározzuk ezek <sup>45</sup>Ca rádióaktivitását 5 ml folyadékszintillációs keverékben. A számításokat a következőképpen végezzük:

A közegbe leadott csontból származó <sup>45</sup>Ca %-ot az alábbi képlet alapján számítjuk ki:

$$\frac{{}^{45}\text{Ca CPM a közegben}}{{}^{45}\text{Ca CPM a közegben} + {}^{45}\text{Ca CPM a csontban}} \times 100$$

Az eredményeket általában a kísérleti mintában mért <sup>45</sup>Ca leadás % és a megfelelő vivőanyag összehasonlító minta arányaként fejezzük ki.

A (VI) képletű vegyület oszteoporózis ellenes hatását kimutathatjuk továbbá az ún. alapcsontfelszívódási vizsgálat: <sup>45</sup>Ca-leadás patkány végtagcsontból, segítségével.

A kísérlet célja a csontfelszívódás stimulátorai és inhibitorai vizsgálata in vitro. A <sup>45</sup>Ca leadását in vitro jelzett patkánycsont explantátumokból a tenyésztőközegbe a csontfelszívódásra utaló mutatószámok fogjuk fel.

A csont jelzését a következőképpen végezzük:

Patkánykölyköket in vitro jelzünk úgy, hogy a vemhes anyaállatoknak (18 nap) 100 µCi <sup>45</sup>Ca injekciót adunk.

Az explantátumot a következőképpen készítjük: Két nappal a jelzés kezdete után az anyaállatot halotánnal elaltatjuk és nyaki diszlokációval leöljük. A kölyökállatokat kivesszük és gyorsan levágjuk a fejüket. Eltávolítjuk a koponyatetőt (a frontális és parietális csontokat), az első végtagokat (beleértve a singcsontokat és orsócsontokat), és a hátsó végtagokat (a sípcsontokat), és ezeket Petri-

csészében összehasonlító közegbe helyezük. A csontokat megtisztítjuk a lágyszövetektől egy legömbölyített késsel végzett boncolás és nedvszívó papír enyhe görgetése kombinációjával, ügyelve arra, hogy ne sértsük meg a csonthártyát. A porcok végeket levágjuk a hosszú csontokról. A koponyatetőt félbevágjuk a középső csontvarrat mentén. A csontokat három csoportba osztjuk: a fél koponyatetők, sípcsontok és a singcsontok/orsócsontok. Csontcsoportonként 8-as csoportokat véletlenszerűen elhelyezünk 0,5 ml összehasonlító közegget tartalmazó 24 lyukú tenyésztőlemezbe. A tenyészeteket nedvesített 95 % levegőt és 5 % CO<sub>2</sub>-t tartalmazó inkubátorban 37 °C-on tároljuk.

A csontokat 24 órán keresztül inkubáljuk, majd a közegget le- szívjuk a csontokról és friss, a vizsgálandó vegyületeket tartalmazó közegget öntünk rájuk. Minden csontcsoport rendelkezik egy 8-as összehasonlító csoporttal és egy 8-as halott csont csoporttal. A devitalizált tenyészeteket úgy nyerjük, hogy a csontokat 60 percig 55 °C-on melegítjük a közegben. A csontokat további 72 órán keresztül 37 °C-on inkubáljuk, majd az időszak végén 100 µl-es alikvot mennyiséget kiveszünk a közegből és azt szcintillációs üvegcsébe helyezük. Hozzáadunk 10 ml Aquasol-t, majd a <sup>45</sup>Ca mennyiségét szcintillációs spektrométerben meghatározzuk. A csontokat sóoldattal le- öblítjük, szcintillációs üvegcsébe helyezük, éjszakán át szobahő- mérsékleten 0,75 ml 6 n sósavval hidrolizáljuk. A hidrolizált sóoldatot 2,25 ml 2 n nátrium-hidroxid hozzáadásával semlegesítjük, majd hozzáadunk 10 ml Aquasol-t és a <sup>45</sup>Ca tartalmat szcintillációs spektrométerrel határozzuk meg.

Az analízist a következőképpen végezzük:

A 24-96 órás periódusban a <sup>45</sup>Ca tenyésztőközegbe való le- adását egyenként összehasonlítjuk az összehasonlító tenyésztőkö-

zegbe történő  $^{45}\text{Ca}$  leadással, és a devitalizált csonttal a Dunnett-féle vizsgálattal.

A (VI) képletű vegyület oszteoporózis ellenes hatása kimutatható a fentiekén kívül az ún. "Denervation Induced Osteopenia in Rats" [Denerváció által kiváltott oszteopénia patkányokban] vizsgálattal.

A vizsgálat célja, hogy meghatározzuk patkányoknál bizonyos szerek hatását az olyan csonttömeg-csökkenésre (oszteopénia), amelyet az ülőideg sebészeti elmetszése (denerváció) által okozott helyhezkötöttség vált ki.

Charles River-ből nyert 225-250 grammos, petefészektől megfosztott vagy érintetlen nőtény Sprague Dawley CD<sup>®</sup> patkányokat használunk. Az állatokat műanyag ketrecben tartjuk, ketrecenként 4 vagy 5 patkányt, 14/10 nap/éjszaka ciklus alatt élelmiszerrel (Purina 500 Chow patkányélelmiszer) és vízzel, amelyet tetszés szerinti mennyiségben fogyaszthatnak.

Egyhetes helyhezsoktatás után az állatokat véletlenszerűen elosztjuk 6-10-es csoportokba. Az egyes patkányokat megmérjük, intraperitoneálisan 100 mg/kg ketamin adagolásával (Bristol Laboratories, Syracuse, NY) és 0,75 mg/kg acepromazin (Aveco Ft, Dodge, IA) adagolásával elaltatjuk. A bal hátsó végtagot borotváljuk és denerváljuk úgy, hogy a femurral párhuzamosan egy laterális bevágást végzünk, és sebészeti úton kiveszünk fél cm-t az ülőidegből a combcsont és a közelítő izom mellől. A bevágást sebkapoccsal zárjuk be. A műtét után a patkányokat abszorbens alommal töltött ketrecekben tartjuk, hogy ne növeljük tovább az állat traumáját a mozgásképtelen végtag miatt. A műtét után 24 órás felépülési időszakot várunk ki a hatóanyag kezelés megkezdéséig.

A hatóanyag koncentrációt úgy számítjuk ki, hogy azt 0,1 ml 6 100 g testtömeg dózisban adagoljuk. A hatóanyagból oldatot vagy egyenletes szuszpenziót készítünk 1 % Tween 80-at tartalmazó normál sóoldatban. A hatóanyagot orálisan vagy parenterálisan adagoljuk naponta (heti 5 alkalommal) négy héten keresztül.

A mineralizált szövet szakaszos hármás jelzését alkalmazzuk a csontváltozások (különösen a csontképződés) és a mineralizációs sebesség meghatározására. Minden állatnak 90 mg/kg Xylenol nancsot (Fisher Scientific Company) adagolunk s.c., továbbá 15 mg/kg kalceint (Sigma Chemical Company) s.c., és 15 mg/kg demeklociklint (Sigma Chemical Company) i.p., kb. 21 napon, 10 napon és 2 napon keresztül a fenti sorrendben a vizsgálat vége előtti időszakban.

A 4. hét végén megmérjük a patkányokat és 100 mg/kg keta-  
min és 0,75 mg/kg acepromazin intraperitoneális adagolásával elal-  
tatjuk ezeket. Ezután kb. 4 ml vért veszünk szívpunkcióval. Az elalta-  
tott patkányokat szén-dioxid atmoszférában leöljük. Mindkét végtag-  
ból kivágjuk lágyszövet nélkül a combcsontot és a sípcsontokat.

(i) A combcsontot kb. 1100 °C hőmérsékleten 16 óra alatt  
égetőkemencében elhamvasztjuk.

(ii) A proximális sípcsontot rögzítjük, dehidratáljuk és mész-  
telenítés nélkül metil-metakrilát, glikol-metakrilát elegybe ágyazzuk.  
10 mikronos hosszirányú szövetkimetszéseket készítünk Polycut S  
mikrotóm készülékkel (Reichert). A festést szabadon folyó szekció-  
kon végezzük módosított Goldner festékkel, majd a metszeteket fel-  
szereljük és fedőlemezzel letakarjuk.

A proximális sípcsontban mennyiségileg meghatározzuk a  
szivacsos csont tartalmát (kétdimenziós csont ásványi területként

[B.Ar]) képanalízist végző műszerrel (a software-t a Drexel University fejlesztette ki).

A szivacsos csont tartalom meghatározáshoz a sípcsontból a primer és szekunder szivacsos csontállomány területét választjuk. Ahhoz, hogy ezt a területet kiválasszuk és szabványosítsuk, az epifízis növekedési lemez - metafízis illeszkedést a digitalizáló rács abszcisszájával párhuzamosan irányítjuk. Ezután a fentiek szerint meghatározzuk a növekedési lemezről a szegélyező kortikális elemektől egyenlő távolságra lévő mindkét elemet az 1,7 mm-es (szekunder szivacsos csontállomány) és a 0,2 mm-es (primer szivacsos csontállomány). Az összes területet 2,30 mm szélesnek és 1,45 mm mélynek találjuk, ami egy 3,34 mm<sup>2</sup>-es felületet jelent.

Meghatározzuk a testtömeget, a combcsont-tömeget (szárítva vagy hamvasztva) és a trabekuláris (szivacsos) csont ásványi területet (B.Ar).

Egy kezelt csoportban a combcsont-tömeg és csont ásványi terület különbségét (mind az abszolút értékben, mind százalékosan) egy kezeletlen (kontroll) és denervált végtag között a vivőanyagot kapott csoport hasonló értékeivel hasonlítottuk össze. Az összehasonlításhoz egyutas analízist, amely a Dunnett-féle teszt egy változata, vagy egyéb többszörös összehasonlító eljárást használunk.

A csontfelszívódás folyamán a csont degradálódik és ez vezet az oszteoporózis későbbi kifejlődéséhez. A találmány lehetővé teszi a gazdaállat kezelését annak érdekében, hogy a csontfelszívódás és a csontlerakódás sebességének arányát módosítsuk, oly módon, hogy csökkentsük a csontfelszívódás sebességét a csontlerakódás sebességéhez viszonyítva. Ezt az eredményt úgy érjük el, hogy a gazdaállatnak olyan mennyiségben, amely elegendő az említett

egyensúly módosításához és az említett arány csökkentéséhez, (VI) képletű  $\Delta 9(11)$ -dehidro-8-izoöszttron adagolunk.

A találmány szerinti (VI) képlet  $\Delta 9(11)$ -dehidro-8-izoöszttron adagolása kiegészíthet egyéb oszteoporózis vagy fogbetegség kezelési módszereket. Például a (VI) képletű  $\Delta 9(11)$ -dehidro-8-izoöszttron adagolása mellett adagolhatunk naponta 600-1200 mg kalciumot kalcium-foszfát vagy kalcium-karbonát formájában. A (VI) képletű  $\Delta 9(11)$ -dehidro-8-izoöszttron adagolása mellett ösztrogén-helyettesítő terápiát is alkalmazhatunk, például naponta 0,625 mg konjugált ekvin-ösztrogént adagolhatunk.

A (VI) képletű találmány szerinti vegyület antioxidánsként is hatásos. Ezen hatása miatt a (VI) képletű vegyületet használhatjuk ateroszklerózis, koronáriás érmegbetegedés, szív-érrendszeri betegségek, resztenózis (különösen a felfújásos katéteres érplasztikai eljárásból származó), bőr-öregedés és -ránkosodás és az Alzheimer-kór kezelésére, gátlására vagy javítására. A (VI) képletű találmány szerinti vegyület antioxidáns tulajdonságai miatt karcinóma kezelésénél is használható. Antioxidáns tulajdonságai miatt a (VI) képletű találmány szerinti vegyület ezen kívül szabadgyök-képződés megakadályozására is használható és ezáltal a szabad gyökök által okozott sejtkárosodások megelőzésénél és késleltetésénél alkalmazható.



## SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. (VI) képletű  $\Delta 9(11)$ -dehidro-8-izoöszttron és gyógyszerészetiileg alkalmazható sói.

2. Gyógyszerkészítmény gazdaállatban a csontfelszívódás és a csontképződés sebessége egyensúlyának módosítására úgy, hogy a csontfelszívódás sebessége csökken a csontképződés sebességéhez viszonyítva, amely a (VI) képletű  $\Delta 9(11)$ -dehidro-8-izoöszttront vagy annak valamely gyógyászatiilag alkalmazható sóját és valamely gyógyászatiilag alkalmazható vivőanyagot tartalmaz.

3. Eljárás gazdaállat kezelésére a csontfelszívódási sebesség és a csontképződési sebesség egyensúlyának módosítására, amely-nél a csontfelszívódás sebessége csökken a csontképződés sebességéhez viszonyítva, oly módon, hogy a gazdaállatnak (VI) képletű  $\Delta 9(11)$ -dehidro-8-izoöszttront vagy annak gyógyászatiilag alkalmazható sóját adagoljuk.

4. Eljárás ateroszklerózis kezelésére vagy javítására emlősnél, oly módon, hogy hatékony mennyiségű (VI) képletű  $\Delta 9(11)$ -dehidro-8-izoöszttront vagy annak gyógyszerészetiileg alkalmazható sóját adagoljuk.

5. Eljárás koronáriás érmegbetegedés kezelésére vagy javítására emlősnél, oly módon, hogy hatékony mennyiségű (VI) képletű  $\Delta 9(11)$ -dehidro-8-izoöszttront vagy annak gyógyszerészetiileg alkalmazható sóját adagoljuk.

6. Eljárás Alzheimer-kór kezelésére vagy javítására emlősnél, oly módon, hogy hatékony mennyiségű (VI) képletű  $\Delta 9(11)$ -dehidro-8-izoöszttront vagy annak gyógyszerészetiileg alkalmazható sóját adagoljuk.

7.  $8\alpha$ -3-hidroxi-ösztro-1,3,5(10),9(11)tetraén-17-on vagy gyógyszerészetileg elfogadható sójának alkalmazása olyan gyógyszerkészítmény előállítására, amely a csontfelszívódás és a csontképződés sebessége egyensúlyát módosítja és a csontfelszívódás sebességét csökkenti a csontképződéshez viszonyítva.

8.  $8\alpha$ -3-hidroxi-ösztro-1,3,5(10),9(11)tetraén-17-on vagy gyógyszerészetileg elfogadható sójának alkalmazása ateroszklerózis kezelésére vagy javítására szolgáló gyógyszerkészítmény előállítására.

9.  $8\alpha$ -3-hidroxi-ösztro-1,3,5(10),9(11)tetraén-17-on vagy gyógyszerészetileg elfogadható sójának alkalmazása koronáriás érbetegség kezelésére vagy javítására szolgáló gyógyszerkészítmény előállítására.

10.  $8\alpha$ -3-hidroxi-ösztro-1,3,5(10),9(11)tetraén-17-on vagy gyógyszerészetileg elfogadható sójának alkalmazása Alzheimer-kór kezelésére vagy javítására szolgáló gyógyszerkészítmény előállítására.

11. Eljárás  $8\alpha$ -3-hidroxi-ösztro-1,3,5(10),9(11)tetraén-17-on vagy gyógyszerészetileg elfogadható sójának előállítására, **azzal jellemelve, hogy ekvilint aprotikus közegben erős savval reagáltatunk.**

A meghatalmazott:

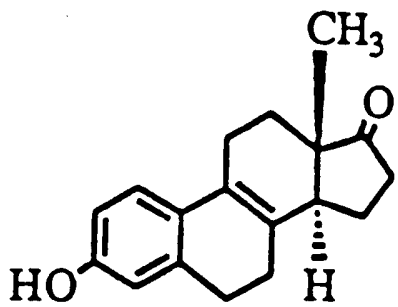
*Ri*  
*d. lap v. ajr*

**DANUBIA**

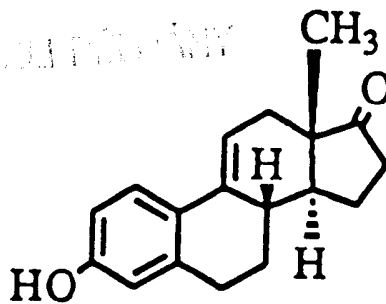
*Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.*

*Baranyi Éva*  
szabadalmi ügyvivő

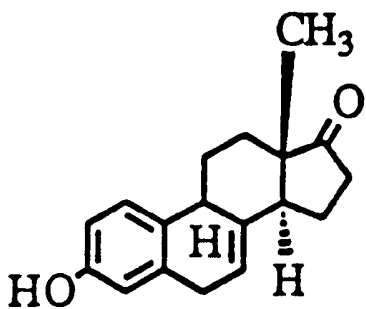
1/1.



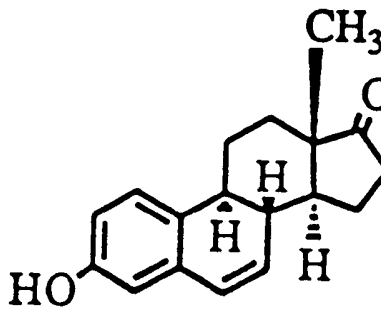
(I)



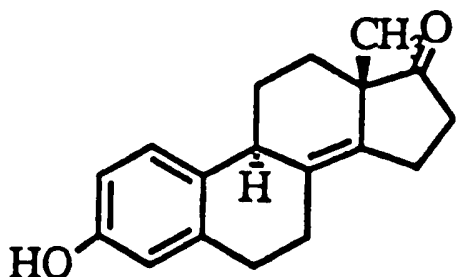
(II)



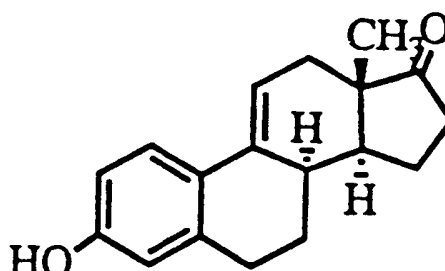
(III)



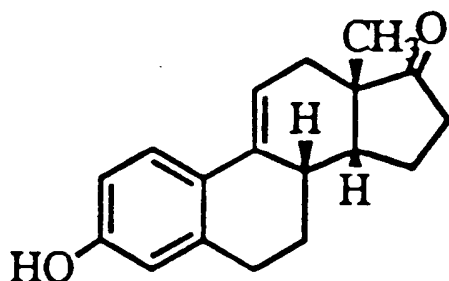
(IV)



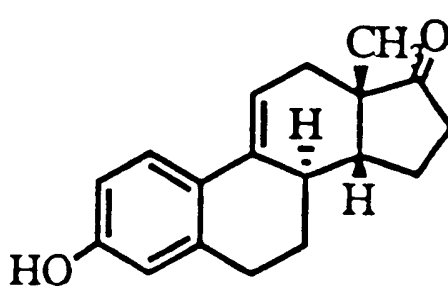
V



(VI)



VII



VIII