

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) FI 895087 A7

**(12) JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **895087**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07H 17/04

(22) Tekemispäivä - Ingningsdag - Filing date **26.10.1989**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **26.10.1989**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **01.05.1990**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **12.06.2019**

(32) (33) (31) Etu oikeus - Prioritet - Priority

31.10.1988 US 264940

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Bristol-Myers Squibb Company, 345 Park Avenue, New York, NY 10154, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Ohnuma, Takeshi, Japan, JAPAN, (JP)

2 • Yamasaki, Tetsuro, Japan, JAPAN, (JP)

3 • Kamei, Hideo, Japan, JAPAN, (JP)

4 • Naito, Takayuki, Japan, JAPAN, (JP)

5 • Saulnier, Mark, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

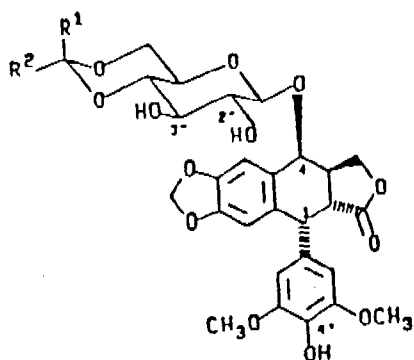
Epipodofyllotoksiiniglukosidien sokerifosfaatteja ja -sulfonaatteja

Sockerfosfater och -sulfonater av epipodofyllotoxinglukosider

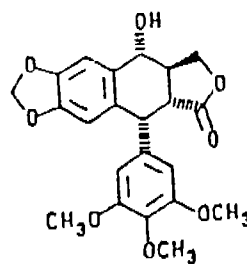
Epipodofyllotoksiiniglukosidien sokerifosfaatteja ja
-sulfonaatteja

Tämä keksintö koskee 4'-demetyyliepipodofyllotoksiini-
niglukosideja, joiden sokeriosassa on erilaisia substi-
tuentteja, niiden käyttöä kasvainten vastaisina aineina
ja niitä sisältäviä farmseuttisia koostumuksia.

Kaavan I mukaiset 4'-dimetyyliepipodofyllotoksiini-
glukosidit ovat kasvainten vastaisia aineita, jotka ovat
luonnossa esiintyvän lignaanin, podofyllotoksiinin (II)
johdannaisia.



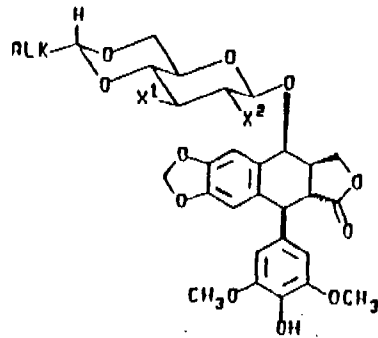
I a: $R^1=H$; $R^2=CH_3$
b: $R^1=H$; $R^2=2$ -fenyyli



II

Menetelmää niiden syntesitoimiseksi kuvataan US-patentti-
julkaisussa 3 524 844 (Keller-Juslen et al.). Kaavan I
mukaisten yhdisteiden joukosta etoposidi (Ia) ja tenipo-
sidi (Ib) on todettu kliinisesti käyttökelpoisiksi eri-
laisia kasvaimia vastaan, mukaan luettuina pienisolainen
keuhkosityöpä, munasarja-, kives-, rinta-, virtsarakko-
ja aivokasvaimet, ei-lymfosyyttinen leukemia ja Hodgkinin
tauti.

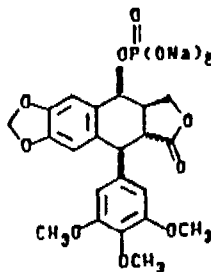
US-patenttijulkaisuissa 4 547 567 ja 4 716 221 esite-
tään yhdisteitä, joilla on kaava III



III

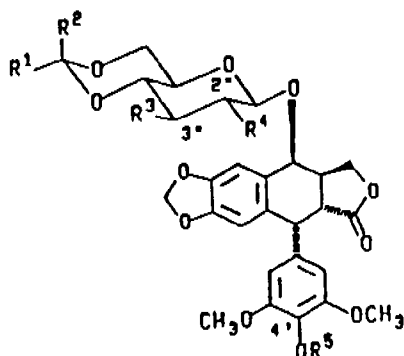
jossa toinen ryhmistä X^1 ja X^2 on OH ja toinen on amino-, monoalkyyliamino- tai dialkyyliaminoryhmä. Näiden johdannaisien sanotaan olevan hyvin vesiliukoisia.

Seligman et al. [Cancer Chemotherapy Reports Part I, 59 (1975) 233 - 242] ovat kuvanneet Podofyllotoksiini-fosfaatin dinatriumsuolan (IV) valmistusta. Fosfaatti ei kuitenkaan hydrolysoitunut happaman eturauhasfosfataasin vaikutuksesta, eikä sen toksisuus ollut alhaisempi kuin podofyllotoksiinikantayhdisteellä.



IV

Tämä keksintö tarjoaa käyttöön kasvainten vastaisia yhdisteitä, joilla on kaava V

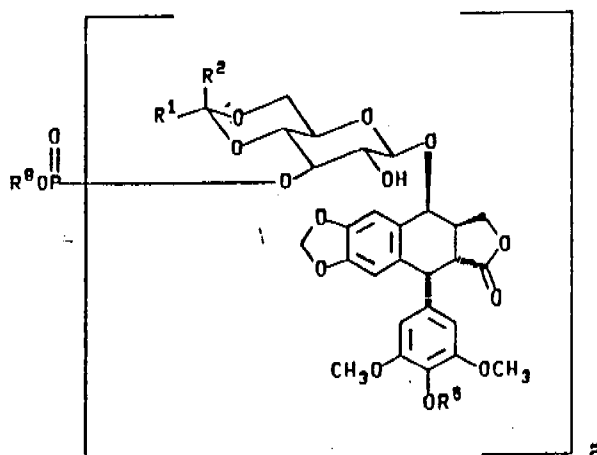


v

jossa ryhmä R^2 on H ja ryhmä R^1 on C_{1-10} -alkyyli, C_{2-10} -alkenyyli-, C_{5-6} -sykloalkyyli-, 2-furyyli-, 2-tienyyli-, C_{6-10} -aryyli-, C_{7-14} -aralkyyli tai C_{8-14} -aralkenyyli-ryhmä, jolloin kukin aromaattisista renkaista voi olla substituoimaton tai substituoitu yhdellä tai useammalla ryhmällä, joita ovat halogeeniatomit ja C_{1-8} -alkyyli-, C_{1-8} -alkoksyyli-, hydroksyyli-, nitro- ja aminoryhmät; tai kumpikin ryhmistä R^1 ja R^2 on C_{1-8} -alkyyli-ryhmä; tai ryhmät R^1 ja R^2 ja hiiliatomi, johon ne ovat liittyneet, muodostavat yhdessä C_{5-6} -sykloalkyyli-ryhmän; ryhmät R^3 ja R^4 ovat ryhmiä $-OH$, OSO_2R^6 tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja, $-OP(X)(OH)_2$ tai sen farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja tai $-O(X)(OR^7)_2$, jolloin R^6 on vetyatomi tai C_{1-5} -alkyyli-, fenyyli-, C_{1-5} -alkyyli-substituoitu fenyyli- tai fenyyli- C_{1-5} -alkyyli-ryhmä; R^7 on fosfaattiryhmän suojausryhmä; X on happi- tai rikkiatomi sillä edellytyksellä, etteivät molemmat ryhmistä R^3 ja R^4 ole OH -ryhmiä; ja R^5 on H tai fenoliryhmän suojausryhmä.

Eräs edullinen suoritusmuoto tarjoaa käyttöön kaavan V mukaisia yhdisteitä, joissa R^4 on OH ja R^3 edellä määriteltä ryhmä.

Eräänä puolenaan keksintö tarjoaa käyttöön yhdisteitä, joilla on kaava VI



VI

ossa R^1 , R^2 ja R^5 ovat edellä määritellyjä ryhmiä ja R^8 on H tai sen suola tai ryhmä R^7 ; sekä näiden yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja.

Ellei toisin mainita, kuuluvat tässä käytettyjen termien "fosfaatti", "fosforylaatio" ja niiden kaltaisten termien piiriin "tiofosfaatti", "tiofosforylaatio" jne: "hal", "halogenidi" ja "halogeeni" tarkoittavat klooria, bromia ja jodia; "alkyyli" viittaa lineaarisiin ja haaroittuneisiin hiiliketjuihin; ja merkintä "-L" tarkoittaa poistuvaaryhmää, kuten kloridia, joka esiintyy yleisesti esteröintireaktioissa.

Lähtöaineita, 4'-demetyyliepipodofyllotoksiinigluko-
sideja (I), voidaan valmistaa menettelyin, joita kuvataan US-patenttijulkaisussa 3 524 844, joka täten mainitaan viitteenä. Johdannaisten valmistamiseksi tehokkaasti sokeriosan hydroksyyli-ryhmistä on välttämätöntä ensin suojata reaktiivinen fenoliryhmä. Yhdisteen 4'-fenoliryhmä voidaan suojata käyttämällä tunnettuja menettelyjä, joihin kuuluvat esimerkiksi eetterien, ase-
taalien tai estereiden muodostus. Fenoliryhmän suojausryhmän valinnalle ei ole erityisiä rajoituksia, ja ryhmä voi ollamikä tahansa alalla tunnettu tavanomainen suojausryhmä. Suojausryhmän valintaa ja menetelmiä fenoliryhmän suojaamiseksi ja suojauksen poistamiseksi

kuvataan kirjallisuudessa, kuten teoksessa "Protective Groups in Organic Chemistry", toim. J.F.C. McOmie, Plenum Press 1973. Esimerkkeihin soveltuvista fenoliryhmän suojausryhmistä kuuluvat mainittuihin kuitenkin rajoittumatta t-butyyl-, bentsyyli-, 2-tetrahydropyranyyli-, 3,3,3-trikloorietoksikarbonyyli- ja bentsyloksikarbonyliryhmät, joista viimeksi mainittu on edullinen.

Siten suojatun 4'-demetyyliepipodofyllotoksiiniglukosidin (I) sokerihydroksyyliiryhmät voidaan sitten muuttaa tämän keksinnön mukaisiksi fosfaateiksi, sulfaateiksi tai sulfonaateiksi kirjallisuudesta tunnetuin tavanomaisin menetelmin. Reaktiot eivät yleensä ole regiospesifisiä ja johtavat 2"-, 3"-, ja 2",3"-bisjohdannaisten seokseen sekä fosfolylaation ollessa kyseessä myös kaavan VI mukaiseen fosfaattidimeeriin. Tuoteseos voidaan sitten jakaa yksittäisiksi komponenteiksi käyttämällä alalla tunnettuja menetelmiä, kuten pylväskromatografiaa. Ei ole ratkaisevaa, missä reaktiosarjan vaiheessa reaktiotuoteseos jaetaan komponenteiksi.

Fosforylaatio voidaan tehdä saattamalla suojattu 4'-fenoli (I) reagoimaan fosforyylihalogenidin, $P(X)(hal)_3$, kanssa inertissä orgaanisessa liuottimessa, esimerkiksi metyleenikloridissa tai asetonitriilissä, happoakseptorin, edullisesti tertiaarisen amiiniemäksen, kuten pyridiinin tai di-isopropyylietyyliamiinin, läsnä ollessa. Tuloksena oleva dikloorifosfaattivälituotteiden seos voidaan hydrolysoida in situ, jolloin saadaan fosfaattimonoestereitä, ja jos hydrolyysi tehdään sellaisen emäksen kuin natriumvetykarbonaatin tms. läsnä ollessa, vastaava fosfaattimonoesterisuola. Sitten poistetaan 4'-fenoliryhmää suojaava ryhmä, jolloin saadaan tämän keksinnön mukaisia fosfaatteja.

Dikloorifosfaattivälituotteet voidaan myös muuttaa fosfaattitriestereiksi käsittelemällä alkoholilla, jolla on kaava R^7OH , jossa R^7 on fosfaattiryhmän suojausryhmä.

Fosfaattiryhmää suojaaviin ryhmiin kuuluvat, mainittuihin kuitenkin rajoittumatta, C_{1-5} -alkyyli-ryhmä, joka on mahdollisesti substituoitu yhdellä tai useammalla halogeeniatomilla; fenyyli-ryhmä, joka on mahdollisesti substituoitu yhdellä tai useammalla ryhmällä, joita ovat C_{1-5} -alkyyli-ryhmät, halogeeniatomit ja nitro-ryhmät sekä fenyyli- C_{1-5} -alkyyli-ryhmät, jolloin fenyyli-rengas on mahdollisesti substituoitu edellä kuvatulla tavalla. Fosfaattiesteri voidaan muodostaa myös käsittelemällä suojattu 4'-fenoli (I) yhdisteellä, jolla on kaava $(R^7O)_2P(X)-L$, inertissä orgaanisessa liuottimessa happoakseptorin läsnä ollessa. Fosfaattitriesterin ryhmä R^7 voidaan mahdollisesti poistaa, jolloin saadaan fosfaattimonoesteri, joka on helppo muuttaa farmaseuttisesti hyväksyttäväksi suolaksi käsittelemällä se emäksellä, kuten natriumvetykarbonaatilla. Niinpä fosfaattitriesterin R^7 -ryhmä voidaan valita sillä tavalla, että se voidaan poistaa samanaikaisesti fenoliryhmää suojaavan ryhmän kanssa, tai siten, että voidaan poistaa selektiivisesti toinen ryhmä vaikuttamatta toiseen.

Sulfaatteja voidaan valmistaa käsittelemällä suojattu 4'-fenoli (I) rikkitrioksidilla tai sen kompleksilla, kuten rikkitrioksidi-pyridiinikompleksilla, inertissä orgaanisessa liuottimessa huoneen lämpötilassa. Fenoliryhmä poistetaan käyttämällä alalla hyvin tunnettuja tavanomaisia menetelmiä, jolloin saadaan tuote. Sulfaattijohdannainen voidaan helposti muuttaa farmaseuttisesti hyväksyttäväksi suoloikseen saattamalla se kosketukseen halutun kationin lähteen kanssa.

Tämän keksinnön mukaisia sulfonaatteja voidaan vastaavasti muodostaa saattamalla suojattu 4'-fenoli (I) reagoimaan kaavan R^6SO_2-L mukaisen yhdisteen kanssa. Reaktio toteutetaan inertissä orgaanisessa liuottimessa happoakseptorin läsnä ollessa lämpötila-alueella huoneen lämpötilasta suunnilleen lämpötilaan $-20^{\circ}C$. Poistamalla fenoliryhmää suojaava ryhmä saadaan lopputuote.

On ymmärrettävä, että tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden synteesi ei rajoitu edellä kuvattuihin nettelyihin eikä reagensseihin, vaan sen piiriin voi kuulua muita menetelmiä, joilla pystytään tuomaan fosfaatti- tai sulfaattiryhmä 4-demetyyliepipodofyllotoksiini-glukosidien sokeriosaan. Reaktio-olosuhteet vaihtelevat luonnollisesti lähtöaineiden valinnan mukaan, mutta ovat alan ammattimiehen määrättävissä ilman tarpeettomia kokeita.

Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää pahanlaatuisten kasvainten kasvun estämiseen nisäkkäissä, ihminen mukaan luettuna. Joitakin yhdisteistä, erityisesti fosfaatteja ja sulfaatteja, voidaan pitää 4-demetyyliepipodofyllotoksiini-glukosidien esiastelääkkeinä, ja sellaisina ne muuttuvat aktiiviseksi kantayhdistelääkkeeksi in vivo joko isännälle endogeenisten tai ulkopuolien tuotujen tekijöiden vaikutuksesta. Näitä esiastelääkkeitä voidaan antaa yksinään tai yhdistettyinä aineeseen, jolla on kyky vapauttaa aktiivinen muoto in vivo, esimerkiksi entsyymeihin, joilla on kyky lohkaista fosfaatti- tai sulfaattiryhmä. Esimerkkeihin soveltuvis- ta entsyymeistä kuuluvat fosfataasit, kuten alkalinen fosfaatti, ja sulfataasit kuten aryylisulfataasi. Entsyymi voidaan kytkeä kasvainspesifiseen vasta-aineeseen, jolloin muodostuu entsyymi-vasta-ainekonjugaatti, jota voidaan sitten antaa isännälle, jolla on kasvain, ennen esiastelääkkeen antoa, samanaikaisesti sen kanssa tai sen jälkeen. Esiastelääke ynnä vasta-aine-entsyymikonjugaatti on edullinen lähestymistapa tämän keksinnön mukaisen sulfaattiesiastelääkkeiden annossa. Vasta-aine-entsyymikonjugaatteja, menetelmiä niiden valmistamiseksi ja menetelmiä niiden käyttämiseksi esitetään yksityiskohtaisesti samanaikaisesti avoimna olevassa patenttihakemuksessamme nro 211 301, joka on jätetty 29. kesäkuuta 1988, ja sen kantahakemuksessa ja tämän kantahakemuksessa

161 068, joka on jätetty 26. helmikuuta 1988, ja vastaa-
vasti 081 382, joka on jätetty 4. elokuuta 1987. Nämä
hakemukset mainitaan täten viitteinä.

5 Tutkittiin tämän keksinnön mukaisten tyypillisten
yhdisteiden kasvainten vastaista aktiivisuutta siirret-
tävissä olevaa hiiren P388-leukemiaa vastaan. Viiden
viikon ikäiset CDF₁-naarashiiret inokuloitiin vatsakal-
vonsisäisesti laimennetulla vesivatsanesteellä (0,4 ml),
joka sisälsi 10⁶ lymfosyyttileukemia P388-solua. Tutkit-
10 tavia yhdisteitä annettiin vatsakalvonsisäisesti yhtenä
annoksena päivänä 1 ja eläimiä tarkkailtiin 45 vuorokaut-
ta. Hoidettujen eläinten keskivertoelinajan (MST, median
survival time) piteneminen hoitamattomiin vertailueläi-
miin nähden määritettiin ja ilmoitetaan prosentteina
15 (%T/C). Yhdisteillä, joiden %T/C-arvot ovat vähintään
125, katsotaan olevan merkittävä kasvainten vastainen
aktiivisuus. Taulukossa I esitetään in vivo-tutkimuksen
tulokset: vain korkein %T/C ja maksimivaikutuksen aikaan-
saava annos ilmoitetaan.

20

Taulukko 1

P388-leukemian vastainen kasvaimen kasvua estävä vaikutus

	Yhdiste	Annos (mg/kg/pv)	Keskivertoelinajan piteneminen (%)
25	Etoposidi	120	250
	XI	120	185
	XII	30	120
	XIII	30	125
	XVII	60	195
	XVIII	30	115
30	XIX	30	100
	XXIII	120	175
	XXIV	60	130
	XXVI	30	130
35	XXVII	120	105
	XXVIII	10	105

Tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden sytotoksi -
 suutta tutkittiin käyttämällä B16-melanoomasoluja. B16-
 melanoomasoluja kasvatettiin logaritmiseen vaiheeseen
 rikastetussa Eagle-minimialustassa, jota oli täydennetty
 5 naudan sikiöseerumilla (10 %) ja kanamysiinillä (60 µg/ml).
 Kasvainsolut otettiin talteen ja siirrostettiin 96-sy-
 vennyksisen mikromääritysmaljan syvennyksiin, joissa
 oli tutkittavia materiaaleja, inokulaatin koon ollessa
 10 $3,0 \times 10^4$ solua/ml. Maljoja inkuboitiin lämpötilassa
 37°C kostutetussa atmosfäärissä, joka sisälsi 5 % CO₂:a
 ja 95 % ilmaa, 72 tuntia. Sytotoksinen aktiivisuus edellä
 mainittua solulinjaa vastaan määritettiin kolorimetrises-
 ti aallonpituudella 540 nm, kun elävät solut oli värjät-
 ty neutraalipunaisella, ja ne ilmoitetaan pitoisuutena,
 15 joka estää 50 % solukasvusta (IC₅₀). IC₅₀-arvoja, jotka
 ovat suurempia kuin 100 µg/ml, pidetään yleensä osoi-
 tuksena sytotoksisen aktiivisuuden puuttumisesta.

Taulukko II

20 Sytotoksisuus in vitro B16 melanoomasoluja vastaan

	<u>Yhdiste</u>	<u>IC₅₀ (µg/ml)</u>
25	Etoposidi	0,21
	XI	2,2
	XII	20
	XIII	37
30	XVII	0,07
	XVIII	5,4
	XIX	30
	XXIII	0,32
	XXIV	29
35	XXVI	8,0

Tämä keksintö tarjoaa menetelmän nisäkkäiden kasvainten estämiseksi, jossa annetaan kasvainta inhiboivasti vaikuttaa annos kaavan V tai VI mukaista kasvainten vastaista yhdistettä isännälle, jolla on kasvain.

5 Tähän tarkoitukseen voidaan lääkettä antaa tavanomaisia teitä mukaan luettuina, mainittuihin kuitenkin rajoittumatta, laskimon-, lihaksen-, kasvaimen-, valtion- ja imukudoksensisäinen anto ja anto suun kautta. Tietyissä tapauksissa lääkettä voidaan antaa yhdessä vasta-aine-entsyymi-konjugaatin kanssa, jolla on kyky aktivoida lääke in vivo.

Tämä keksintö tarjoaa eräänä lisäpuolenaan käyttöön farmaseuttisen koostumuksen, joka sisältää kaavan V tai VI mukaista yhdistettä ja farmaseuttisesti hyväksyttävää kantajaa. Kasvainten vastainen koostumus voi olla missä tahansa farmaseuttisessa muodossa, joka on sopiva halutun antotavan kannalta. Esimerkkeihin tällaisista koostumuksista kuuluvat oraaliseen antoon tarkoitettut kiinteät koostumukset, kuten tabletit, kapselit, pillerit, pulverit ja rakeet, suun kautta annettaviksi tarkoitettut nestemäiset koostumukset, kuten liuokset, suspensiot, siirappit tai eliksiirit, ja parenteraaliseen antoon tarkoitettut valmisteet, kuten steriilit liuokset, suspensiot tai emulsiot. Ne voidaan valmistaa myös steriilien kiinteiden koostumusten muotoon, jotka voidaan liuottaa steriiliin veteen, fysiologiseen suolaliuokseen tai johonkin muuhun steriiliin injektoitavissa olevaan väliaineeseen välittömästi ennen käyttöä.

Optimaaliset annostukset ja hoito-ohjelmat pystyvät alan ammattimiehet helposti määräämään kyseessä olevan nisäkäsisännän kohdalla. Ymmärrettäneen tietenkin, että kulloinkin käytettävä annos vaihtelee kyseessä olevan formuloidun koostumuksen, kulloinkin käytettävän yhdisteen, käyttötavan ja kulloinkin hoidettavan kohdan, isännän ja sairauden mukaan. Monet tekijät, jotka muuttavat

lääkkeen toimintaa, mukaan luettuina ikä, paino, sukupuoli, ruokavalio, antoaika, antotapa, erityisnopeus, potilaan tila, lääkeyhdistelmät, reagoitiherkkyydet ja sairauden vakavuus otettaneen huomioon.

- 5 Seuraavat esimerkit annetaan ainoastaan asian valaistamiseksi eikä niitä tulisi pitää keksinnön suoja-alaa, jonka määräävät yksinomaan tämän keksinnön liitteessä olevat patenttivaatimukset, rajoittavina.

Esimerkki 1

- 10 a. 4'-O-bentsyloksikarbonyylietoposidin (VII) valmistus

Veptyyliklooriformiaatti (1,98 ml, 15 mmol) lisättiin 30 min:n aikana seokseen, joka sisälsi etoposidia (5,88 g, 10 mmol) ja pyridiiniä (10 ml) metyleenikloridissa (100 ml) ja joka pidettiin lämpötilassa -15°C .

- 15 Seosta sekoitettiin lämpötilassa -15°C vielä tunti, pestiin peräkkäin 5-%:isella HCl-liuoksella, natriumvetykarbonaatin vesiliuoksella ja vedellä ja kuivatettiin sitten vedettömällä natriumsulfaattilla. Liuotin haihdutettiin, jolloin saatiin 8,05 g raakatuotetta, joka puhdistettiin silikageelipylväällä (5 % metanolia metyleenikloridissa), jolloin saatiin 6,93 g (96 %) 4'-O-bentsyloksikarbonyylietoposidia värittömänä puolikiinteänä aineena. Sp. 152 - 155°C .

- 25 IR ν_{max} (Nujol) cm^{-1} : 3200-3600 (OH), 1760 (laktoni ja 4'-O-bentsyloksikarbonyyli), 1600 (aromaattinen).

- ^1H NMR (60 MHz, CDCl_3) δ 7,36 (5H, s, $\text{OCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 6,81 (1H, s, 5-H), 6,50 (1H, s, 8-H), 6,25 (2H, s, 2'- ja 6'-H), 5,94 (2H, leveä s, O- CH_2 -O), 5,23 (2H, s, $-\text{OCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 4,89 (1H, d, J=4 Hz, 4-H), 3,66 (6H, s, 3',5'- OCH_3), 2,8-3,0 (2H, m, 2'',3''-OH,vaihtuu D_2O :n kanssa), 1,38 (3H, d, J=5 Hz, 7''- CH_3).
- 30

b. 4'-0-bentsyloksikarbonyylietoposidin fosforylaatio

Fosforioksikloridi (280 μ l, 3 mmol) lisättiin hitaasti kylmään (0°C) liuokseen, joka sisälsi 4-0-bentsyloksikarbonyylietoposidia (1,511 g, 2,1 mmol) kuivassa metyleenikloridissa (10 ml) ja pyridiinissä (10 ml), ja seosta sekoitettiin lämpötilassa 0°C 45 minuuttia. Sitten lisättiin bentsyylialkoholia (620 μ l, 6 mmol) ja reaktioseoksen annettiin lämmetä huoneen lämpötilaan ja sekoitettiin kaksi tuntia, minkä jälkeen se laimennettiin metyleenikloridilla (50 ml), pestiin vedellä ja kuivattiin natriumsulfaatilla. Liuotin haihdutettiin alipaineessa, jolloin saatiin 2,40 g puolikiinteätä raakatuotetta, joka sisälsi kolmea komponenttia (silikageeli-TLC: R_f 0,66, 0,54 ja 0,46), jotka erotettiin silikageelikromatografialla (1 % metanolia metyleenikloridissa). Fraktiot, jotka antoivat täplän R_f -arvolla 0,66, yhdistettiin ja haihdutettiin alipaineessa, jolloin saatiin 435 mg (21 %) 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-3"-fosfaattidibentsyyliesteriä (VIII). Fraktioista, joiden R_f -arvot olivat 0,54 ja 0,46, saatiin samalla tavalla 352 mg (21 %) bis(4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-3"-0)-fosfaattibentsyyliesteriä (IX) ja vastaavasti 262 mg (13 %) 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-2"-fosfaattidibentsyyliesteriä (X).

IR $\nu_{\max}$ (Nujol) cm^{-1} :

VIII: 3300 (br), 1760, 1600.

IX: 3300 (br), 1760, 1600.

X: 3350, 1760, 1600.

c. Dinatrium-3"- ja 2"-etiposidifosfaattien ja natriumbis(etoposidyli-3")-fosfaatin valmistus

Liuosta, joka sisälsi 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-3"-fosfaattidibentsyyliesteriä (270 mg) metanolissa (20 ml) ja etyyliasetaatissa (20 ml) sekä 10-%:ista palladiumhiilellä -katalysaattoria (50 mg), hydrattiin

paineessa 1 atm 1 tunti. Katalysaattori poistettiin suodattamalla ja suodos väkevöitiin alipaineessa, jolloin saatiin 188 mg puolikiinteää ainetta, joka trituroitiin etyyliasetaatin kanssa, jolloin saatiin 145 mg (79 %) etoposidi-3"-divetyfosfaattia vaaleanruskeana jauheena. 135 mg edellä mainittua tuotetta liuotettiin natriumvetykarbonaatin vesiliuokseen (33,6 mg 2 ml:ssa vettä) ja kylmäkuivattiin, jolloin saatiin 140 mg dinatriumetoposidi-3"-fosfaattia (yhdiste XI) harmaana jauheena; HPLC:llä arvioitu (LiChrosorb RP-18, 70 % MeOH:a H₂O:ssa) puhtausaste 95 %, sp. 262 - 263°C (hajoaa).

IR $\nu_{\max}$ (Nujol) cm^{-1} : 3377 (br), 1762, 1615.
 UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ): 238 (sh, 13,000), 285 (4,010).
 SIMS m/z: 713 (M+H)⁺.

Noudattamalla edellä kuvattua menettelyä hydrattiin 97 mg 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-2"-fosfaattidibentsyyliesteriä, jolloin saatiin 70 mg (noin 100 %) dinatriumetoposidi-2"-fosfaattia (yhdiste XII) harmaana jauheena. HPLC:llä arvioitu puhtausaste 95 %.

Sp. 255-257°C (hajoaa)
 IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} : 3460, 1772, 1615.
 UV $\lambda_{\max}$ nm (ϵ): 240 (sh, 12,600), 284 (3,740).
 SIMS m/z: 713 (M+H)⁺, 735 (M+Na)⁺.

Vastaavalla tavalla hydrattiin 135 mg (4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-3")-fosfaattibentsyyliesteriä, jolloin saatiin 60 mg (58 %) natrium-bis(etoposidi-3")-fosfaattia (yhdiste XIII) vaaleanharmaana jauheena. HPLC:llä arvioitu puhtausaste 95 %.

Sp. 265-266°C (hajoaa)
 IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} : 3460, 1772, 1620.
 UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ): 240 (sh, 24,600), 285 (7,730).
 SIMS m/z: 1262 (M+H)⁺, 1285 (M+Na+1)⁺.

Esimerkki 2a. 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidin tosyylaatio

4-dimetyyliaminopyridiini (200 mg) ja tosyylidikloridi (870 mg, 4,6 mmol) lisättiin liuokseen, joka sisälsi 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidia (esimerkin 1 vaiheen a tuote, 2,2 g 3 mmol) kuivassa pyridiinissä (50 ml), lämpötilassa 0°C ja sekoitettiin sta 3 vrk huoneen lämpötilassa. Lisättiin molekyyliseuloja (4 Å) ja lisää tosyylidikloridia (870 mg, 4,6 mmol) seokseen ja jatkettiin sekoitusta 1 viikko huoneen lämpötilassa. Tämä jakson lopussa sakka erotettiin suodattamalla; suodos laimennettiin CH₂Cl₂:lla, pestiin vedellä, 5-%:isella HCl:lla, NaHCO₃:n vesiliuoksella ja vedellä, kuivattiin vedettömällä natriumsulfaattilla ja väkevöitiin sitten alipaineessa, jolloin saatiin epäpuhtas kiinteä tuote (2,35 g), joka sisälsi kolme komponenttia (silikageeli-TLC: R_f 0,8, 0,6 ja 0,4) ja joka jaettiin osiin silikageelipylväskromatografialla (2 % MeOH:a CH₂Cl₂:ssa). Fraktiot, jotka antoivat täplän R_f-arvolla 0,8, yhdistettiin ja haihdutettiin alipaineessa, jolloin saatiin 602 mg (19 %) 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-2",3"-ditosylaattia (XIV) värittömänä jauheena. Fraktioista, joiden R_f oli 0,6 ja 0,4, saatiin samalla tavalla 690 mg (26 %) 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-3"-tosylaattia (XV) ja vastaavasti 156 mg (6 %) 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidia-2"-tosylaattia (XVI) hydroskooppisena värittömänä jauheena.

4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-3"-tosylaatti (XV)

Sp. 145 - 148°C

Alkuaineanalyysi yhdisteelle C₄₄H₄₄O₁₇S·3H₂O:

Laskettu: C, 56,77; H, 5,42; S, 3,44

Mitattu: C, 56,84; H, 4,91; S, 3,90

4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-2"-tosylaatti (XVI)

Sp. 135 - 139°C

Alkuaine-analyysi yhdisteelle $C_{44}H_{44}O_{17}S \cdot 3H_2O$:

Laskettu: C 56,77; H, 5,41; S, 3,44

5

Mitattu: C, 56,84; H, 4,89; S, 3,70

4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-2",3"-ditosylaatti (XIV)

Sp. 149 - 152°C

- 10 b. Etoposidin 3"- ja 2"-tosylaattien ja 2",3"-ditosylaatin valmistus

15 Liuosta, joka sisälsi 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-3"-tosylaattia (47 mg, 0,05 mmol) etanolin ja asetonin seoksessa (4:1), 2,5 ml), hydrattiin sekoittaen paineessa 1 atm 1 tunti 10 % palladiumia hiilellä -katalyysaattorin (40 mg) läsnä ollessa. Katalysaattori erotettiin suodattamalla ja suodos väkevöitiin alipaineessa, jolloin saatiin epotosodi-3"-tosylaattia (yhdiste XVII) (42 mg, noin 100 %) värittömänä jauheena, joka sit-

20 ten uudelleenkiteytettiin etanolista, jolloin saatiin tuote värittöminä kiteinä. HPLC:llä arvioitu puhtausaste 90 %.

Sp. 175 - 178°C

IR $\nu_{\max}$ (KBr) (cm^{-1}): 3500 (leveä, 1780, 1600

25

UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) [$\bar{n}m$ (ξ)]: 245 (sh, 10260), 284 (3900)Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{36}H_{38}O_{15}S$:

Laskettu: C 58,21; H, 5,16; S, 4,32

Mitattu: C 57,80; H, 5,14; S, 4,43

30

Noudattamalla edellä kuvattua menettelyä hydrattiin 100 mg (0,09 mmol) 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-2"-tosylaattia, jolloin saatiin 114 mg (noin 100 %) etoposidi-2"-tosylaattia (yhdiste XVIII) värittömänä jauheena, joka uudelleenkiteytettiin metanolista, jolloin saatiin tuote hydroskooppisina kiteinä. HPLC:llä arvioitu puhtausaste 90 %:

35

Sp. 210 - 212°C

IR $\nu_{\max}$ (KBr) (cm^{-1}): 3500 (leveä, 1780, 1600

UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) (nm (ξ)): 243 (sh, 4560), 282 (1450)

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $\text{C}_{36}\text{H}_{38}\text{O}_{15}\text{S}\cdot\text{H}_2\text{O}$:

5 Laskettu: C, 56,83; H, 5,30; S, 4,21

Mitattu: C, 56,87; H, 5,37; S, 4,19

Samalla tavalla hydrattiin 80 mg (0,08 mmol)

4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-2",3"-ditosylaattia, jolloin saatiin 72 mg (noin 100 %) epotosidi-2",3"-ditosylaattia (yhdiste XIX) värittömänä jauheena, joka uudelleenkiteytettiin metanolista, jolloin saatiin tuote valkeina kiteinä. HPLC:llä arvioitu puhtausaste 90 %.

Sp. 169 - 171°C

IR $\nu_{\max}$ (KBr) (cm^{-1}): 3400 (leveä, 1770, 1600

15 UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) (nm (ξ)): 245 (sh, 11750), 284 (3840).

Esimerkki 3

a. 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidin mesylaatio

Mesyylikloridi (270 μl , 2,8 mmol) lisättiin liuokseen, joka sisälsi 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidia (1,00 g, 1,4 mol) kuivassa pyridiinissä (50 ml) ja seosta sekoitettiin yön yli huoneen lämpötilassa. Reaktioseos laimennettiin etyyliasetaatilla, pestiin vedellä, 5-%:isella HCl:lla, natriumvetykarbonaatin vesiliuoksella ja vedellä, kuivattiin natriumsulfaatilla ja suodatettiin. Suodos väkevöitiin alipaineessa, jolloin saatiin epäpuhdas kiinteä tuote (1,4 g), joka sisälsi kolme komponenttia (silikageeli-TLC: R_f 0,51, 0,44 ja 0,40), jotka erotettiin toisistaan silikageelipylväskromatografialla (1 % metanolia metyleenikloridissa). Fraktiot, jotka antoivat täplän R_f -arvolla 0,51, yhdistettiin ja haihdutettiin alipaineessa, jolloin saatiin 440 mg (36 %) 4'-bentsyloksidikarbonyylietoposidi-2",3"-dimesylaattia (XX). Samalla tavalla saatiin fraktioista, joiden R_f -arvot olivat 0,44 ja 0,40, 314 mg (32 %) 4'-bentsyloksi-

karbonyylietoposidi-3"-mesylaattia (XXI) ja 248 mg (26 %) 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-2"-mesylaattia vastaavasti (XXII) värittöminä jauheina.

4'-bentsyloksikarbovylietoposidi-3"-mesylaatti (XXI)

5 Sp. 167 - 170°C

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{38}H_{40}O_{17}S \cdot \frac{1}{2}H_2O$:

Laskettu: C, 56,36; H, 4,98; S, 3,96

Mitattu: C, 56,23; H, 5,06; S, 4,14

4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-2"-mesylaatti (XXII)

10 Sp. 159 - 161°C, hygroσκοoppinen

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{38}H_{40}O_{17}S \cdot 3H_2O$:

Laskettu: C, 55,13; H, 5,11; S, 3,87

Mitattu: C, 55,29; H, 5,00; S, 4,00

4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-2",3"-dimesylaatti

15 Sp. 226 - 228°C

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{39}H_{42}O_{19}S_2 \cdot \frac{1}{2}H_2O$:

Laskettu: C, 52,76; H, 4,77; S, 7,22

Mitattu: C, 52,78; H, 4,77; S, 7,31

b. Etoposidin 3"- ja 2"-mesylaattien valmistus

20 Liuosta, joka sisälsi 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-3"-mesylaattia (60 mg, 0,07 mmol) etanolin ja asetonin seoksessa (4:1, 2,5 ml) hydraattiin sekoittaen paineessa 1 atm 1 tunti 10 % palladiumia hiilellä -katalysaattorin (30 mg) läsnä ollessa. Kun katalysaattori oli erotettu suodattamalla, suodos väkevöitiin alipaineessa, jolloin saatiin etoposidi-3"-mesylaattia (yhdiste XXIII) värittömänä jauheena. HPLC:llä arvioitu puhtausaste 90 %.

Sp. 226 - 229°C

IR $\nu_{\max}$ (KBr) (cm^{-1}): 3500 (leveä), 1770, 1610

30 UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) (ϵ): 740 (sh, 12900), 286 (3950)

Samalla tavalla hydrattiin 30 mg (0,04 mg) 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-2"-mesylaattia, jolloin saatiin 23 mg (95 %) etoposidi-2"-mesylaattia (yhdiste XXIV) värittömänä jauheena. HPLC:llä arvioitu puhtausaste 95 %.

35

Sp. 179 - 181°C

IR $\nu_{\max}$ (KBr) (cm^{-1}): 3500 (leveä), 1770, 1620

UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) (nm (97): 240 (sh, 12200), 285 (3950).

5

Esimerkki 4

4'-bentsyloksikarbonyylietoposidin (350 mg, 0,5 mmol) ja difenyylifosfonyylietoposidin (322 mg, 1,2 mmol) seosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa 2 vrk, laimennettiin metyleenikloridilla (50 ml), pestiin vedellä, 10-%:isella HCl:lla ja natriumvetykarbonaatin vesiliuoksella ja kuivattiin sitten vedettömällä natriumsulfaattilla. Liuotin haihdutettiin alipaineessa, jolloin saatiin 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidi-3"-difenyylifosfaattia (XXV) epäpuhtaana puolikiinteänä aineena (290 mg). Tämän puolikiinteän aineen (190 mg) liuosta hydrattiin sekoittaen paineessa 1 atm käyttämällä katalysaattorina 10 % palladiumia hiilellä. Kun katalysaattori oli erotettu suodattamalla, suodos väkevöitiin alipaineessa, jolloin saatiin 131 mg epäpuhdasta puolikiinteää ainetta, joka käsiteltiin sitten kromatografisesti silikageelipylväällä (1 % metanolia metyleenikloridissa), jolloin saatiin 59 mg (20 %) etoposidi-3"-difenyylifosfaattia (yhdiste XXVI). HPLC:llä arvioitu puhtausasta 80 %.

25

Sp. 126 - 130°C

IR $\nu_{\max}$ (Nujol) (cm^{-1}): 3350, 1770, 1600

FAB-MS: m/z 820 (M^+).

Esimerkki 5

Natrium-3"- ja -2"etoposidisulfaattien valmistus

30

Liuokseen, joka sisälsi 4'-bentsyloksikarbonyylietoposidia (500 mg, 0,69 mmol) kuivassa pyridiinissä (20 ml) argonin alla, lisättiin rikkiatrioksidi-pyridiini-kompleksia (330 mg, 2,07 mmol). Kun seosta oli sekoitettu huoneen lämpötilassa kolme tuntia, lisättiin vielä rikkiatrioksidi-pyridiini-kompleksia (250 mg,

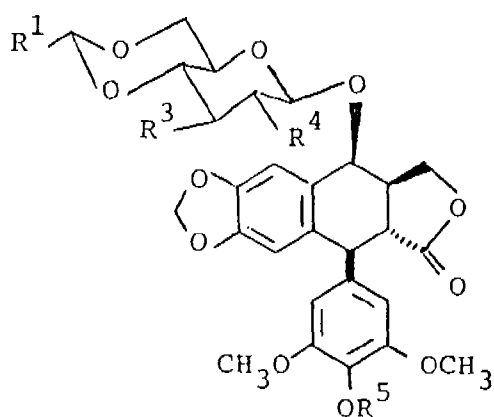
35

1,59 mmol) ja sekoitettiin huoneenlämpötilassa 15 tuntia. Seos väkevöitiin alipaineessa lämpötilassa alle 40°C, jolloin saatiin epäpuhdasta öljyä (1,2 g), joka käsiteltiin kromatografisesti silikgeelipylväällä (2 %
 5 MeOH:a CH₂Cl₂:ssa), jolloin saatiin 2"- ja 3"-sulfaattien seos (411 mg). Tämän seoksen (400 mg, 0,49 mmol) liuos EtOH:n ja asetoninseoksessa (4:1, 15 ml) hydrattiin sekoittaen käyttämällä katalysaattorina 10 % palladiumia hiilellä (400 mg) paineessa 1 atm. Katalysaattori pois-
 10 tettiin suodattamalla ja suodos väkevöitiin alipaineessa, jolloin saatiin 370 mg regioisomeeriseosta, joka jaettiin yksittäisiksi isomeereiksi C₁₈-käänteisfaasikolonnikromatografialla, jolloin saatiin 52 mg (16 %) 3"-sulfaattia (XXVII), 107 mg (32 %) 2"-sulfaattia
 15 (XXVIII) ja 138 mg niiden seosta. 3"-sulfaatti johdettiin Dowex 50W (Na⁺)-hartsikolonnin läpi käyttämällä eluenttina vettä ja vesiliukoiset fraktiot kylmäkuivattiin, jolloin saatiin yhdisteen XXVII natriumsuolaa värittömänä jauheena. Samalla tavalla valmistettiin yhdisteen XXVIII
 20 natriumsuolaa värittömänä jauheena.

XXVII: Sp. 223-225°C. Arvioitu puhtausaste (HPLC) 90 %
 IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm⁻¹ 3440, 1770, 1620. UV $\lambda_{\max}$
 (MeOH) nm (ϵ) 240 (sh, 11,600), 284 (3,670). SIMS
 25 m/z 691 (M+H)⁺, 713 (M+Na)⁺.

XXVIII: Sp. 246-247°C. Arvioitu puhtausaste (HPLC) 95 %
 IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm⁻¹ 3450, 1770, 1620. UV $\lambda_{\max}$
 (MeOH) nm (ϵ) 240 (sh, 11,200), 285 (3,650). SIMS
 30 m/z 691 (M+H)⁺, 713 (M+Na)⁺.

Esimerkeissä 1 - 5 valmistettujen yhdisteiden rakenteet esitetään seuraavassa.



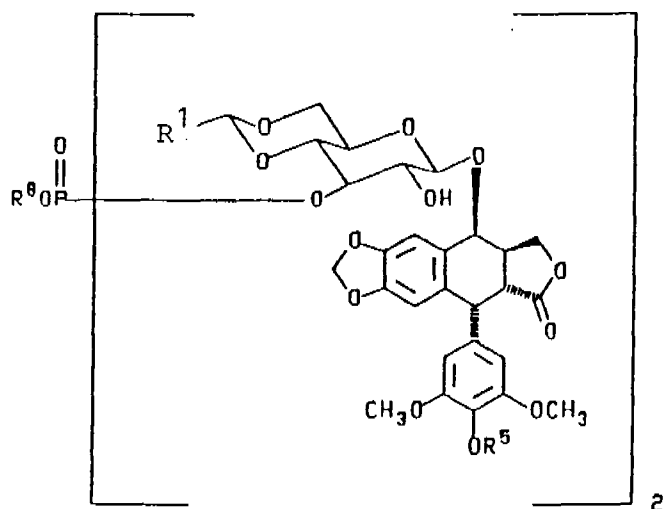
(V)

Esi- merkki	Yhdiste	R ¹	R ³	R ⁴	R ⁵
1a	VII	CH ₃	-OH	-OH	CBZ ^(*)
1b	VIII	CH ₃	(BzO) ₂ PO ₂ ⁻	-OH	CBZ
1b	X	CH ₃	OH	(BzO) ₂ PO ₂ ⁻	CBZ
1c	XI	CH ₃	(NaO) ₂ PO ₂ ⁻	-OH	H
1c	XII	CH ₃	-OH	(NaO) ₂ PO ₂ ⁻	H
2a	XIV	CH ₃	pCH ₃ -C ₆ H ₄ -SO ₃ ⁻	pCH ₃ -C ₆ H ₄ -SO ₃ ⁻	CBZ
2a	XV	CH ₃	pCH ₃ -C ₆ H ₄ -SO ₃ ⁻	OH	CBZ
2a	XVI	CH ₃	-OH	pCH ₃ -C ₆ H ₄ -SO ₃ ⁻	CBZ
2b	XVII	CH ₃	pCH ₃ -C ₆ H ₄ -SO ₃ ⁻	OH	H
2b	XVIII	CH ₃	OH	pCH ₃ -C ₆ H ₄ -SO ₃	H
2b	XIX	CH ₃	pCH ₃ -C ₆ H ₄ -SO ₃ ⁻	pCH ₃ -C ₆ H ₄ -SO ₃ ⁻	H
3a	XX	CH ₃	CH ₃ SO ₃ ⁻	CH ₃ SO ₃ ⁻	CBZ
3a	XXI	CH ₃	CH ₃ SO ₃ ⁻	OH	CBZ
3a	XXV	CH ₃	OH	CH ₃ SO ₃ ⁻	CBZ
3b	XXIII	CH ₃	CH ₃ SO ₃ ⁻	OH	H
3b	XXIV	CH ₃	OH	CH ₃ SO ₃ ⁻	H
4	XXV	CH ₃	(PhO) ₂ PO ₂	OH	CBZ
4	XXVI	CH ₃	(PhO) ₂ PO ₂	OH	H
5	XXVII	CH ₃	NaSO ₄ ⁻	OH	H
5	XXVIII	CH ₃	OH	NaSO ₄ ⁻	H

^{*)} CBZ = bentsyloksikarbonyyli; Bz = bentsyyli

5

10



VI

15	<u>Esi-</u> <u>merkki</u>	<u>Yhdiste</u>	<u>R¹</u>	<u>R⁵</u>	<u>R⁸</u>
	1b	IX	CH ₃	CBZ	Bz
	1c	XIII	CH ₃	H	Na-

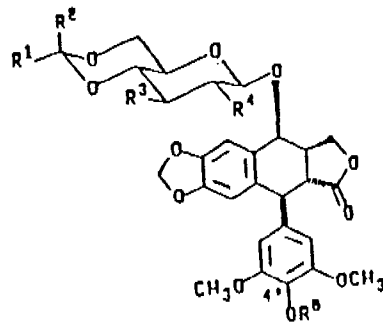
20

Esimerkki 6

Toistetaan esimerkeissä 1 - 5 kuvatut yleiset menettelyt käyttämällä teniposidia etoposidin sijasta, jolloin saadaan yhdisteiden VII - XXVIII kanssa analogisia teniposidiyhdisteitä (ts. R¹ on 2-tienyyliryhmä)

Patenttivaatimukset:

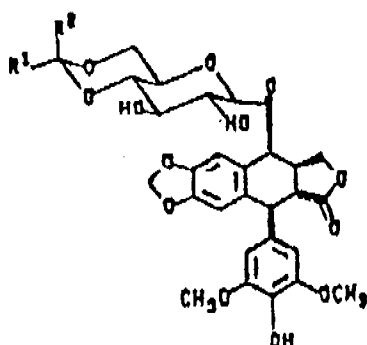
1. Menetelmä yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava V



V

jossa ryhmä R^2 on H ja ryhmä R^1 on C_{1-10} -alkyyli,
 C_{2-10} -alkenyyl-, C_{5-6} -sykloalkyyli-, 2-furyyli-,
 2-tienyyli-, C_{6-10} -aryyli-, C_{7-14} -aralkyyli- tai C_{8-14} -
 aralkenyyliryhmä, jolloin kukin aromaattisista renkaista
 voi olla substituimaton tai substituotua yhdellä
 tai useammalla ryhmällä, joita ovat halogeeniatomit
 ja C_{1-8} -alkyyli-, C_{1-8} -alkoksyyl-, hydroksyyli-, nitro-
 ja aminoryhmät; tai kumpikin ryhmistä R^1 ja R^2 on C_{1-8} -
 alkyyli-ryhmä; tai ryhmät R^1 ja R^2 ja hiiliatomi, johon
 ne ovat liittyneet, muodostavat yhdessä C_{5-6} -sykloalkyy-
 liryhmän; ryhmät R^3 ja R^4 ovat ryhmiä $-OH$, OSO_2R^6 tai
 $-OSO_3H$ tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja,
 $-OP(X)(OH)_2$ tai sen farmaseuttisesti hyväksyttäviä suolo-
 ja tai $-O(X)(OR^7)_2$, jolloin R^6 on vetäytömi tai C_{1-5} -
 alkyyli-, fenyyli-, C_{1-5} -alkyyli-substituoitu fenyyli-
 tai fenyyli- C_{1-5} -alkyyli-ryhmä; R^7 on fosfonaattiryhmän
 suojausryhmä; X on happi- tai rikkiatomi sillä edellytyk-
 sellä, etteivät molemmat ryhmistä R^3 ja R^4 ole $-OH$ -ryhmiä;
 ja R^5 on H tai fenoliryhmän suojausryhmä, t u n n e t -
 t u siitä, että

(a) suojataan yhdisteen, jolla on kaava



jossa R^1 ja R^2 ovat edellä määritellyjä ryhmiä,
4'-fenoliryhmä;

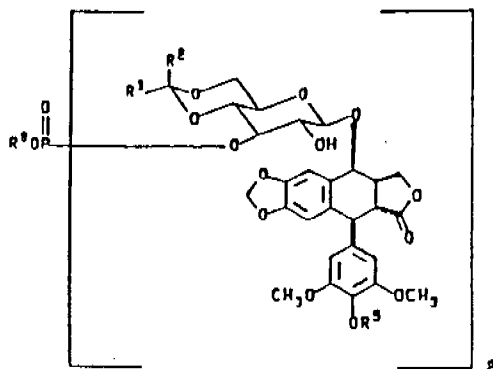
(b) saatetaan vaiheesta (a) saatu tuote, jonka 4'-feno-
liryhmä on suojattu, reagoimaan yhdisteen kanssa, joka
on SO_3 , R^6SO_2Cl tai $(R^7O)P(X)Cl$, jolloin R^6 , R^7 ja X
ovat edellä määritellyjä ryhmiä;

(c) poistetaan mahdollisesti fosfaattiryhmää suojaava
ryhmä R^7 ;

(d) poistetaan mahdollisesti 4'-fenoliryhmää suojaava
ryhmä; ja

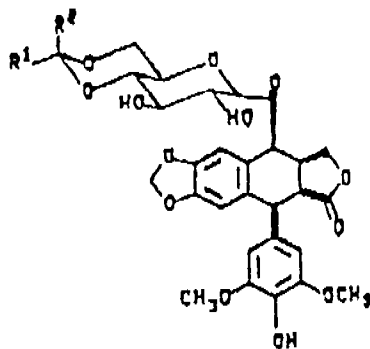
(e) erotetaan isomeerit.

2. Menetelmä yhdisteen valmistamiseksi, jolla on
kaava



jossa R^8 on H tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suo-
la tai ryhmä R^7 ja R^1 , R^2 , R^5 ja R^7 ovat patenttivaati-
muksessa 1 määriteltyjä ryhmiä; tai patenttivaatimuk-
sen 1 mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaa-
5 va V, jossa R^3 ja R^4 ovat ryhmiä $-OH$ tai $-OP(X)(OH)_2$
tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja tai
 $-OP(X)(OR^7)_2$, jolloin X ja R^7 ovat patenttivaatimuksessa
1 määriteltyjä ryhmiä, sillä edellytyksellä, etteivät
 R^3 ja R^4 ole molemmat OH-ryhmiä, t u n n e t t u siitä,
10 että

(a) suojataan yhdisteen, jolla on kaava



jossa R^1 ja R^2 ovat patenttivaatimuksessa 1 määriteltyjä
ryhmiä; 4'-fenoliryhmä;

(b) saatetaan vaiheesta (a) saatu tuote, jonka 4'-fenoli-
ryhmä on suojattu, reagoimaan PCl_3 :n kanssa ja käsitel-
25 lään muodostuneet välituotteet in situ alkoholilla R^7OH ;

(c) poistetaan mahdollisesti 4'-fenoliryhmää suojaava
ryhmä; ja

(e) erotetaan isomeerit.

TUTKIMUSRAPORTTI

[illegible]

[illegible]