



FI000112658B



SUOMI – FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

(12) PATENTTIJULKAISU
PATENTSKRIFT

(10) FI 112658 B

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats

31.12.2003

(51) Kv.lk.7 - Int.kl.7

C07D 311/24, 311/22, 493/08

(21) Patentihakemus - Patentansökning

944656

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag

05.10.1994

(24) Alkupaivä - Löpdag

08.03.1993

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig

05.10.1994

(86) Kv. hakemus - Int. ansökan

PCT/US93/02102

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

06.04.1992 EP 92400957 P

(73) Haltija - Innehavare

1 •Merrell Pharmaceuticals Inc., 2110 East Galbraith Road, Cincinnati, OH 45215-6300, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1 •Grisar, J. Martin, Lotissement Wingersbach, 7 Rue de Mulhouse, 67160 Wissembourg, RANSKA, (FR)

2 •Petty, Margaret A., 2 Allee de la Robertsau, 67000 Strasbourg, RANSKA, (FR)

3 •Bolkenius, Frank, Bierkellerstrasse 15B, 7640 Kehl, SAKSA, (DE)

(74) Asiamies - Ombud: Kolster Oy Ab

Iso Roobertinkatu 23, 00120 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

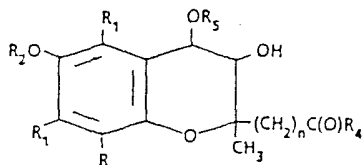
Menetelmä uusien kardioprotektiivisten hydroksibentsopyraani-2-karboksyylihappojohdannaisten ja niiden laktonien valmistamiseksi

Förfarande för framställning av nya kardioprotektiva hydroxibensopyran-2-karbonsyraderivat och laktonerna därav

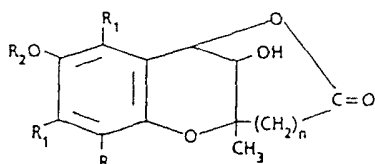
(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Tämä keksintö koskee kaavojen (IA) ja (IB) mukaisia 3,4-dihydro-2,5,7,8-tetra-alkyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksyylihappojen ja niiden laktoneiden hydroksijohdannaisia,



tai



joissa kaavoissa R on H tai alkyyli, R₁ on alkyyli, R₂ on H tai C(O)R₃, R₃ on H tai alkyyli, R₄ on OR tai N(R)₂, R₅ on H, -C(O)R tai alkyyli, ja n on nolla tai yksi. Yhdisteet ovat terapeuttisesti käyttökelpoisia vapaiden happiradikaalien aiheuttaman kudosaaurion hoidossa. Keksintö koskee myös yhdisteiden (I) valmistusta.

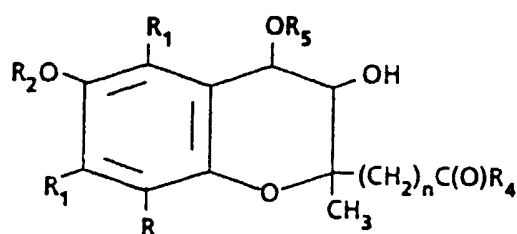
Uppfinningen avser hydroxiderivat av 3,4-dihydro-2,5,7,8-tetra-alkyl-2H-1-bensopyran-2-karbonsyror och laktonerna därav med formlerna (IA) och (IB), vari R är H eller alkyl, R_1 är alkyl, R_2 är H eller $C(O)R_3$, R_3 är H eller alkyl, R_4 är OR eller $N(R)_2$, R_5 är H, $-C(O)R$ eller alkyl, och n är noll eller ett. Föreningarna är terapeutiskt användbara i behandlingen av vävnadsskada, förorsakad av fria syreradikaler. Uppfinningen avser även framställningen av förningarna (I).

Menetelmä uusien kardioprotektiivisten hydroksibentsopyraani-2-karboksyylihappojohdannaisten ja niiden laktonien valmistamiseksi

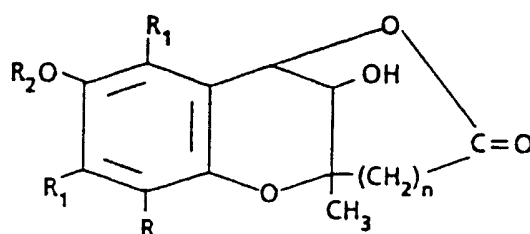
5 Tämä keksintö liittyy tiettyihin 3,4-dihydro-2,5,7,8-tetra-alkyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksyylihapon hydroksijohdannaisiin ja näiden laktoneihin, näiden valmistuksessa käyttökelpoisiin menetelmiin ja välituot-

10 teisiin sekä niiden käyttöön vapaan radikaalin sieppaajina vapaiden happiradikaalien aiheuttaman kudostuhoon hoidossa.

Erityisesti tämä keksintö koskee kaavojen (IA) ja (IB) mukaisia yhdisteitä



IA



IB

niiden yksittäisiä isomeereja ja niiden seoksia ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja, joissa

- 30 R on H tai C₁₋₄-alkyyli,
 R₁ on C₁₋₄-alkyyli,
 R₂ on H tai C(O)R₃,
 R₃ on H tai C₁₋₉-alkyyli,
 R₄ on OR tai N(R)₂,
 35 R₅ on H, -C(O)R tai C₁₋₄-alkyyli, ja
 n on nolla tai yksi.

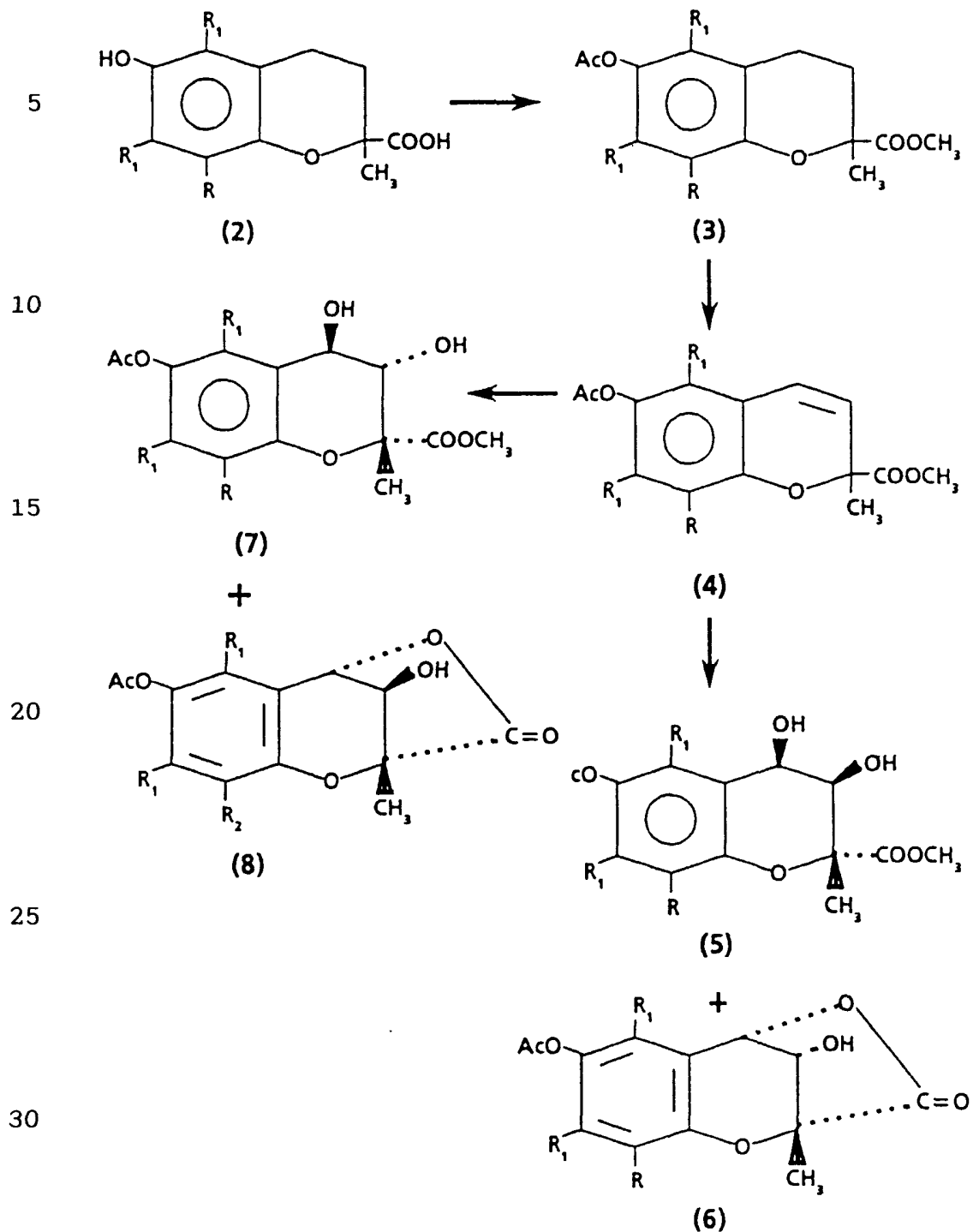
Tässä käytettynä termi alkyyli käsittää suora- ja haaraketjuiset radikaalit, joissa on edellä esitetty määrä hiiliatomeita, edullisesti metyylin ja etyylin. $C(O)R_3$ -osa käsittää formyylin ja suora- ja haaraketjuiset alkyylirikarbonyyliosat, edullisesti formyylin, metyylikarbonyylin tai etyylikarbonyylin. Tapauksessa, jossa R_4 muodostaa amidin, on edullista, että molemmat alkyyliryhmät ovat samoja, ja että alkyyliradikaalit ovat metyyli tai etyyli sekä mono- että dialkyloidussa amidoasemassa. Kun muuttujia kuten R käytetään rakenteen määrittelyssä useammin kuin kerran, se tarkoittaa, että jokaisessa tapauksessa muuttuja voi kuvata eri osaa.

Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet käsittävät stereoisomeerejä; termi "stereoisomeeri" on yleinen nimitys kaikille yksittäisen molekyylin isomeereille, jotka eroavat toisistaan vain niiden atomien avaruudellisen orientaation suhteen. Se käsittää peilikuvaisomeerit (enantioisomeerit), geometriset isomeerit (cis/trans-isomeerit) ja enemmän kuin yhden kiraalisen keskuksen omaavien yhdisteiden isomeerit, jotka eivät ole peilikuvia toisilleen (diastereoisomeerit).

Yleisesti rakennekaavojen 1A ja 1B mukaisia yhdisteitä (yhdessä nimetty rakennekaavojen 1 mukaisiksi yhdisteiksi) voidaan valmistaa, eristää ja muuttaa halutuiksi suoloiksi kemiallisilla menetelmillä, jatkokäsittely- ja kiteyttämistekniikoilla analogisesti tekniikan tason mukaisten menetelmien kanssa. Lähtöaineet ovat sopivasti joko tunnettuja tai niitä voidaan valmistaa vakiomenetelmillä.

Kaavan 1 mukaisten yhdisteiden valmistus voidaan kaavamaisesti esittää seuraavissa reaktiokaavioissa A ja B.

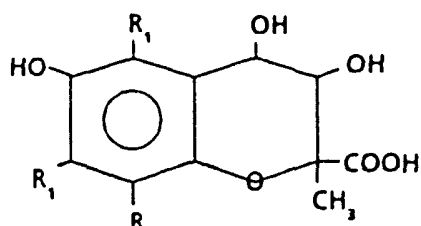
Reaktiokaavio A



jossa R ja R₁ ovat edellä määriteltäviä ja Ac on edullinen asyyliosa.

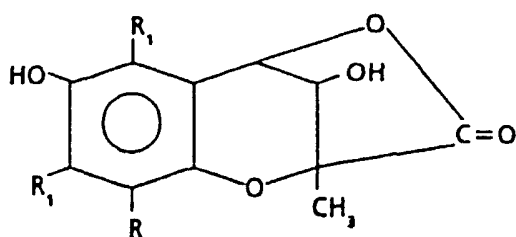
Reaktiokaavio A (jatkuu)

(5) - (8)



[4 isomeeriä
8 enantio-
meeriä]

(9)



[2 isomeeriä
4 enantio-
meeriä]

(10)

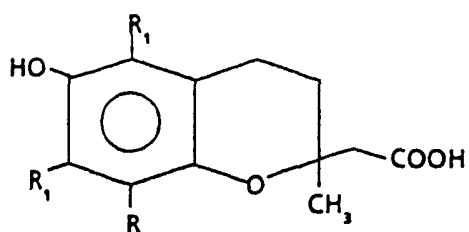
Tässä reaktiosekvenssissä hapot (2) esteröidään ja asetyloidaan peräkkäin yhdisteiden (3) muodostamiseksi, jotka dehydrogenoidaan reagenssin kuten esimerkiksi DDQ:n (2,3-dikloori-5,6-disyano-1,4-bentsokinoni) avulla väli-

tuotteeksi (4). Cis-dihydroksylaatio reagenssin, kuten esimerkiksi osmiumtetroksidin, avulla tuottaa laktonit (6) ja dihydroksiestereit (5). Molemmat voidaan hydrolysoida dihydroksihapoiksi (9) (joissa hydroksiryhmät ovat cis-asennossa toisiinsa nähden), mutta vain toinen voi laktonoitua uudelleen yhdisteeksi (10). Lähtien resolvablesta yhdisteestä (2) eli yhdisteen (2) S- ja R-enantiomeereistä, voidaan saada kahta yhdisteen (10) neljästä mahdollisesta enantiomeeristä, ja neljää yhdisteen (9) kahdeksasta

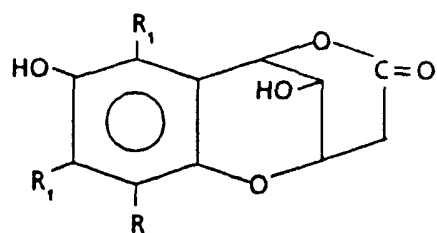
5 mahdollisesta enantiomeeristä. Trans-dihydroksyloimalla reagenssilla, kuten esimerkiksi dimetyylidioksiraanilla, saadaan laktoneita (7) ja dihydroksiestereitä (8), joista analogisesti saadaan muita yhdisteiden (9) ja (10) enantiomeerejä.

10 Samalla tavalla saadaan reaktiokaavion B mukaisesti homologisista hapoista (11) lähtien edellisen reaktiokaavio A:n mukaista prosessitekniikkaa käyttäen δ -laktoneita (12) ja dihydroksihappoja (13). Yhdisteiden (4) hydrolyysillä ja amidoinnilla tai yhdisteiden (11) amidoinnilla saadaan amideja (14), joiden cis- ja trans-dihydroksylaatiolla saadaan dihydroksiamideja (15).

Reaktiokaavio B

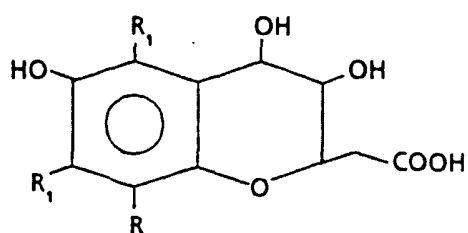


(11)

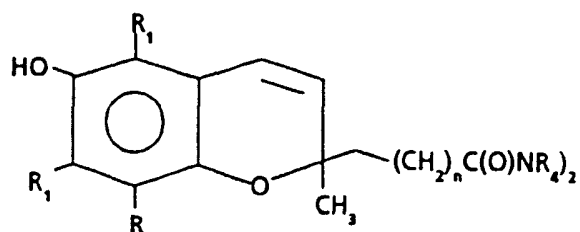


(12)

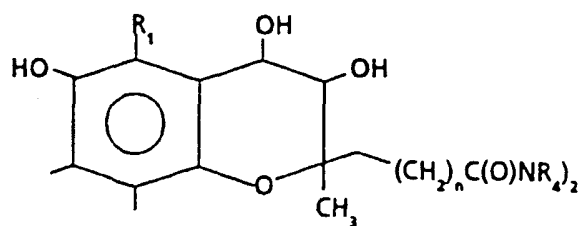
+



(13)



(14)



(15)

Seuraavat esimerkit valaisevat tämän keksinnön mu-
kaisten yhdisteiden valmistuksen yksityiskohtia ja tekni-
koita.

Esimerkki 1**Metyyli-(2-R,S)-asetyylioksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksylaatti**

5 Liuosta, jossa on 100 g (2-R,S)-3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksyylihappoa ja 1 g p-tolueenisulfonihappoa liuotettuna 700 ml:aan kuivaa metanolia, sekoitetaan refluksointilämpötilassa 20 tunnin ajan. Noin 400 ml metanolia haihdutetaan ja jäännöksen annetaan jäähtyä kiteyttämistä varten.
10 Esteri kerätään talteen, pestään pienellä määrällä metanolia ja kuivataan.

Esteri liuotetaan 500 ml:aan pyridiiniä, 250 ml asetaattianhydridiä lisätään ja syntyvää liuosta sekoitetaan yön yli huoneenlämpötilassa. Veden ja jään lisääminen saostaa asetaatin, joka kerätään talteen, pestään vedellä ja kuivataan 80 °C:ssa 0,1 mm:n paineessa fosforipentoksidin läsnä ollessa. Tuote voidaan kiteyttää uudelleen etyyliasetaatin ja heptaanin seoksesta.

Tähän esteriin lisätään 1,1 ekvivalenttia (99,93 g)
20 2,3-dikloori-5,6-disyano-1,4-bentsokinonia (DDQ) 600 ml:ssa tolueenia ja seosta sekoitetaan refluksointilämpötilassa 24 - 48 h:n ajan. Seoksen annetaan jäähtyä, se suodatetaan kiinteiden aineiden poistamiseksi ja ajetaan aktivoitulla alumiinioksidilla täytetyn pylvään läpi vä-
25 rillisen materiaalin poistamiseksi. Tämä prosessi voidaan joutua toistamaan kaiken värin poistamiseksi. Eluaatti haihdutetaan ja jäännös kiteytetään uudelleen tolueenin ja heptaanin seoksesta, jolloin saadaan 57,32 otsikon yhdistettä. NMR-spektrissä CDCl₃:ssa nähdään kaksi kaksoisviivaa
30 δ:n (vs. TMS) arvojen 5,70 ja 6,56 ppm kohdalla kytkentävakiolla J = 7 Hz, mikä varmistaa rakenteen.

Esimerkki 2**Metyyli-2S-(-)-6-asetyylioksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksylaatti**

Kuumaan liuokseen, jossa on 78,07 g (311,9 mmol)
5 (2-R,S)-3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksyylihappoa 400 ml:ssa 2-propanolia, lisätään 37,80 g (311,9 mmol) S-(-)- α -metyylibentsyyliamiinia, ja liuoksen annetaan jäähtyä jääkaapissa hitaasti usean päivän ajan. Syntyvät diastereomeerisen suolan kiteet kerätään talteen ja kiteytetään uudelleen kolme kertaa 2-propanolista, jälleen huolehtien siitä, että kiteytyminen tapahtuu hitaasti joka kerralla. Syntyvä tuote (45,13 g, 39 %, sp. 149 - 59 °C) suspendoidaan 400 ml:aan vettä, 100 ml 2N HCl:a lisätään, ja happo uutetaan etyyliasetaatilla. Uute kuivataan natriumsulfaatilla, suodatetaan, ja haihdutetaan, jolloin saadaan 30,40 g (39 %) S-(-)-enantiomeeriä, sp. 157 - 159 °C, $[\alpha]_D^{25} = -71,26$ (c = 1,03 CH₃OH:ssa).
15

Tämä tuote esteröidään, asetyloidaan ja dehydrogenoidaan DDQ:lla, kuten kuvattu esimerkissä 1, jolloin saadaan otsikon yhdistettä, jonka $[\alpha]_D^{25} = -246,86$ (c = 1,05 CH₃OH:ssa).
20

Esimerkki 3**Metyyli-2R-(+)-6-asetyylioksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksylaatti**
25

Esimerkin 2 diastereomeerisen suolan kiteytyksen ja uudelleenkiteytyksen yhdistetyt suodokset haihdutetaan ja konvertoidaan vapaaksi hapoksi, 46,68 g (60 %). Tähän jäännökseen lisätään 22,60 g (186,5 mmol) R-(+)- α -metyylibentsyyliamiinia 2-propanolissa, ja hitaan kitettämisen ja kahden uudelleenkiteyttämisen jälkeen saadaan 48,78 g diastereomeeristä suolaa, sp. 149 - 150 °C (sekoitettaessa sulamispiste alenee 112 - 124 °C:seen) ja se konvertoidaan vapaaksi hapoksi, sp. 157 - 159 °C, $[\alpha]_D^{25} = +73,75$ (c = 1,04 CH₃OH:ssa).
30
35

Esimerkki 4

10-anti-(+/-)-7-asetyylioksi-2,3-dihydro-10-hydroksi-2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentso-dioksepiini-3-oni

- 5 24,07 g:aan (176,8 mmol) N-metyylimorfoliini-N-oksidimonohydraattia 200 ml:ssa vettä ja 100 ml:ssa asetonia lisätään 5 ml 2,5-%:ista (w/v) osmiumtetroksidin liuosta t-butanolissa ja liuosta sekoitetaan 30 minuutin ajan. Tähän liuokseen lisätään tipoittain 5 - 7 h:n ajan liuosta, jossa on 51,24 g (168,4 mmol) esimerkissa 1 kuvattua metyyli-(2-R,S)-6-asetoksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentso-pyraani-2-karboksylaattia 350 ml:ssa asetonia. Seosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa yön yli ja refluksointi-lämpötilassa 6 h:n ajan. Seoksen jäähdyttyä siihen lisä-
- 10 tään 4 g natriumbisulfiittia 50 ml:ssa vettä sisältävää liuosta, ja seosta sekoitetaan 30 min:n ajan, se suodate-taan supergeelin läpi ja haihdutetaan. Kaikkien näiden käsittelyiden aikana tulisi huolellisesti välttää kontak-tia hyvin myrkyllisiin osmiumsuoloihin ja ne tulisi myös
- 15 asianmukaisesti hävittää. Jäännös hapotetaan laimealla rikkihapolla ja uutetaan kahdesti etyyliasetaatilla. Uute pestään laimealla rikkihapolla, vedellä ja kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella, kuivataan natriumsulfaa-tilla, suodatetaan ja haihdutetaan, jolloin saadaan
- 20 48,57 g öljyä. Kiteyttämällä etyyliasetaatista/heptaanista saadaan 38,81 g ainetta, joka uudelleenkiteytettiin, jol-loin saatiin 17,62 g otsikon yhdistettä ja 15,71 g toises-sa erässä 15,71 g ainetta, joka kuvataan seuraavassa esi-
- 25 merkissä. Ensimmäisen aine-erän uudelleenkiteytyksellä saadaan puhdas erä otsikon yhdistettä, sp. 210 - 211 °C, UV (CH₃CN): $\lambda_{\max}$ 289 (ϵ = 1925), 282 (sh), 224 (sh), 206 (47,266); IR (KBr) 1762 cm⁻¹; ¹H-NMR (DMSO); δ (ppm vs TMS) 6,49 (1, s, OH), 5,54 (1, s, 5-H), 4,43 (1, s, 10-H), 2,38 (3, s, COCH₃), 2,18 (3, s, Ar-CH₃), 2,14 (3, s, Ar-CH₃),
- 30 2,09 (3, s, Ar-CH₃), 1,69 (3, s, 2-CH₃).
- 35

Esimerkki 5

Metyyli-trans,cis-(+/-)-6-asetyylioksi-3,4-dihydro-3,4-dihydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksylaatti

- 5 Jälkimmäinen aine-erä, joka saatiin edellisessä esimerkissä, koostuu kahdesta yhdisteestä, kuten ohutkerroskromatografia osoittaa, jotka voidaan erottaa piihappogeelikromatografialla käyttäen uuttamiseen heptaanin ja etyyliasetaatin seoksia (3:1 ja 2:1). Toinen on esimerkissä 4 kuvattu yhdiste, toinen on otsikon yhdiste.

Esimerkki 6

10-anti-(+/-)-2,3-dihydro-7,10-dihydroksi-2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentsodioksepiini-3-oni

- 15 Liuokseen, jossa on 17,62 g esimerkin 4 otsikon yhdisteen 7-asetaatia 200 ml:ssa metanolia typen läsnä ollessa, lisätään 100 ml 2N NaOH:ia. Seosta sekoitetaan refluksointilämpötilassa 2 h:n ajan, jäähdytetään, hapotetaan 2N HCl:lla ja uutetaan kolme kertaa etyyliasetaatilla.
- 20 Uute pestään vedellä ja kahdesti natriumbikarbonaattiliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla, suodatetaan ja haihdutetaan. Bikarbonaattipesutuotteet hapotetaan ja uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla, jolloin saadaan kuivaamisen ja haihduttamisen jälkeen hapan tuote. Tämä lietetään vedettömään etyylietteriin, johon on lisätty kaasumaista HCl:a. Liuotin ja kaasu haihdutetaan niiden oltua huoneenlämpötilassa yön yli, jäännös otetaan talteen etyyliasetaattiin ja pestään bikarbonaattiliuksella, kuivataan ja haihdutetaan. Kaksi näin saatua ei-happaman tuotteen
- 25 fraktiota voivat vaatia kromatografiapuhdistusta ennen uudelleen kiteyttämistä etyyliasetaatista/heptaanista, jolloin saadaan otsikon yhdistettä, sp. 179 - 181 °C. UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ 298 nm (ϵ = 3322), 229 (sh), 206 (39123); IR (KBr) 1766 cm⁻¹; ¹H-NMR (CD₃OD) δ (ppm vs. TMS) 5.37 (1, s, 5-H), 4,23 (1, s, 10-H).
- 30
- 35

Esimerkki 7

Trans,cis-(+/-)-3,4-dihydro-3,4,6-trihydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksyylihappo

- 5 Esimerkkissä 5 kuvatun otsikon yhdisteen 6-asetattimetyyliesteriä sekoitetaan 1N 50-%:isen NaOH-metanolin kanssa typen alla 5 h:n ajan refluksointilämpötilassa. Jäähdytymisen jälkeen liuos hapotetaan 2N HCl:n avulla ja uutetaan etyyliasetaatilla. Uute pestään vedellä ja
- 10 kahdesti natriumbikarbonaattiliuoksella. Bikarbonaattipesutuotteet hapotetaan, kyllästetään natriumkloridilla ja uutetaan neljä kertaa etyyliasetaatilla. Liuos kuivataan natriumsulfaatilla, suodatetaan ja haihdutetaan, minkä jälkeen saadaan öljyä, joka kiteytyy etyyliasetaatista/heptaanista, jolloin saadaan otsikon yhdistettä. UV (CH₃CN)
- 15 $\lambda_{\max}$ 295 nm (ϵ = 3802), 223 (sh), 201 (35620); IR (KBr) 1717 cm⁻¹; ¹H-NMR (D₂O) δ (ppm vs TMS) 4,78 (1, s, 4-H), 4,32 (1, s, 3-H), 2,19 - 2,22 (9, 3s, Ar-CH₃), 1,70 (3, s, 2-CH₃).

Esimerkki 8

- 20 **10-anti-(+)-(2S,5R,10R)-7-asetyylioksi-2,3-dihydro-10-hydroksi-2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentsodioksepiini-3-oni**

- Lähtien 12,18 g:sta esimerksissä 2 kuvattua 2S-enantiomeeriä ja käyttäen esimerkissä 4 kuvattua menetelmää saadaan 11,98 g raakatuotetta. Kiteyttämällä 40 ml:sta etyyliasetaattia saadaan 2,49 g tuotetta. Suodoksen piihappogeelikromatografialla (eluutio etyyliasetaatti/heptaanilla: 1/2) saadaan fraktio, joka sisältää vielä 3,7 g samaa tuotetta ja uudelleenkiteyttämällä yhdistetty tuote
- 25 etyyliasetaatti/heptaanista saadaan 5,01 g (41 %) otsikon yhdistettä, sp. 201-5 °C, $[\alpha]^{25}_D$ = +58,92 (c = 1,02 CH₃OH:ssa). UV, IR ja ¹H-NMR vastaavat esimerkissä 4 kuvattujen raseemisten yhdisteiden arvoja.
- 30

Esimerkki 9

10-anti-(+)-(2S,5R,10R)-2,3-dihydro-7,10-dihydroksi-2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentsodioksepiini-3-oni

5 Edellisen esimerkin otsikon yhdisteen 7-asetaatti hydrolysoidaan ja laktonisoidaan uudelleen esimerkissä 6 kuvatulla menetelmällä, jolloin saadaan otsikon yhdistettä, sp. 172 - 173 °C, $[\alpha]_D^{25} = +63,24$ (c = 1,05 CH₃OH:ssa). UV, IR ja ¹H-NMR vastaavat esimerkissä 6 kuvatun raseemisen
10 yhdisteen arvoja.

Esimerkki 10

10-anti-(-)-(2R,5S,10S)-7-asetyylioksi-2,3-dihydro-10-hydroksi-2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentsodioksepiini-3-oni

15 Esimerkissä 8 kuvatun yhdisteen antipodia saadaan 50-%:isena saantona samalla menetelmällä mutta aloittaen esimerkissä 3 kuvatusta R-enantiomeeristä. Sp. 210 - 211 °C, $[\alpha]_D^{25} = -63,32$ (c = 1,15 CH₃OH:ssa). UV-, IR- ja ¹H-NMR-spektrit vastaavat esimerkissä 4 kuvattujen (+)-
20 enantiomeerin ja rasemaatin spektrejä.

Esimerkki 11

Cis, cis-(+)-(2R,3S,4S)-3,4-dihydro-3,4,6-trihydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksyylihappo

25 3,06 g:aan (1 mmol) edellisessä esimerkissä kuvattua laktoniasetaattia 50 ml:ssa metanolia typen alla lisätään 50 ml 2N natriumhydroksidia, ja seos kuumennetaan refluksointilämpötilaan 20 min:ksi. Syntyvä liuos jäädytetään, hapotetaan 60 ml:llä 2N suolahappoa ja konsentroidaan metanolin poistamiseksi. Jäljelle jäävä vesiliuos
30 uutetaan neljä kertaa etyylietterillä ja uute pestään natriumbikarbonaattiliuoksella. Vesifaasi yhdistetään bikarbonaattipesutuotteisiin, hapotetaan huolellisesti pienimmällä mahdollisella määrällä 2N suolahappoa, kyllästetään
35 natriumkloridilla ja uutetaan neljä kertaa etyy-

liasetaatilla. Uute kuivataan natriumsulfaatilla, suodataan ja haihdutetaan, jolloin saadaan 2,87 g otsikon yhdistettä, sp. 115 °C (dec.), $[\alpha]_D^{25} = +57,45$ (c = 1,02 MeOH:ssa). UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ 295 nm (ϵ = 3530), 225 (sh), 204 (35820); IR (KBr) 1718 cm⁻¹; ¹H-NMR (DMSO) δ (ppm vs TMS) 4,67 (1, d, J = 3,8, 4-H), 3,82 (1, d, J = 3,8, 3-H), 2,1 - 2,2 (9, 3s, Ar-CH₃), 1,62 (3, s, 2-CH₃); Anal.: C, H. NMR-spektri osoittaa, että yhdiste sisältää noin 10 % seuraavassa esimerkissä kuvattua laktonia.

10

Esimerkki 12

10-anti-(-)-(2R,5S,10S)-2,3-dihydro-7,10-dihydroksi-2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentsodioksepiini-3-oni

15

Edellisessä esimerkissä saatu kiteyttämisen emäliuos haihdutetaan, suspendoidaan vedettömään etyylietteeriin, ja kaasumaista vetykloridia annetaan kuplia siihen. Seoksen annetaan olla huoneenlämpötilassa yön yli ja sitten se haihdutetaan. Jäännös otetaan talteen etyyliasetaattiin, pestään natriumbikarbonaattiliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla, suodatetaan ja haihdutetaan. Kiteyttämällä etyyliasetaatista/heptaanista saadaan 530 mg otsikon ainetta, sp. 171 - 172 °C, $[\alpha]_D^{25} = -68,63$ (c = 1,02 CH₃OH:ssa). UV-, IR- ja ¹H-NMR-spektrit vastaavat esimerkissä 9 kuvattua enantiomeeria ja esimerkki 6:n raseemista yhdistettä.

25

Esimerkki 13

10-syn-(+)-(2S,5R,10S)-7-asetyylioksi-2,3-dihydro-10-hydroksi-2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentsodioksepiini-3-oni

30

Noin 0,1 M dimetyylioksiraanin asetoniliuosta saadaan lisäämällä annoksittain 250 g kaliumperoksimonosulfaattia (Oxone®) sekoitettuun suspensioon, jossa on 120 g natriumbikarbonaattia 200 ml:ssa vettä ja 140 ml asetonia noin 150 mm:n osittaisessa tyhjiössä, ja keräämällä tisle kuivaan jäällä ja asetonilla jäähdytettyyn erottimeen.

35

Tämä liuos (100 - 120 ml) lisätään 3,04 g:aan (1 mmol) metyyli-2S-(-)-6-asetyylioksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksylaattia (kuvattu esimerkissä 2) 50 ml:ssa asetonia, ja seosta sekoitetaan huoneenlämmössä 2 h:n ajan. Liuos kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan ja haihdutetaan kuivaksi huoneenlämpötilassa alennetussa paineessa, jolloin saadaan 3,74 g raakaepoksidia, joka on melko epästabiilia, ja johon lisätään välittömästi 1,96 g vedetöntä vedetöntä kaliumasetaatia ja 20 ml etikkahappoa. Seosta kuumennetaan refluksointilämpötilassa 1 h:n ajan, haihdutetaan kuivaksi ja otetaan talteen etyylietteriin. Syntynyt liuos pestään vedellä, kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella ja kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella, suodatetaan ja haihdutetaan, jolloin saadaan 2,96 g erästä öljyä. Kromatografioinnilla piihappogeelillä etyyliasetaatti/heksaanissa : 1/2 saadaan useita fraktioita, joista eräs (2,36 g) kiteytetään uudelleen etyyliasetaatti/heksaanista, jolloin saadaan otsikon yhdistettä, sp. 200 - 201 °C, $[\alpha]_D^{25} = +78,04$ (c = 1,02 CH₃OH:ssa). UV(CH₃CN) $\lambda_{\max}$ 289 nm (ϵ = 2037), 283 (sh), 224 (sh), 206 (42685); IR (KBr) 1798, 1734 cm⁻¹; ¹H-NMR (DMSO), δ (ppm vs. TMS) 6,30 (1, m, OH), 5,67 (1, d, J = 6 Hz, 5-H), 4,44 (1, dd, J₁ = 4, J₂ = 6 Hz, 10-H), 2,43 (3, s, COCH₃), 2,07 - 2,17 (9, 3s, Ar-CH₃), 2,07 - 2,17 (9, 3s, Ar-CH₃), 1,62 (3, s, 2-CH₃).

Esimerkki 14

Trans, trans-(-)-(2S, 3R, 4R)-3,4-dihydro-3,4,6-trihydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksyylihappo

Liuokseen, jossa on 460 mg (1,5 mmol) edellisessä esimerkissä kuvattua laktoniasetaattia 10 ml:ssa metanolia typen alla, lisätään 10 ml 2 N NaOH:a, ja seosta kuumennetaan refluksointilämpötilaan 30 min:n ajaksi. Liuos jäädytetään, hapotetaan 15 ml:lla 2 N HCl:a ja konsentroidaan metanolin poistamiseksi. Jäännös kyllästetään natriumklo-

ridilla ja uutetaan kahdesti etyyliasetaatilla. Uute kuivataan natriumsulfaattilla, suodatetaan ja haihduutetaan. Kiteyttämällä jäännös etyyliasetaatista/heptaanista saadaan 270 mg otsikon yhdistettä, $[\alpha]_D^{25} = -41,88$ ($c = 1,01$ H₂O:ssa, pH = 3,20). UV (H₂O) $\lambda_{\max}$ 292 nm ($\epsilon = 3441$), 221 (11197); IR (KBr) 1741 cm⁻¹; ¹H-NMR(DMSO), δ (ppm vs. TMS) 4,48 (1, d, J = 2,5 Hz, 4-H), 4,09 (1, d, J = 2,5 Hz, 4-H), 4,09 (1, d, J = 2,5 Hz, 3-H).

Esimerkki 15

10 **10-syn-(+)-(2S,5R,10S)-2,3-dihydro-7,10-dihydroksi-2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentsodioksepiini-3-oni**

Käsittelemällä 1,18 g edellisessä esimerkissä kuvattua happoa haihtuvalla vetykloridilla esimerkissä 12 kuvatulla tavalla, saadaan otsikon yhdistettä, sp. 185 °C, $[\alpha]_D^{25} = +93,55$ ($c = 1,07$ CH₃OH:ssa). UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ 298 nm ($\epsilon = 3567$), 224 (sh), 206 (39200); IR(KBr) 1763 cm⁻¹; ¹H-NMR(CD₃OD), δ (ppm vs. TMS) 5,49 (1, d, J = 4,5, 5-H), 4,21 (1, d, J = 4,5, 10-H); MS: MH⁺ = 265.

20 **Esimerkki 16**

10-syn-(-)-(2R,5S,10R)-7-asetyylioksi-2,3-dihydro-10-hydroksi-2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentsodioksepiini-3-oni

25 Käyttämällä esimerkissä 13 kuvattua menetelmää, mutta lähtien esimerkissä 3 kuvatusta 2R-(+)-enantiomeeristä, saadaan otsikon yhdistettä, sp. 203-4 °C, $[\alpha]_D^{25} = -81,27$ ($c = 0,95$ CH₃OH:ssa). UV-, IR- ja ¹H-NMR-spektrit vastaavat esimerkissä 13 kuvatun enantiomeerin spektrejä.

Esimerkki 17

30 **Metyyli-cis,trans-(2R,3R,4R)-4,6-diasetyylioksi-3,4-dihydro-3-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksylaatti**

Edellisessä esimerkissä kuvatussa reaktiossa saadaan toista tuotetta, joka todetaan otsikon yhdisteeksi 35 NMR-spektrin perusteella. ¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm vs TMS)

5,83 (1, d, $J = 2,9$ Hz, 4-H), 2,22 (3, s, COCH_3) 1,92-2,08 (9, 3s, ArCH_3), 1,70 (3, s, 2- CH_3); sp. 180 °C.

Esimerkki 18

5 **Metyyli-cis,trans-(2R,3R,4R)-6-asetyylioksi-3,4-dihydro-3,4-dihydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksylaatti**

Esimerkkissä 13 kuvatulla tavalla valmistettuun 0,1 M dimetyylioksiraanin asetoniliuokseen (60 ml) lisätään 1,37 g (4,5 mmol) 2R-(+)-olefiiniä (esimerkki 3) asetonissa. Seosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa 1,5 h:n ajan epoksidin muodostamiseksi. Viisi tippaa vettä ja noin 0,2 g piihappogeeliä lisätään liuokseen ja sekoittamista jatketaan yön yli. Ohutkerroskromatografialla todettu päätuote eristetään kromatografialla, 0,83 g, ja kiteytetään etyyliasetaatista/heptaanista. MS: $\text{MNH}_4^+ = 356$; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm vs TMS) 4,70 (1, d, $J = 2,9$, 4-H), 4,18 (1, m, 3-H), 3,67 (3, s, OCH_3), 2,33 (3, s, COCH_3), 2,05 - 2,13 (9, 3s, Ar-CH_3), 1,70 (3, s, 2- CH_3).

Esimerkki 19

20 **Trans,trans-(+)-(2R,3S,4S)-3,4-dihydro-3,4,6-trihydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksyylihappo**

Esimerkissä 16 kuvattu laktoni hydrolysoidaan 1N 50-%:isella esimerkissä 14 kuvatulla metanolisella NaOH:lla, jolloin saadaan otsikon yhdistettä, $[\alpha]_D^{25} = +34,6$ ($c = 0,77$ $\text{CCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$:ssa 2/1). UV, IR ja $^1\text{H-NMR}$ -spektrit vastaavat esimerkissä 14 kuvatusen enantiomeerin spektrejä.

Esimerkki 20

30 **10-syn-(-)-(2R,5S,10R)-2,3-dihydro-7,10-dihydroksi-2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentsodioksepiini-3-oni**

35 Liuosta, jossa on 1,22 g edellisessä esimerkissä kuvattua happoa 70 ml:ssa tolueenia, jossa on 0,1 g p-tolueenisulfonihappoa, refluksoidaan 1 h:n ajan. Jäähdytymisen ja etyyliasetaatin lisäämisen jälkeen liuos pestään nat-

riumbikarbonaattiliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla, suodatetaan ja haihdutetaan, jolloin saadaan 0,77 g öljyä. Kiteyttämällä se etyyliasetaatista/heksaanista saadaan otsikon yhdistettä, sp. 178 °C, $[\alpha]_D^{25} = -83,8$ (c = 0,933 CH₃OH:ssa). UV-, IR- ja ¹H-NMR-spektrit vastaavat esi-
 5 merkissä 15 kuvatun enantiomeerin spektrejä.

Esimerkki 21

11-syn-(+/-)-8-asetyylioksi-2,3,4,6-tetrahydro-11-
 hydroksi-2,7,9,10-tetrametyyli-2,6-metano-1,5-bent-
 10 sodioksosiini-4-oni

Käyttäen esimerkissä 1 kuvattua menetelmää esteröi-
 dään, asetyloidaan ja dehydrogenoidaan DDQ:lla (2R,S)-3,4-
 dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraa-
 ni-2-etikkahappoa, jolloin saadaan metyyli-(2R,S)-6-ase-
 15 tyylioksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-ase-
 taattia, ¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm vs TMS) 6,52 (1, d, J = 10,
 4-H), 5,72 (1, d, J = 10, 3-H), 3,61 (3, s, OCH₃), 2,68 (2,
 s, COCH₂), 2,31 (3, s, COCH₃), 2,02-2,10 (9, 3s, ArCH₃),
 1,56 (3, s, 2-CH₃).

20 Cis-hydrolysoimalla osmiumtetroksidin kanssa esi-
 merkissä 4 kuvatulla tavalla saadaan kahta tuotetta, jotka
 erotetaan pylväskromatografialla pihappogeelissä. Toinen
 niistä on otsikon yhdiste, sp. 179 - 181 °C. MS: MNH₄⁺ =
 338; IR (KBr) 1762, 1714 cm⁻¹; ¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm vs TMS)
 25 5,38 (1, d, J = 3, 6-H), 4,07 (1, d, J = 3, 11-H), 2,88
 (1, d, J = 20, COCH₂), 2,31 (3, s, COCH₃), 2,02 - 2,12 (9,
 3s, Ar-CH₃), 1,61 (3, s, 2-CH₃).

Esimerkki 22

Trans,cis-(+/-)-6-asetyylioksi-3,4-dihydro-3,4-di-
 30 hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-benzopyraani-2-
 etikkahapon metyyliesteri

Edellisessä esimerkissä kuvatussa reaktiossa saatu
 toinen tuote on otsikon yhdiste, sp. 135 - 145 °C, joka
 identifioidaan MS:nsä perusteella (MNH₄⁺ = 370), ja jonka
 35 hydrolyysituote kuvataan seuraavassa esimerkissä.

Esimerkki 23

Trans,cis-(+/-)-3,4-dihydro-3,4,6-trihydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-etikkahapon metyyliesteri

- 5 Liuokseen, jossa on 930 mg edellisessä esimerkissä kuvattua asetaattia 30 ml:ssa metanolia typen alla, lisätään liuos, jossa on 4,0 g kaliumkarbonaattia 20 ml:ssa vettä, ja seosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa yön yli. 2N HCl:llä hapottamisen ja metanolin haihduttamisen jäl-
- 10 keen tuote uutetaan etyyliasetaattiin ja uute pestään natriumbikarbonaattiliuoksella ja kuivataan natriumsulfaattilla, suodatetaan ja haihdutetaan. Uudelleenkiteyttämällä se etyyliasetaatista/heptaanista saadaan 440 mg otsikon yhdistettä, sp. 162 - 163 °C. IR (KBr) 1716 cm⁻¹; ¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm vs TMS) 7,26 (1, s, ArOH), 4,87 (1, d, J = 5, 4-H), 4,08 (1, d, J = 5, 3-H), 2,82 (2, s, CH₂CO), 2,31 (3, s, COCH₃), 2,10-2,31 (p, 3s, ArCH₃), 1,45 (3, s, 2-CH₃).
- 15

Esimerkki 24

- 20 **Cis,cis-(+/-)-6-asetyylioksi-3,4-dihydro-3,4-dihydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksamidi**

- Liuokseen, jossa on 18,62 g esimerkissä 1 kuvattua olefiiniä 200 ml:ssa metanolia typen alla, lisätään 200 ml 2N NaOH:a, ja seosta refluksoidaan 5 tunnin ajan. Jäähdyttämisen jälkeen seosta hapotetaan 220 ml:lla 2 HCl:a ja metanoli poistetaan haihduttamalla. Tuote uutetaan etyyliasetaattiin, ja uute pestään natriumbikarbonaattiliuoksella. Hapottamalla ja uuttamalla uudelleen etyyliasetaatilla saadaan (2R,S)-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksyylihappoa. Happo liuotetaan 100 ml:aan etikkahappoanhydridiä ja kuumennetaan kiehuvaksi, jolloin muodostuvan etikkahapon annetaan haihtua. Ylimääräinen etikkahappoanhydridi poistetaan haihduttamalla alennetussa paineessa. Jäännös liuotetaan 300 ml:aan kuivaa tetrahydrofuraania, ja liuos kyllästetään kaasumaisel-
- 25
- 30
- 35

la ammoniumilla sen jäädyttyä. Liuosta sekoitetaan 2 tuntia huoneenlämmössä, minkä jälkeen seos haihdutetaan kuivaksi, jäännös otetaan talteen etyyliasetaattiin, pestään 2N HCl:llä, vedellä ja NaHCO₃-liuoksella, kuivataan Na₂SO₄:lla, suodatetaan ja haihdutetaan. Jäännös kiteytetään uudelleen etyyliasetaatista/heptaanista, jolloin saadaan 8,15 g (2R,S)-6-asetoksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksamidia.

Cis-hydroksyloimalla osmiumtetroksidilla esimerkiksi 4 kuvattua menetelmää käyttäen saadaan raakatuotetta, joka käsitellään pihappogeelipylväskromatografiolla. Yksi fraktioista kiteytetään uudelleen etyyliasetaatista/heptaanista, jolloin saadaan 1,1 g otsikon yhdistettä. IR (KBr) 1758, 1702 cm⁻¹; ¹H-NMR (DMSO) δ (ppm vs TMS) 4,68 (1, d, J = 4, 4-H), 3,82 (1, d, J = 4, 3-H), mikä viittaa pikemminkin cis,cis- kuin trans,cis-konfiguraatioon; MS:MNH₄⁺ = 341.

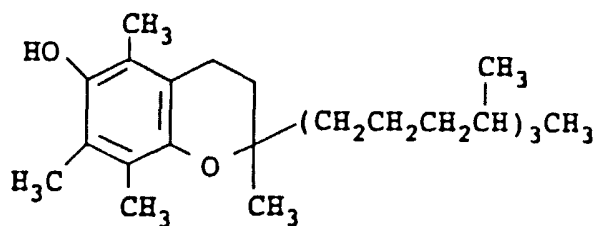
Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat vapaan radikaalin sieppaajia. Vapaiden radikaalien reaktioita on osoitettu useamman kuin 50:n ihmisten sairauden patologiassa. Radikaaleja ja muita reaktiivisia happiyhdisteitä muodostuu jatkuvasti ihmiselimistössä sekä tarkoituksellisissa synteeseissä (esim. aktivoituneissa fagosynteeseissä) että kemiallisissa sivureaktioissa. Ne poistuvat elimistöstä entsyymaattisilla ja ei-entsyymaattisilla antioksidatiivisilla puolustusjärjestelmillä. Oksidatiivinen stressi, joka ilmenee antioksidatiivisten puolustusjärjestelmien ollessa riittämättömiä, voi vahingoittaa lipidejä, proteiineja, hiilihydraatteja ja DNA:ta. Jotkut sairauksien johtuvat oksidatiivisesta stressistä, mutta useammin stressi on seurausta taudista ja voi olla tärkeä osatekijä taudin patologiassa. Tarkemmin kts. B.Halliwelin katsaus julkaisussa *Drugs*, 1991, 42 569 - 605.

On olemassa lisääntyvää tietoa, joka viittaa vapaan happiradikaalin välittämän lipidiperoksidaation pato-

fysiologiseen rooliin keskushermoston traumassa tai iskeemisessä (verettömässä) tai hemorraagisessa (verenvuoto-) halvauksessa. Endogeenisten antioksidanttien pitoisuuden on todettu alentuneen aivokudoksessa, kuten myös lipidiperoksidaatiotuotteiden lisääntyneen. Aivojen lipidien peroksidaation inhibiittorit vastustavat ja vähentävät aivokudoksen vauriota, kuten myös pidentävät traumatisoitujen eläinten ikää. Nämä löydökset on julkaistu E. D. Hallin ja J. M. Braughlerin toimesta julkaisussa *Free Radical Biology and Medicine*, 1989, 6, 303 - 313 ja toisaalla. M. Miyamoto ym. (*J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1989, 250, 1132) raportoivat ylenmääräisen glutamiinin vapautumisesta johtuvan neurotoksisuuden samoin vähentyvän antioksidanteilla. He ehdottavat aivojen lipidien peroksidaatiota vähentävien aineiden käyttöä neurodegeneratiivisten sairauksien kuten Huntingtonin ja Alzheimerin tautien hoidossa, joissa taudissa on todettu ylenmääräistä glutamiinin vapautumista. M. R. Hori ym. (*Chem. Pharm. Bull.* 1991, 39, 367) raportoivat aivojen lipidien peroksidaation inhibiittoreilla olevan anti-amnestisen (muistinmenetystä estävän) vaikutuksen rotilla. Vapaiden happiradikaalien roolia Parkinsonin taudissa on selostettu äskettäin (*Free Radical Biol. - Med.*, 1991, 10, 161 - 169) ja vapaiden radikaalien sieppaajia on testattu kliinisesti jonkinlaisella menestyksellä (*Fundam. Clin. Pharmacol.*, 1988, 2, 1 - 12).

Reperfuusiota edeltävä iskemia aiheuttaa happiperaisten vapaiden radikaalien muodostumista ja lisääntyntä lipidiperoksidaatiota ja johtaa kudosisvaurioon. Vapaiden radikaalien sieppaajien anto iskemialle/reperfuusiolle altistetuille eläimille vähentää näitä vaikutuksia sydämessä, keuhkoissa, munuaisissa, haimassa, aivoissa ja muissa kudoksissa.

Vitamiini E eli α - tokoferoli, hyvin tunnettu seuraavan rakennekaavan mukainen yhdiste



5 on luonnollinen antioksidantti, joka reagoi sekä happipe-
 räisten vapaiden radikaalien että vetyperoksidin kanssa.
 Sen on todettu olevan interkaloituneena lipidimembraaneis-
 sa (rasvakalvoissa) ja sen biologisen funktion on todettu
 10 olevan biomembraanien suojelu oksidatiiviselta hyökkäyk-
 seltä. Kaikkialla läsnäolevat hapetus-pelkistys-systeemit
 regeneroivat jatkuvasti α -tokoferolin antioksidanttiosaa
 3,4-dihydro-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-2-bentsopyraani-6-
 olia.

Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat myös hyö-
 15 dyllisiä tulehdusprosessin hoidossa, jonka tiedetään kos-
 kevan superoksidien vapautumista fagosytoivista soluista,
 jotka aiheuttavat osan oireista nivelreumassa ja muissa
 tulehduksellisissa taudeissa, kuten haavaisessa paksussa
 suolessa (ulseratiivisessa koliitissa) ja tulehdukselli-
 20 sissä ihotaudeissa kuten psoriasiksessa. Erityisen käyttö-
 kelpoinen on tämän keksinnön yhdisteiden anti-inflammato-
 rinen (tulehdusta estävä) vaikutus tulehduksellisissa suo-
 len loppupään sairauksissa.

Keuhkojen inhalaatiovaurio (sisäänhengitysvaurio)
 25 aiheutuu tyypillisesti kuumasta ja kemiallisesta ärsytyk-
 sestä, ja savuinhalaatiovaurion tärkein kuoleman aiheutta-
 va syy on kemiallinen vaurio. Savuinhalaatio (savun si-
 säänhengitys) johtaa keuhkojen mikroverenkierron lisäänty-
 misestä ja keuhkoödeemasta (keuhkopöhostä) aiheutuvaan
 30 keuhkovaurioon. Tätä prosessia seuraa lisääntynyt lipidi-
 peroksidaatio keuhkokudoksessa. Z. Min ym. totesivat lipi-
 diperoksidaation inhibiittorin vähentävän näitä oireita
 kuumalle sahanpurusavulle altistetuilla eläimillä (*J. Med.*
Cell. PLA, 1990, 5, 176 - 180). He esittävät antioksidant-
 35 tien käyttöä keuhkojen savuinhalaatiovaurion, ARDS:n

(= adult respiratory distress syndrome, aikuisten hengitysvaikeusoireyhtymän) ja emfyseeman (keuhkolaajentuman) hoidossa.

Reaktiiviisilla happiyhdisteillä on merkitystä myös
5 vaahtosolujen muodostumisessa ateroskleroottisissa pla-
keissa (D.Steinberg ym., *New Engl. J. Med.*, 1989, 320,
915 - 924), ja vapaan radikaalin sieppajalla probukolilla
on merkittävä antiateroskleroottinen vaikutus hyperlipi-
deemisillä rotilla (Carew ym., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*,
10 1987, 84, 7725 - 7729). Degeneratiivinen verkkokalvon vau-
rio ja diabeteksen aiheuttama retinopatia (verkkokalvon
sairaus) on myös listattu vapaiden radikaalien sieppaaja-
hoidon kohteina (vrt. J.W. Baynes, *Diabetes*, 1991, 40,
405 - 412; S. P. Wolff ym., *Free Rad. Biol. Med.*, 1991,
15 10, 339 - 352).

Yhdisteet voivat olla hyödyllisiä myös syöpien ja
vanhenemiseen liittyvien degeneratiivisten (rappeuttavien)
sairauksien, halvauksen ja pään vammojen hoidossa, koska
happiperäisten vapaiden radikaalien on todettu olevan ai-
20 heuttavien tekijöiden joukossa. Katsauksia varten kts. B.
Halliwell ja C. Gutteridge, *Biochem. J.*, 1984, 219, 1 -
14; TINS 1985, 22 - 26. Antioksidantit on todettu hyödyllisiksi myös harmaakaihen hoidossa, *Free Rad. Biol. Med.*,
12:251 - 261 (1992).

25 Tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden aktiivisuus
in vitro ja *in vivo* voidaan määrittää standardianalyysil-
lä, jotka osoittavat vapaan radikaalin sieppausominaisuut-
ta, affiniteettia sydänekudokseen ja kardioprotektiivisia
(sydäntä suojaavia) ominaisuuksia, kuten myös vertailemal-
30 la aineita, joiden tiedetään vaikuttavan näihin tarkoituk-
siin.

Kuvaava tämän keksinnön yhdisteiden vapaan radii-
kaalin sieppausominaisuuden määrittämisessä käyttökelpoi-
nen analyysi on lipidiperoksidaation *in vitro* inhibitio
35 rotan aivohomogenaateissa.

Yhdisteiden vapaan radikaalin sieppausominaisuuksia voidaan helposti arvioida siten että tuotetaan superoksidiradikaaleja 4 mU ksantiinioksideasilla 0,1 mM ksantiinin läsnä ollessa, ja ne osoitetaan 40 µM nitrosinitetratsolin (NBT) reduktiolla diformatsaaniväriaineeksi spektrofotometrisessä analyysissä C. Beauchampin ja I. Fridovickin kuvaamalla tavalla (*Analyt. Biochem.*, 1971, 44, 276 - 287). 30 U superoksididismutaasia inhiboi tätä reaktiota 90-%:isesti, mikä johtuu superoksidiradikaaleista. Superoksidisieppaajan (testiyhdiste) läsnä ollessa syntyy kilpailua superoksidiradikaalista ja niinpä NBT:n värinmuodostuksen vähentyminen osoittaa testiyhdisteen superoksidiradikaalin sieppausominaisuutta.

Lipidiperoksidaatioprosessin inhibitio voidaan määrittää käyttämällä kudoshomogenaatteja biologisten nesteiden antioksidanttiaktiivisuuden mittaamista varten J. Stocksin ym. (*Clin.Sci. Mol. Med.*, 1974, 47, 215 - 222) metodologiaa käyttäen, jossa käytetään hoidettujen täysikäisten Sprague Dawley-rottien aivokudoshomogenaatteja.

Inkuboidaan näytteitä, joissa on laimennettua aivohomogenaattia ja sieppaajaa tarkoituksenmukaisena laimennoksena yhteensä 1 ml:n totaaliveolyymien verran. Ei-inkuboituja näytteitä otetaan taustaksi. Kontrollit ajetaan ilman sieppaajaa ja vain puskuria sisältävä näyte otetaan sokeaksi kokeeksi. Inkuboidaan 37 °C:ssa 30 min ajan, lisätään 200 µl 35-%:ista perkloorihappoa, näytteet sentrifugoidaan ja 800 µl supernatanttia sekoitetaan 200 µl:aan 1-%:ista tiobarbituurihappoa. Vaaleanpunainen tiobarbituurihapon reaktiivisen materiaalin kondensaatio-tuote muodostuu 100 °C:ssa kiehuvaan vesihauteeseen 15 min aikana, ja absorbanssi luetaan 532 nm:n kohdalla.

Kudoksen *ex vivo* -inhibitiota varten, mukaan lukien sydän- ja aivokudoksen, voidaan käyttää lipidiperoksidaatiota hiirissä demonstroimaan yhdisteiden penetraatiokykyä ja kykyä toimia vapaan radikaalin sieppaajina näissä ku-

doksissa. Tämä analyysi käsittää miespuolisten CD1-hiirten esihoidon testiyhdisteellä ihonalaisesti annettuna. Tunnin kuluttua kudokset leikataan, homogenisoidaan 1+9 (w/v) 20 nM kaliumfosfaattipuskurissa pH:ssa 7,3 (0,14 M KCl) ja
5 inkuboidaan 1/100 konsentraatiossa 1 ml:ssa puskuria 37 °C:ssa 30 - 120 min:n ajan. Inkuboinnin lopussa lisätään 200 µl 35-%:ista perkloorihappoa ja proteiinin poistetaan sentrifugoinnilla. 800 ml:aan supernatanttia lisätään 200 µl 1-%:ista TBA:ta ja näytteet kuumennetaan
10 100 °C:seen 15 min ajaksi. TBA-additiotuote uutetaan kahteen kertaan 1 ml:aan n-butanolia. Fluoresenssi mitataan 515 nm:n viritysaallonpituudella ja 553 nm:n emissioaallonpituudella malonidialdehydidimetyyliasetaalista valmistettua standardia vasten.

15 Stimuloidut ihmisen valkosolut vapauttavat radikaaleja ja muita happiaineenvaihdunnan tuotteita, jotka tulehduksen aikana toimivat mikrobeille myrkyllisinä aineina. Samalla ne vapauttavat proteolyyttisiä entsyymeitä, kuten elastaasia, jotka ovat myös mikrobeja tappavia mutta
20 potentiaalisesti uhkaavat isännän sidekudosta. Endogeeninen α_1 -proteiinaasin inhibiittori suojaa tavallisesti isäntäkudosta proteolyyttiseltä hajotukselta. Valkosoluperäiset oksidantit inaktivoivat kuitenkin α_1 Pi:n. α_1 Pi:n inaktivaation antagonismi osoittaa esitetyt radikaalisieppaajat. α_1 Pi:n inhibitiokapasiteetin 50-%:iseen säilyttämiseen
25 tarvittava konsentraatio (PC 50) riippuu läsnäolevien stimuloitujen valkosolujen määrästä.

Metodi: Käytettiin Skoseyn ja Chowin kuvaamaa menetelmää (kts. J. L. Skosey ja D. C. Chow julkaisussa *Handbook of Methods for Oxygen Radical Research* (Greenwald, R. A., ed.), 1985, s. 413 - 416, CRC Press, Boca Raton). Lyhyesti sanottuna ihmisen α_1 Pi:ta inkuboitiin tsymosaanilla
30 stimuloitujen ihmisen perifeerisen veren valkosolujen kanssa sieppaajien läsnä ollessa ja ilman niitä. Oksidatiiviselta inaktivaatiolta suojatun α_1 Pi:n määrä määritet-

35

tiin sen jäljelle jääneen elastaasin inhibitorisen kapasiteetin avulla.

5-lipoksigenaasin inhibitio voidaan määrittää rotan basofiilisista (emäshakuisista) leukemiasoluista (RBL-1) saadun puhdistetun entsyymin avulla. J.-F. Nave ym. ovat kuvanneet määritysmenetelmän julkaisuissa *Prostaglandins*, 1988, 36, 385 - 398 ja *Biochem. J.*, 1991, 278, 549 - 555. Eikosa-5(Z),8(Z)-dieenihappoja käytetään substraattina ja hapettuneet tuotteet (5-hydroperoksi- ja 5-hydroksieikosa-6,8-dienohapot) uutetaan ja analysoidaan HPLC:n avulla.

Weiss on julkaissut katsauksen tulehdusasian merkityksestä (kts. Weiss, *N. England J. Med.*, 1989, 320, 365 - 376). Keuhkolaajentuma assosioituu geneettiseen defektiin α_1 Pi:ssä; tupakanpolton aikana sisäänhengitetyt hapettimet, jotka johtavat α 1Pi:n oksidatiiviseen inaktivaatioon keuhkokudoksessa, edistävät tautia edelleen (kts. J. Travis ja G.S. Salvesen, *Annu.Rev.Biochem.*, 1983, 52, 655 - 709). Hapetettu α_1 Pi on myös eristetty reumaattisesta nivelnesteestä (kts. P. S. Wong ja J. Travis, *Biochem. Biophys. Roc. Commun.*, 1980, 06, 1440 - 1454). Ihmisen valkosolujen *in vitro* vapauttamat superoksyyliradikaalit laukaisevat nivelnesteeseen viskositeettiin osallisen hyaluronihapon hajoaminen (kts. R. A. Greenwald ja S. A. Moak, *Inflammation*, 1986, 10, 15 - 30). Lisäksi nonsteroidaalisten anti-inflammatoristen (tulehdusta estävien) lääkkeiden todettiin inhiboivan superoksyyliradikaalien vapautumista valkosoluista (kts. H. Strom ja I. Ahnfelt-Ronne, *Agents and Actions*, 1989, 26, 235 - 237 ja M. Roche-Arveiller, V. Revelant, D. Pharm Huy, L. Maman, J. Fontagne, J. R. J. Sorenson ja J.P. Giroud, *Agents and Actions*, 1990, 31, 65 - 71) ja 5-aminosalisyylihapon terapeutinen vaikutus tulehduksellisessa suolisairaudessa voi perustua radikaalin sieppausmekanismiin (kts. I. Ahnfelt-Ronne, O. H. Nielsen, A. Christensen, E. Langholz, V. Biinder ja P. Riis, *Gastroenterology*, 1990, 98, 1162 - 1169). Siksi tä-

män keksinnön mukaisten yhdisteiden uskotaan olevan hyödyllisiä edellä mainituissa patologisissa tiloissa ja tulehduksellisten suolistosairauksien uskotaan olevan erityinen kohde. Antioksidanttien immuunijärjestelmää stimuloiva vaikutus on myös raportoitu, koska ne lisäävät lymfosyyttien (imusolujen) aktiivisuutta (R. Anderson ja P. T. Lukey, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1987, 498, 229 - 247) *in vitro* triggeroitujen valkosolujen läsnä ollessa, ja *ex vivo* vapaaehtoisilla ihmisillä esihoidon jälkeen.

Niinpä hyvin tunnettua vakiometodologiaa käyttäen, kuten myös vertaamalla tunnettuihin käyttökelpoisiksi todettuihin yhdisteisiin, on todettavissa, että yhdisteet ovat vapaan radikaalin sieppaajia, jotka ovat hyödyllisiä liiallisesta glutamiinihapon vapautumisesta johtuvaan neurotoksisuuteen liittyvien tautitilojen, Huntingtonin taudin, Alzheimerin taudin ja muiden kognitiivisisten toimintahäiriöiden (esim. muistihäiriöt, oppimisvaikeudet ja keskittymisvaikeudet), amnesian (muistinmenetyksen), ja Parkinsonin taudin ennaltaehkäisyssä ja hoidossa, kuten myös iskemian/reperfuusion aiheuttamien sydän-, keuhko-, munuais-, haima- ja aivokudosvaurioiden hoidossa ja ennaltaehkäisyssä, ja hemorraagisesta shokista johtuvan akuutin verenhukan hillitsemisessä.

Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää sekä ennaltaehkäisevästi että terapeutisesti. Aktiivisen ainesosan määrä terapeuttisessa annossa voi vaihdella laajoissa rajoissa ja riippuu sellaisista tekijöistä kuin hoidettava potilaslaji, ikä, terveydentila, sukupuoli, paino, hoidettavan tilan luonne ja vakavuus. Termi "potilas" viittaa lämminveriseen eläimeen, kuten esimerkiksi rottaan, hiireen, koiraan, kissaan, marsuun, kädellisiin ja ihmiseen. Yleensä terapeutisesti (hoidollisesti) tehokas annettava aktiivisen ainesosan annos vaihtelee noin välillä 0,1 mg/kg ja 30 mg/kg painokiloa kohden päivässä. Ennaltaehkäisevään annosteluun voidaan käyttää vastaavia

alempia annoksia. Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä annetaan potilaalle edullisesti yhdistettynä farmaseuttisesti hyväksyttävään kantoaineeseen, joka on mikä tahansa aine, joka edesauttaa sen antamista vaikuttamatta olennaisesti sen terapeuttisiin ominaisuuksiin.

Edullisimmin yhdisteitä annetaan suonensisäisesti etenkin kriisitilanteissa, joissa on olennaista, että terapeuttinen (hoitava) ainesosa saadaan sen vaikutuskohtaan niin nopeasti kuin mahdollista, kuten sydäninfarktin, halvauksen ja kirurgisten interventioden aiheuttamissa hätätilanteissa, tilanteissa, jotka voivat aiheuttaa vakavaa reperfuusiovauriota.

Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää myös suun kautta annettuina, edullisesti käyttäen suurempaa määrää aktiivista ainesosaa päivää kohden kuin parenteraalisesti (ruuansulatuskanavan ulkopuolisesti) annettuna, edullisesti jakaen määrän 3 - 4 annokseen päivässä. Enteraalinen (ruuansulatuskanavan sisäinen) annostelu on suositeltavampi "kriisinjälkeisissä" tilanteissa, etenkin sairaalasta pääsyn jälkeen. Yhdisteitä voidaan käyttää vakioannoksisina yksikkömuotoina kuten tabletteina, kapsleina, rakeina, lääketabletteina, eliksiireinä, emulsioina, suspensioina, ja milloin paikallinen anto on suositeltua, suppositorioina (peräpuikkoina) tai kielenalaisesti. 100 - 400 mg aktiivista ainesosaa sisältävät tabletit tai kapselit ovat edullisia enteraalisia antotapoja. Tietenkin tulehduksen hoidossa edullinen antotapa on depot-injektio suoraan tulehdusalueelle, jatkossa enteraalinen antotapa.

Kiinteitä annosmuotoja kuten tabletteja valmistettaessa aktiivinen ainesosa yleensä yhdistetään konventionaalisiin farmaseuttisiin kantoaineisiin tai täyteaineisiin, kuten gelatiiniin, eri tärkkelyksiin, laktoosiin, kalsiumfosfaattiin tai pölysookeriin. Termi farmaseuttinen kantoaine käsittää tässä myös voiteluaineet, joita käytetään parantamaan tabletin granulaatioiden juoksevuutta ja

jotka ehkäisevät tablettimateriaalin adheesiota tabletti-muotteihin ja -lävistimiin. Sopivia voiteluaineita ovat esimerkiksi talkkisteariinihappo, kalsiumstearaatti, magnesiumstearaatti ja sinkkistearaatti. Tässä käytettynä

5 farmaseuttisen kantoaineen määritelmä käsittää myös disintegroivat aineet, joita lisätään edistämään nautittujen tablettien hajoamista ja liukenemista, kuten myös väri- ja/tai makuaineet, jotka lisäävät tablettien esteettisiä ominaisuuksia ja tekevät ne potilaalle mielisemmiksi.

10 Sopivia nestemäisiä täyteaineita nestemäisten annosmuotojen valmistusta varten ovat vesi ja alkoholit, kuten etanoli, bentsyylialkoholi ja polyetyleeniglykolit, joko pinta-aktiivisen aineen lisällä tai ilman. Yleensä edullisia nestemäisiä täyteaineita erityisesti injisoitavia valmisteita varten ovat vesi, fysiologiset ja suolaliuokset, dekstroosi ja glykoliliuokset kuten propyleeniglykolin tai polyetyleeniglykolin vesiliuokset. Injektio-

15 kohdan ärsytyksen minimoimiseksi tai poistamiseksi, sellaiset koostumukset voivat sisältää ei-ionimuotoista pinta-aktiivista ainetta, jonka hydrofiili-lipofiilitasapaino (HLB) on noin 12 - 17. Pinta-aktiivisen aineen määrä sellaisissa formulaatioissa on noin 5 - 15 paino-%. Pinta-aktiivinen aine voi olla yksittäinen ainesosa, jolla on edellä identifioitu HLB, tai kahden tai useamman halutun

20 HLB:n omaavan ainesosan muodostama seos. Parenteraalisissa formulaatioissa hyödyllisistä pinta-aktiivisista aineista kuvaavia ovat polyoksietyleenisorbitaanirasvahappoestereiden luokka, kuten esimerkiksi sorbitaanimono-oleaatti, ja etyleenioksidin hydrofobisen emäksen omaavat korkeamolekyyllipainoiset adduktit, joita muodostetaan kondensoimalla propyleenioksidia propyleeniglykolilla. Tietyissä paikallisissa ja parenteraalisissa valmisteissa voidaan käyttää eri öljyjä kantoaineina tai täyteaineina. Esimerkkeinä sellaisista öljyistä ovat mineraaliöljyt, glyseridiöljyt

30 kuten oleomargariini, turskanmaksaöljy, maapähkinäöljy,

35

seesamiöljy, maissiöljy ja soijaöljy. Liukenemattomia yhdisteitä varten voidaan lisätä suspendoivia aineita kuten myös viskositeettiä kontrolloivia aineita, kuten esimerkiksi magnesiumalumiinisilikaattia tai karboksimeyy-
5 liselluloosaa. Näiden täyteaineiden lisäksi voidaan lisätä myös puskureita, säilöntäaineita ja emulgointiaineita. Tyypillinen retentiotyyppinen peräruiskevalmiste edellyttää pienen tilavuuden, yleensä paljon vähemmän kuin noin 150 ml aikuisille, tyypillisesti edullisia ovat vain alle
10 muutaman millilitran tilavuudet. Retentioperäruiskeita varten käytettävät täyteaineet ja liuottimet tulisi luonnollisesti valita siten, että vältetään paksunsuolen ärsytystä ja minimoidaan eri ainesosien imeytyminen.

Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan antaa
15 myös ulkoisesti. Tämä voidaan saada aikaan yksinkertaisesti valmistamalla annettavasta yhdisteestä liuos, edullisesti käyttäen liuotinta, jonka tiedetään edistävän transdermaalista (= ihon läpäisevää) imeytymistä, kuten etanolia tai dimetyylisulfoksidia (DMSO) muiden täyteaineiden
20 kanssa tai ilman niitä. Edullisesti ulkoinen anto voidaan toteuttaa käyttämällä joko huokoista membraanityyppistä tai reservimembraanityyppistä tai kiinteiden sideaineiden lajitelmosta tehtyä laastaria.

Joitakin sopivia transdermaalisia valmisteita on
25 kuvattu US-patenttijulkaisuissa nro 3 742 951, 3 797 494, 3 996 934 ja 4 031 894. Nämä valmisteet sisältävät yleensä kantajaosan, joka rajaa sen toista päällyspintaa, toista päällyspintaa rajaavan aktiivista ainesosaa läpäisevän tarttuvan kerroksen, ja vähintään yhden aktiivista ainesosaa
30 sisältävän varaston kahden päällyspinnan välissä. Vaihtoehtoisesti aktiivinen ainesosa voi olla sisällytetty suureen määrään mikrokapseleita, jotka on kauttaaltaan levitetty läpäisevälle tarttuvalle kerrokselle. Kummassakin tapauksessa aktiivista ainesosaa vapautuu jatkuvasti
35 varastosta tai mikrokapseleista kalvon läpi aktiivista

ainesosaa läpäisevään kiinnepintaan, joka on kontaktissa saajan ihoon tai limakalvoon. Jos aktiivinen ainesosa imeytyy ihon läpi, saaja saa kontrolloidun ja ennalta määrätyn virran aktiivista ainesosaa. Mikrokapseleiden tapauksessa kapseloiva aineosa voi toimia myös membraanina.

Toisessa valmisteessa tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden transdermaalista antoa varten farmaseuttisesti aktiivinen yhdiste on sisällytetty matriisiin, josta se vapautuu halutulla asteittaisella, kontrolloidulla vakionopeudella. Matriisi läpäisee yhdisteen vapautumisen diffuusiolla tai mikrohuokoisella virtauksella. Vapautuminen säätelee nopeutta. Sellainen systeemi, joka ei vaadi membraania, on kuvattu US-patenttijulkaisussa nro 3 921 636. Näissä systeemeissä on ainakin kaksi mahdollista vapautumistapaa. Vapautumista diffuusiolla tapahtuu, kun sideaine ei ole huokoista. Farmaseuttisesti vaikuttava yhdiste liukenee ja hajaantuu itse sideaineeseen. Vapautumista mikrohuokoisella virtauksella tapahtuu, kun farmaseuttisesti vaikuttava yhdiste kulkeutuu nestemäisen faasin läpi sideaineen huokosissa.

Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet voidaan yhdistää aerosolivalmisteeseen alan ammattilaisten yleisesti tuntevia teknisiä menetelmiä käyttäen. Aerosolivalmisteita voidaan valmistaa käytettäväksi ulkoisina aerosoleina tai inhalaatioina. Aerosolivalmisteet voivat olla liuoksen tai suspension muodossa ja voivat sisältää muita ainesosia, kuten liuottimia, ponneaineita ja/tai dispergointiaineita. Tyypillisiä esimerkkejä aerosolivalmisteista on esitetty julkaisussa *Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing Company, Easton Pennsylvania, s. 1694 - 1712 (1990).*

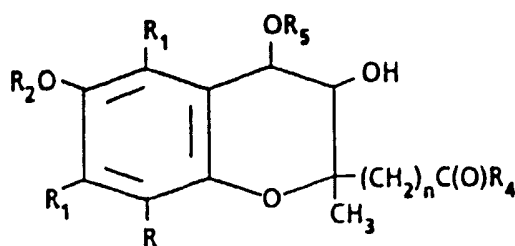
Kuten useimmissa tapauksissa, joissa tietyillä kemiallisten yhdisteiden luokilla on todettu olevan suotuisia terapeuttisia käyttösovelluksia, tietyt subgeneeriset ryhmät ja eräät tietyt yhdisteet ovat luonnollisesti edul-

5 lisia. Tässä yhteydessä edullisia ovat rakennekaavan 1B mukaiset yhdisteet ja edullisesti siten että R on metyyli, R_1 on metyyli ja/tai n on nolla. Kun R_2 on $C(O)R_3$, R_1 on edullisesti C_{1-9} -alkyyli, edullisemmin C_{1-6} -alkyyli ja edullisimmin metyyli.

Patenttivaatimukset

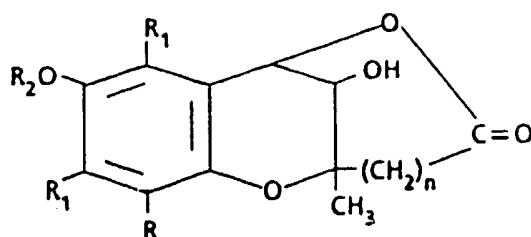
1. Menetelmä kaavan (IA) tai (IB) mukaisen kardio-
 protektiivisen yhdisteen, niiden yksittäisten stereoiso-
 5 meerien ja näiden seosten, ja niiden farmaseuttisesti
 hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi,

10



IA tai

15



IB

20

joissa kaavoissa

R on H tai C₁₋₄-alkyyli

R₁ on C₁₋₄-alkyyli,

25 R₂ on H tai C(O)R₃,

R₃ on H tai C₁₋₉-alkyyli,

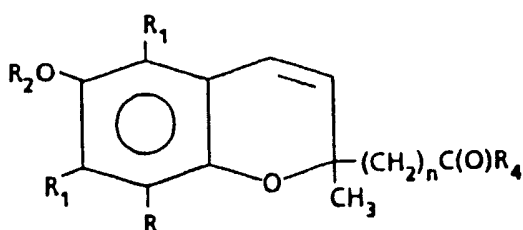
R₄ on OR tai N(R)₂,

R₅ on H, -C(O)R tai C₁₋₄-alkyyli, ja

n on nolla tai yksi;

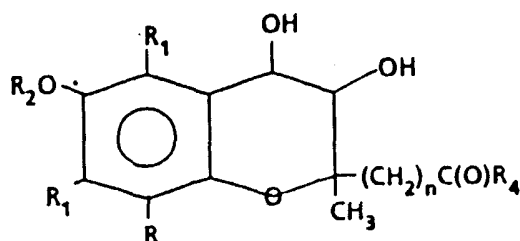
30 t u n n e t t u siitä, että dihydroksyloidaan seuraava
 yhdiste

35



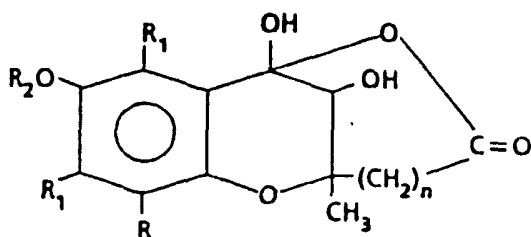
sopivalla hydroksyloivalla aineella, jolloin saadaan seuraavan rakennekaavan mukaisia joko cis- tai trans-muotoisia yhdisteitä

5



10 tai milloin 4-hydroksiryhmä on cis-asemassa happofunktioon nähden, eli kun R_4 edustaa OH-ryhmää, saadaan seuraavan rakennekaavan mukainen laktoni

15



20 2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että yhdisteellä on kaava 1B.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että yhdisteellä on kaava 1A.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että R on metyyli.

25 5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että R_1 on metyyli.

6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että n on nolla.

30 7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että R_2 on H.

8. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että R_2 on $C(O)R_3$ ja R_3 on metyyli.

35 9. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että yhdiste on rakennekaavan 1B mukainen, R on metyyli, R_1 on metyyli ja n on nolla.

10. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että valmistetaan

5 anti-(+/-)-7-asetyylioksi-2,3-dihydro-10-hydroksi-
2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentsodioksepiini-
3-oni;

 metyyli-trans, cis-(+/-)-6-asetyylioksi-3,4-dihyd-
ro-3,4-dihydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-
2-karboksylaatti;

10 10-anti-(+/-)-2,3-dihydro-7,10-dihydroksi-2,6,8,9-
tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentsodioksepiini-3-oni;

trans, cis-(+/-)-3,4-dihydro-3,4,6-trihydroksi-
2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksyyliahap-
po;

15 10-anti-(+)-(2S,5R,10R)-7-asetyylioksi-2,3-dihydro-
10-hydroksi-2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentso-
dioksepiini-3-oni;

 10-anti-(+)-(2S,5R,10R)-2,3-dihydro-7,10-dihydrok-
si-2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentsodioksepii-
ni-3-oni;

20 10-anti-(-)-(2R,5S,10S)-7-asetyylioksi-2,3-dihydro-
10-hydroksi-2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentso-
dioksepiini-3-oni;

25 cis,cis-(+)-(2R,3S,4S)-3,4-dihydro-3,4,6-trihydrok-
si-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksyyli-
happo;

 10-anti-(-)-(2R,5S,10S)-2,3-dihydro-7,10-dihydrok-
si-2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentsodioksepii-
ni-3-oni;

30 10-syn-(+)-(2S,5R,10S)-7-asetyylioksi-2,3-dihydro-
10-hydroksi-2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentso-
dioksepiini-3-oni;

trans,trans-(-)-(2S,3R,4R)-3,4-dihydro-3,4,6-tri-
hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karbok-
syyliahappo;

10-syn-(+)-(2S, 5R, 10S)-2,3-dihydro-7,10-dihydroksi-
2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentsodioksepiini-
3-oni;

5 10-syn-(-)-(2)-(2R, 5S, 10R)-7-asetyylioksi-2,3-di-
hydro-10-hydroksi-2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-
bentsodioksepiini-3-oni;

metyyli-cis, trans-(2R, 3R, 4R)-4,6-diasetyylioksi-
3,4-dihydro-3-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopy-
raani-2-karboksylaatti;

10 metyyli-cis, trans-(2R, 3R, 4R)-6-asetyylioksi-3,4-
dihydro-3,4-dihydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopy-
raani-2-karboksylaatti;

trans, trans-(+)-(2R, 3S, 4S)-3,4-dihydro-3,4,6-tri-
hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karbok-
15 syylihapo;

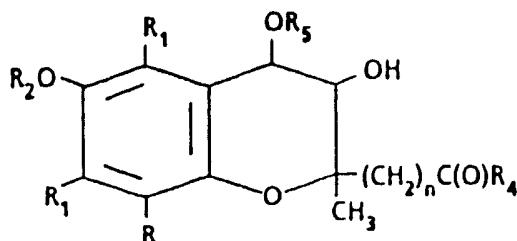
10-syn-(-)-(2R, 5S, 10R)-2,3-dihydro-7,10-dihydroksi-
2,6,8,9-tetrametyyli-2,5-metano-5H-1,4-bentsodioksepiini-
3-oni;

20 11-syn-(+/-)-8-asetyylioksi-2,3,4,6-tetrahydro-11-
hydroksi-2,7,9,10-tetrametyyli-2,6-metano-1,5-bentsodiok-
sosiini-4-oni; tai

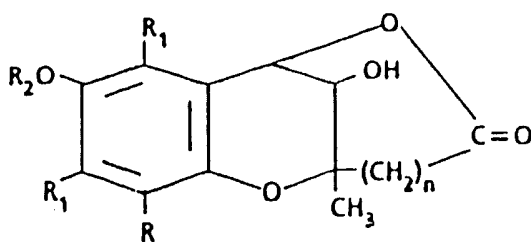
trans, cis-(+/-)-6-asetyylioksi-3,4-dihydro-3,4-di-
hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-etikka-
hapon metyyliesteri.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av en kardioprotektiv förening med formeln (IA) eller (IB)



IA eller



IB

deras individuella stereoisomerer och blandningar därav, och farmaceutiskt godtagbara salter därav, i vilken formeln

R är H eller C₁₋₄-alkyl,

R₁ är C₁₋₄-alkyl,

R₂ är H eller C(O)R₃,

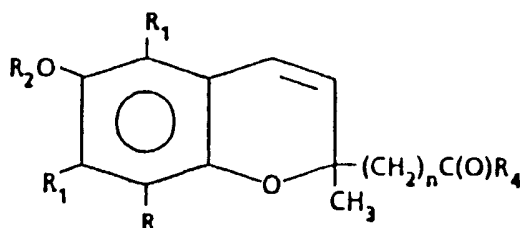
R₃ är H eller C₁₋₉-alkyl,

R₄ är OR eller N(R)₂,

R₅ är H, -C(O)R eller C₁₋₄-alkyl, och

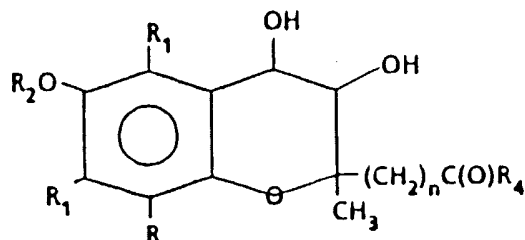
n är noll eller ett;

k ä n n e t e c k n a t av, att man dihydroxilerar följande förening



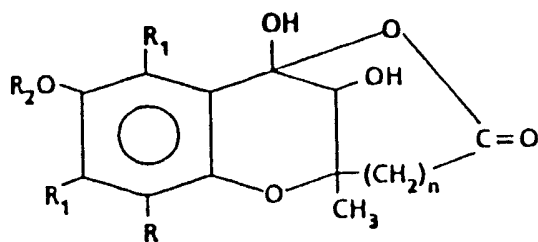
med ett lämpligt hydroxileringsmedel för avgivande av an-
tingen cis- eller trans-föreningen med formeln

5



10 eller när 4-hydroxigruppen står i cis-position till syra-
funktionen, dvs när R₄ är OH, för framställande av en
laktone med formeln

15



2. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
20 t e c k n a t av, att föreningen har formeln 1B.

3. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av, att föreningen har formeln 1A.

4. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av, att R är metyl.

25 5. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av, att R₁ är metyl.

6. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av, att n är noll.

7. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
30 t e c k n a t av, att R₂ är H.

8. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av, att R₂ är C(O)R₃ och R₃ är metyl.

9. Förfarande enligt patentkrav 1,
k ä n n e t e c k n a t av, att föreningen har formeln 1B,
35 R är metyl, R₁ är metyl och n är noll.

10. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av, att man framställer

anti-(+/-)-7-acetyloxi-2,3-dihydro-10-hydroxi-
2,6,8,9-tetrametyl-2,5-metano-5H-1,4-bensodioxepin-3-on;

5 metyl-trans, cis-(+/-)-6-acetyloxi-3,4-dihydro-3,4-
dihydroxi-2,5,7,8-tetrametyl-2H-1-bensopyran-2-karboxylat;

10-anti-(+/-)-2,3-dihydro-7,10-dihydroxi-2,6,8,9-
tetrametyl-2,5-metano-5H-1,4-bensodioxepin-3-on;

trans, cis-(+/-)-3,4-dihydro-3,4,6-trihydroxi-2,5,
10 7,8-tetrametyl-2H-1-bensopyran-2-karbonsyra;

10-anti-(+)-(2S,5R,10R)-7-acetyloxi-2,3-dihydro-10-
hydroxi-2,6,8,9-tetrametyl-2,5-metano-5H-1,4-bensodioxepin-
3-on;

10-anti-(+)-(2S,5R,10R)-2,3-dihydro-7,10-dihydroxi-
15 2,6,8,9-tetrametyl-2,5-metano-5H-1,4-bensodioxepin-3-on;

10-anti-(-)-(2R,5S,10S)-7-acetyloxi-2,3-dihydro-10-
hydroxi-2,6,8,9-tetrametyl-2,5-metano-5H-1,4-bensodioxepin-
3-on;

cis,cis-(+)-(2R,3S,4S)-3,4-dihydro-3,4,6-trihydroxi-
20 2,5,7,8-tetrametyl-2H-1-bensopyran-2-karboxylsyra;

10-anti-(-)-(2R,5S,10S)-2,3-dihydro-7,10-dihydroxi-
2,6,8,9-tetrametyl-2,5-metano-5H-1,4-bensodioxepin-3-on;

10-syn-(+)-(2S,5R,10S)-7-acetyloxi-2,3-dihydro-10-
hydroxi-2,6,8,9-tetrametyl-2,5-metano-5H-1,4-bensodioxepin-
25 3-on;

trans,trans-(-)-(2S,3R,4R)-3,4-dihydro-3,4,6-tri-
hydroxi-2,5,7,8-tetrametyl-2H-1-bensopyran-2-karboxylsyra;

10-syn-(+)-(2S,5R,10S)-2,3-dihydro-7,10-dihydroxi-
2,6,8,9-tetrametyl-2,5-metano-5H-1,4-bensodioxepin-3-on;

10-syn-(-)-(2R,5S,10R)-7-acetyloxi-2,3-dihydro-
10-hydroxi-2,6,8,9-tetrametyl-2,5-metano-5H-1,4-benso-
dioxepin-3-on;

metyl-cis, trans-(2R,3R,4R)-4,6-diacetyloxi-3,4-di-
hydro-3-hydroxi-2,5,7,8-tetrametyl-2H-1-bensopyran-2-
35 karboxylat;

metyl-cis, trans-(2R,3R,4R)-6-acetyloxi-3,4-dihydro-3,4-dihydroxi-2,5,7,8-tetrametyl-2H-1-bensopyran-2-karboxylat;

5 trans, trans-(+)-(2R,3S,4S)-3,4-dihydro-3,4,6-trihydroxi-2,5,7,8-tetrametyl-2H-1-bensopyran-2-karboxylsyra

10-syn-(-)-(2R,5S,10R)-2,3-dihydro-7,10-dihydroxi-2,6,8,9-tetrametyl-2,5-metano-5H-1,4-bensodioxepin-3-on;

11-syn-(+/-)-8-acetyloxi-2,3,4,6-tetrahydro-11-hydroxi-2,7,9,10-tetrametyl-2,6-metano-1,5-bensodioxocin-4-on; eller

trans,cis-(+/-)-6-acetyloxi-3,4-dihydro-3,4-dihydroxi-2,5,7,8-tetrametyl-2H-1-bensopyran-2-ättiksyrametylester.