(19) SUOMI - FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 862029 A7**

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

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 862029

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification
C07D307/62

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **14.05.1986**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **14.05.1986**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **18.11.1986**

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

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

17.05.1985 JP 8500272 18.06.1985 JP 8500340

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • **Takeda Chemical Industries, Ltd.,** 27, Doshomachi 2-chome, Higashi-ku, Osaka, Japan, JAPANI, (JP)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • **Terao, Shinji,** Osaka, JAPANI, (JP)
2 • **Hirata, Minoru,** Japan, JAPANI, (JP)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Boco IP Oy Ab, Itämerenkatu 5, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention
Askorbiinihappojohdannaiset, niiden valmistus ja käyttö.

Askorbinsyraderivat, deras framställning och användning.

Menetelmä uusien, farmaseuttisesti aktiivisten askorbiinihappojohdannaisten valmistamiseksi
Förfarande för framställning av nya farmaceutiskt aktiva askorbinsyraderivat

Keksintö kohdistuu menetelmään uusien askorbiinihappojohdannaisten, jotka ovat käyttökelpoiset verenkiertojärjestelmän häiriötilojen ennaltaehkäisyyn ja hoitoon, valmistamiseksi. Näitä yhdisteitä voidaan sisällyttää farmaseuttisiin seoksiin.

Aikuisissa ihmisissä usein todetut sydän-, aivo-, munuais- jne. sairaudet aiheutuvat pääasiallisesti solujen tai kudosten häiriötiloista ja tuhoutumisesta, mikä johtuu patologisena perustilana olevasta verettömyydestä, jolloin verenvuodon tyrehtyminen johtaa jakavan energialähteen tyrehtymiseen. Sairastumistiheys esimerkiksi verettömyyden aiheuttamiin sydänsairauksiin, verettömyyden aiheuttamiin aivosairauksiin, munuaisten verettömyydestä johtuviin häiriötiloihin, verettömyyden aiheuttamiin mahasuolihaavaumiin, on viime aikoina kasvanut korkealle sivistyneen yhteiskunnan kehittyessä ja tämän yhteiskunnan käsittäessä suuria määriä vanhuksia. Täten näistä sairauksista on muodostunut kehittyneiden maiden kuolleisuuslukemien vakava tekijä.

Äskettäin on todettu, että biologisesti aktivoituneet happilajit tai reaktiiviset orgaaniset radikaalilajit vaikuttavat voimakkaasti verettömissä kudoksissa olevien viottumien pahenemiseen (toisin sanoen alentavat solun toimintaa, häiritsevät, tuhoavat ja kuolettavat soluja, jne) [I. Fridovich, Annual Review of Pharmacology and Toxicology 23, 239 (1983); J. M. McCord, The New England Journal of Medicine, 312, 159 (1985); K. P. Burton, J. M. McCord ja G. Ghai, American Journal of Physiology, 246, H776 (1984)].

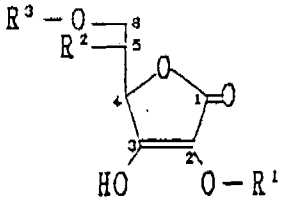
Elävässä järjestelmässä aktiivisena happilajina tai reaktiivisena orgaanisen radikaalilajina pidetään mm. superoksidi-anioniradikaalia ($O_2^{\cdot-}$), hydroksyyliradikaalia (.OH), happisinglettiä ($^1O_2$), ja peroksidiradikaalia (ROO.). Elävässä järjestelmässä radikaalin $O_2^{\cdot-}$ muodostumisen ja reaktiivisten happilajien aiheuttamien tämän jälkeisten solu- tai kudosvaurioiden välisellä suhteella on erityisesti suuri merkitys verettömyyssairauksissa. Erityisesti oletetaan, että radikaalin $O_2^{\cdot-}$ liikamuodostumisella on suurta merkitystä kehittyvissä kudosvaurioissa, kun verta virtaa uudelleen hyytymäviottuman tai verettömyyden jälkeisen kohdan läpi.

Tiedetään, että superoksidi-dismutaasi toimii tehokkaasti radikaalin $O_2^{\cdot-}$ spesifiseksi poishuuhtelemiseksi, suojaa kudosvaurioilta ja lievittää kudoshäiriöitä verettömyyskohdan tai verettömyyden jälkeisen uudelleen läpivirtauksen jälkeen [D. N. Granger, G. Rulili, J. M. McCord, Gastroenterotogy, 81, 22 (1981)]. On myös ilmoitettu, että sellaisilla yhdisteillä, kuten askorbiinihapolla, α-tokoferolilla, kysteiinillä ja pelkistetyllä glutationilla on aktiivisuus, joka pystyy huuhtelemaan pois vapaat radikaalit, ja että nämä yhdisteet voisivat estää kudosten viottumista, mikä näyttää johtuvan vapaista radikaaleista patologisissa tiloissa [I. Fridovich, Science, 201, 875 (1978)].

Perustuen tähän asti tehtyihin perustutkimuksiin, jotka osoittavat, että reaktiiviset happilajit ja orgaaniset radikaalit muodostavat tärkeän tekijän elävän järjestelmän kudosten häiriintymisessä, keksijät ovat suorittaneet tutkimusta löytääkseen uudentyyppisiä farmaseuttisia aineita, jotka ovat erinomaisia sekä farmakologisesti että farmaseuttisesti ja jotka on tarkoitettu huuhtelemaan pois reaktiiviset happilajit ja orgaaniset radikaalit. Tämän tuloksena keksijät ovat todenneet, että 2-O-substituoidut askorbiinihappojohdannaiset ja sen homologit osoittivat in vitro-kokeissa ja erilaisissa eläinkoemalleissa voimakasta vaikutusta reaktiivisten happilajien ja orgaanisten radikaalien poishuuhtelemiseksi, ja että

ne torjuivat verettömyydestä aiheutuvia sydänsairauksia, aivotoiminnan häiriöitä tai munuaissairauksia, ja tuloksena on nyt esillä oleva keksintö.

Keksinnön mukaan valmistetaan verenkiertojärjestelmän toimintahäiriöiden ennaltaehkäisyyn ja hoitoon käyttökelpoinen, farmaseuttisesti aktiivinen, kaavan (I) mukainen askorbiinihappojohdannainen tai sen suola

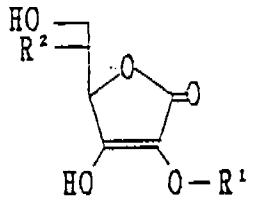


(I)

jossa kaavassa R_1 edustaa C_{5-24}-alkyyliä, joka on valinnaisesti substituoitu C_{1-4}-alkoksikarbonyylillä, hydroksilla, fenyyli-C_{1-4}-alkoksilla, 1,2-di-(C_{1-4}-alkoksi)-4-(C_{1-4}-alkyyli)-kinon-3-yylillä; C_{1-4}-alkyyliä, joka on substituoitu fenyylillä, halogeenifenyylillä, C_{1-4}-alkyyli-fenyylillä, C_{1-4}-alkoksikarbonyylifenyylillä, sykloheksyylillä, C_{4-10}-alkoksifenyylillä, morfolinokarbonyylillä, naftyylillä, 2-(C_{1-4}-alkoksikarbonyyli-pyrrolidino)-karbonyylillä, C_{1-4}-alkoksikarbonyylillä, fenyylikarbonyylillä, C_{1-4}-alkoksikarbonyyli-C_{2-4}-alkenyylifenyylillä; C_{6-20}-alkenyyliä, joka on valinnaisesti substituoitu fenyylillä tai pyridyylillä;
R_2 edustaa vetyä tai hydroksia, tai
R_2 ja R_3 muodostavat yhdessä C_{1-4}-alkylideeni- tai sykloheksylideeni-oksin, joka on liittynyt happiatomiensa kautta C-5-asemaan; ja
R_3 edustaa vetyä tai C_{1-4}-alkyylikarbonyyliä, joka on valinnaisesti substituoitu fenyylillä tai karboksilla; edelleen fenyylikarbonyyliä, nikotinoyyliä tai fenyyliaminokarbonyyliä.

Keksinnön mukainen uusi askorbiinihappojohdannainen voidaan valmistaa siten, että

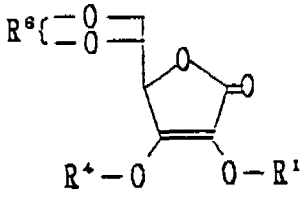
a) kaavan (IV)



(IV)

mukainen yhdiste, jossa kaavassa R^1 ja R^2 ovat kuten edellä määriteltiin, asyloidaan tai fosforyloidaan, ja asyloinnnin tapauksessa tätä seuraa tarvittaessa asyylimigraatio tai de-asylointi;

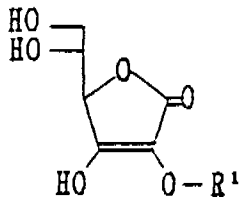
b) saatetaan kaavan (V)



(V)

mukainen yhdiste, jossa kaavassa R^1 on kuten edellä määriteltiin; R^4 on ryhmä, joka pystyy irtoamaan hydrolyysillä tai pelkistyksellä; ja R^6 on asetalijäännös, ketalijäännös tai ryhmä O=S<, vedenpoistoreaktioon ja sitten pelkistykseen, jota seuraa tarvittaessa hydrolyysi;

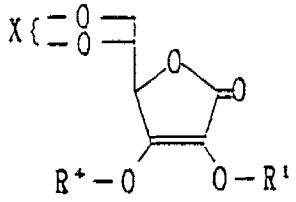
c) kaavan (Ia)



(Ia)

mukainen yhdiste, jossa kaavassa R^1 on kuten edellä määriteltiin, asetalisoidaan tai ketalisoidaan, tai

d) kaavan (III)



(III)

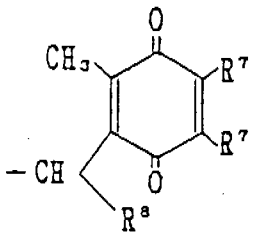
mukainen yhdiste, missä R^1 on kuten edellä määriteltiin; R^4 tarkoittaa hydrolyysillä tai pelkistyksellä lohkaistavissa olevaa ryhmää; ja X tarkoittaa kahta vetyä, asetalijäännöstä tai ketalijäännöstä, hydrolysoidaan, mitä seuraa tarvittaessa pelkistys.

Ylläesitetyissä yleisissä kaavoissa R^1:n tarkoittamien suoraketjuisten tai haaroittuneiden, valinnaisesti substituoituneiden alkyyliryhmien molekyylipaino on 15...700, ja niissä on edullisesti 1...22 hiiliatomia, edullisemmin 9...20 hiiliatomia, ja vielä edullisemmin ne ovat suoraketjuisia alkyyliryhmiä, joissa on 14...20 hiiliatomia.

Esimerkkejä tällaisista alkyyliryhmistä ovat metyyli, etyyli, n-propyyli, isopropyyli, n-butyyli, isobutyyli, n-pentyyli, n-heksyyli, n-heptyyli, n-oktyyli, n-nonyyli, n-dekyyli, n-undekyyli, n-dodekyyli, n-tridekyyli, n-tetradekyyli, n-pentadekyyli, n-heksadekyyli, n-heptadekyyli, n-oktadekyyli, n-nonadekyyli, n-eikosyyli, n-heneikosyyli ja n-dokosyyli.

Suoraketjuisissa tai haaroittuneissa substituoiduissa alkyyliryhmissä metyleeniryhmien lukumäärä on edullisesti noin 1...22.

Ylläesitetyn alkyyliryhmän substituentteja ovat esimerkiksi valinnaisesti substituoidut hydroksyyliryhmät, valinnaisesti substituoidut karboksyyliryhmät, valinnaisesti substituoidut sykloalkyyliryhmät, valinnaisesti substituoidut aryyliryhmät, valinnaisesti substituoidut heterosykliset ryhmät, kinoyyli, jota edustaa kaava



(jossa kaavassa R^7 tarkoittaa metyyliryhmää, metoksiryhmää, ja kaksi R^7-ryhmää muodostavat -CH=CH-CH=CH-ryhmän; ja R^8 tarkoittaa fenyyliä, naftyyliä, tienyyliä tai pyridyyliä).

Valinnaisesti substituoiduista hydroksyyliryhmistä mainittakoon ne, joita edustaa kaava -O-R^9- (jossa R^9 tarkoittaa vetyä, C_{1-3}-alkyyliä tai fenyyliä).

Valinnaisesti substituoiduista karboksyyliryhmistä mainittakoon ne, joita edustaa kaava -CO-O-R^{12} (jossa R^{12} tarkoittaa vetyä, C_{1-3}-alkyyliä tai fenyyliä). Valinnaisesti substituoidun sykloalkyyliryhmän sykloalkyylinä on edullisesti sykloheksyyli.

Halogeenia edustaa kloori, bromi, fluori tai jodi.

Esimerkkejä hydroksyyliryhmästä, jossa on substituentti, ovat C_{1-3}-alkoksit kuten metoksi, etoksi, propoksi, isopropoksi sekä fenoksi. Esimerkkejä aryyliryhmästä, jossa on substituentti, ovat fenyyli, 1- tai 2-naftyyli, 2-, 3- tai 4-monometyylifenyyli, 2-, 3- tai 4-monometoksifenyyli, 2-, 3- tai 4-monometoksifenyyli, 2-, 3- tai 4-monohalogeenifenyyli (halogeeniatomi tarkoittaa kloori-, bromi- tai fluoriatomia), 2,3-metyleenidioksifenyyli, 3,4-dimetyylifenyyli, 3,4-dimetoksifenyyli, 4-(etoksikarbonyylietenyyli)fenyyli, 4-isopropyylifenyyli, 4-metoksikarbonyylifenyyli, 3,4,5-trimetyylifenyyli, 3,4,5-trimetoksifenyyli, 4-bifenyyli, 4-karboksifenyyli, 4-karboksimetyylifenyyli ja 4-(1-karboksietyyli)fenyyli. Esimerkkejä heterosyklisestä ryhmästä, jossa on mainittu substituentti, ovat 2-, 3- tai 4-pyridyyli, 2- tai 3-tienyyli, mor-

foliini, pyrrolidinyyli, piperidinyyli, piperatsinyyli, 4-fenyylipiperatsinyyli, 4-(p-fluorifenyyli)piperatsinyyli, 4-difenyylimetyylipiperatsinyyli ja 4-(p-metoksifenyyli)piperatsinyyli, jolla voi olla 1...3 substituenttia, joita edustaa C_{1-3}-alkyyli, karboksyyli, hydroksyyliryhmä, fenyyli, halogeeni, karboksimetyyli tai bentsoyyli.

Ylläesitetyssä yleisessä kaavassa esimerkkejä hydrolyysillä lohkaistavissa olevista ryhmistä, joita edustaa R^4, ovat metoksimetyyli, etoksimetyyli, bentsyylioksimetyyli, 2-tetrahydropyranyyli, trimetyylisilyyli, dimetyylitertiääributyylisilyyli, jne., ja esimerkkejä pelkistyksellä lohkaistavissa olevista ryhmistä, joita edustaa R^4, ovat bentsyyli, p-metoksibentsyyli, jne.

Yllämainittuina asetalijäännöksinä mainitaan ryhmät, joita edustaa kaava R^{21}-CH< (jossa R^{21} tarkoittaa C_{1-3}-alkyyliä, fenyyliä tai p-metoksifenyyliä), ja ketalijäännöksinä mainitaan ryhmät, joita edustaa kaava

$$\begin{matrix} R^{22} \\ > C < \\ R^{23} \end{matrix}$$

jossa R^{22} ja R^{23} toisistaan riippumatta tarkoittavat vetyä tai C_{1-3}-alkyyliä, tai R^{22} ja R^{23} muodostavat $-(CH_2)_2-$.

Esimerkkejä yllämainitusta C_{1-3}-alkyylistä ovat metyyli, etyyli, n-propyyli tai isopropyyli.

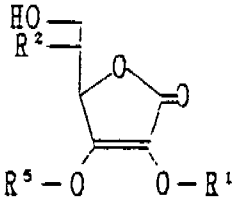
Siinä tapauksessa, että yhdiste (I) kykenee muodostamaan suolan, siitä voidaan muodostaa suola, ja suolaa edustavat epäorgaaninen suola kuten natriumsuola, kaliumsuola, ammoniumsuola, hydrokloridi, sulfaatti, jne., tai se voi muodostaa sisäisen suolan.

Yhdisteessä (III) olevan suojaryhmän ollessa hydrolyysillä lohkaistavissa yhdiste (Ia), toisin sanoen yhdiste (I), jossa R^2 on hydroksyyliryhmä ja R^3 on vety, voidaan valmistaa saat-

tamalla yhdiste (Ia) happohydrolyysiin 5- tai 6-asemassa olevan asetalijäännöksen tai ketalijäännöksen sekä samanaikaisesti 3-asemassa olevan suojaryhmän poistamiseksi.

Siinä tapauksessa, että yhdisteen (III) 3-asemassa oleva suojaryhmä R^4 on lohkaistavissa pelkistämällä, yhdiste (Ia) voidaan valmistaa saattamalla yhdiste (III) happohydrolyysiin 5,6-asemassa olevan asetalijäännöksen tai ketalijäännöksen poistamiseksi, jota seuraa 3-asemassa olevan suojaryhmän poistaminen katalyyttisellä pelkistyksellä.

Yhdiste (Ib), toisin sanoen yhdiste (I), jossa R^3 on asyyliryhmä, voidaan valmistaa saattamalla yhdiste (IV), toisin sanoen yhdiste (I), jossa R^3 on vety, asylointiin, tai milloin asyloinnilla muodostuu yleisen kaavan



(VI)

(jossa R^1 ja R^2 tarkoittavat samaa kuin edellä ja R^5 tarkoittaa asyyliryhmää) mukainen yhdiste, saattamalla edelleen tämä yhdiste asyylin uudelleen järjestäytymisreaktioon. Yhdiste (Ic), toisin sanoen yhdiste (I), jossa R^2 ja R^3 tarkoittavat molemmat vetyä, voidaan valmistaa saattamalla yhdiste (V) hydrolyysiin emäksisissä olosuhteissa, jota seuraa katalyyttinen pelkistys, sekä tarvittaessa hapan hydrolyysi.

Yllämainittu hapan hydrolyysi suoritetaan noin 1...2 tunnin ajan noin 10...80 °C:ssa vedessä tai orgaanisessa liuottimessa kuten metanolissa, etanolissa, dioksaanissa, tetrahydrofuraanissa, 1,2-dimetoksietaanissa tai näiden vesiseoksessa.

Yllämainittu katalyyttinen pelkistys suoritetaan noin 4...10

tunnin aikana noin 10...100 °C:ssa orgaanisessa liuottimessa kuten metanolissa, etanolissa, etyyliasetaatissa, dioksaanissa, 1,2-dimetoksietaanissa, jne. kun läsnä on esimerkiksi palladiumia, palladium-hiiltä, platinamustaa, palladiumkloridia, platinaoksidia, jne.

Koska 3-asemassa olevan enolisen hydroksyyliryhmän reaktiivisuus yllämainitussa asyloinnissa on suurempi kuin 6-asemassa olevan, ensiksimainittu hydroksyyliryhmä asyloituu ensiksi. Riippuen asyyliryhmän tyypistä 3-O-asyylijohdannainen voidaan helposti sisäisesti uudelleenjärjestää heikosti emäksisissä olosuhteissa siten, että saadaan 6-O-asyylijohdannainen (VI). 3-O-asyylijohdannainen (VI) esiintyy myös välituotteena, mutta se on altis sisäiselle migraatiolle tai hydrolyysille ja on siten kemiallisesti epästabiili yhdiste. Näin ollen 6-O-asyylijohdannainen voidaan valmistaa saattamalla 3-O-asyylijohdannainen sisäiseen migraatioon. Sisäinen migraatio kestää noin 1...10 tuntia noin 20...100 °C:ssa kun läsnä on heikkoa emästä (esimerkiksi pyridiiniä, natriumkarbonaattia, puskuriliuosta (pH noin 7...8)).

Yllämainittu asylointi suoritetaan yleensä tavanomaisella tavalla. Liuottimena käytetään usein karboksyylihapon hapanta kloridia tai anhydridiä (mukaanlukien happojen seka-anhydridit) ja reaktio suoritetaan emäksen läsnäollessa, jolloin emäksistä mainittakoon pyridiini, trietyyliamiini, kaliumkarbonaatti, natriumkarbonaatti, natriumvetykarbonaatti, jne., lämpötilan ollessa -10...-50 °C. Reaktioaika on useimmissa tapauksissa on noin 1...10 tunnin sisällä.

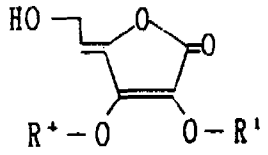
Yllämainitussa fosforyloinnissa käytettyä fosforyloivaa ainetta edustavat esimerkiksi 2-syanoetyylifosfaattidisykloheksyylikarbodi-imidi, di-p-nitrobentsyylifosforyylikloridi, dioksaanidifosfaatti, dimorfolyylifosforihappokloridi, pyrofosforyylitetrakloridi, jne.

Yllämainitussa sulfonoinnissa käytettävää sulfonoivaa ainetta edustavat esimerkiksi rikkihappoanhydridi (SO_3), rikkihappoanhydridin pyridiini (SO_3-C_5H_5N), rikkihapon dioksaani ($SO_3OC_4H_8O$), rikkihappoanhydridin dimetyyliformamidi (SO_3-$HCON(CH_3)_2$), rikkihappoanhydridin trietyyliamiini (SO_3-$N(C_2H_5)_3$), jne.

Yllämainitussa fosforyloinnissa ja sulfonoinnissa käytettävää liuotinta edustavat esimerkiksi dioksaani, dimetyyliformamidi, kloroformi, metyleenikloridi, jne. Reaktiolämpötila on välillä -10...-50 °C ja reaktioaika on noin 1...10 tuntia. Näin saadun yhdisteen suolan saamiseksi käytetään tavanomaisia menetelmiä. 3-asemassa olevan asyyliryhmän poistaminen suoritetaan lisäämällä ekvimolaarinen määrä natriumvetykarbonaattia tai pyridiiniä ja hydrolyysi suoritetaan huoneenlämpötilassa. Reaktioaika on noin 1...6 tuntia.

Dehydrataatio suoritetaan loppuun noin 1...4 tunnissa lämpötilan ollessa välillä noin 30...80 °C orgaanisessa liuottimessa kuten metyleenikloridissa, kloroformissa, dioksaanissa, tetrahydrofuraanissa, bentseenissä, jne. kun läsnä on orgaanista emästä, kuten 1,5-diatsabisyklo(4,3,0)-5-noneenia, 1,4-diatsabisyklo(2,2,2)oktaania, 1,8-diatsabisyklo(5,4,0)-7-undekeeniä, pyridiiniä, trietyyliamiinia.

Suorittamalla dehydrataatio voidaan saada yhdistettä, jonka yleinen kaava on



(VI´)

(jossa R^1 ja R^4 tarkoittavat samaa kuin edellä).

Saattamalla yhdiste (VI´) pelkistykseen, jota tarvittaessa seuraa hydrolyysi, voidaan valmistaa yhdistettä (Ic). Mainittu

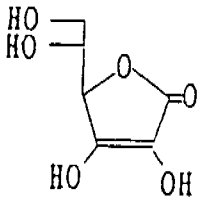
pelkistys ja hydrolyysi voidaan suorittaa ylläesitetyllä tavalla.

Reaktio yhdisteen (Id) muodostamiseksi yhdisteen (Ia) asetalisoinnilla tai ketalisoinnilla suoritetaan antamalla lähtöyhdisteen reagoida ketonin tai aldehydin kuten asetonin, bentsaldehydin, syklopentanonin, sykloheksanonin, jne. kanssa. Reaktioliuottimena käytetään tolueenia, tetrahydrofuraania, kloroformia, dietyylieetteriä, dikloorimetaania, dikloorietaania, jne. Reaktiolämpötila on välillä 15...150 °C ja reaktio suoritetaan happamen katalysaattorin läsnäollessa. Esimerkkejä katalysaattorista ovat esimerkiksi asetyylikloridi, rikkihappo, p-tolueenisulfonihappo, kamferisulfonihappo. Reaktioaika on välillä noin 1...24 tuntia.

Näin valmistetut askorbiinihappojohdannaiset (I) voidaan eristää ja ottaa talteen sinänsä tunnetuilla eristys- ja puhdistusmenetelmillä (esimerkiksi pylväskromatografoimalla käyttäen silikageeliä, polyspyreenihartseja, aktiivihiiltä, käänteisfaasijärjestelmää, jne., uudelleenkiteyttämällä, jne.).

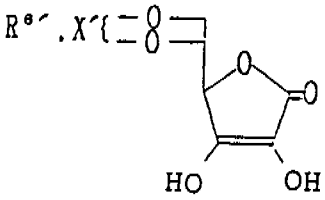
Keksinnön mukaisessa menetelmässä käytettäviä lähtöaineita voidaan valmistaa esimerkiksi seuraavilla reaktiovaiheilla.

(A) Menetelmä, jolla valmistetaan yhdistettä (III'), toisin sanoen yhdistettä (III), jossa X on asetali- tai ketalijäännös, ja yhdistettä (V'), toisin sanoen yhdistettä (V), jossa R^6 on asetalijäännös tai ketalijäännös:



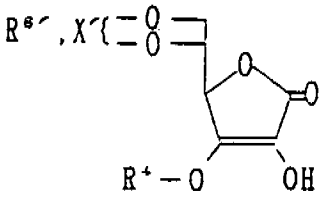
{ Askorbiinihappo, d,l-askorbiinihappo, isoaskorbiinihappo

Asetalisointi,
ketalisointi



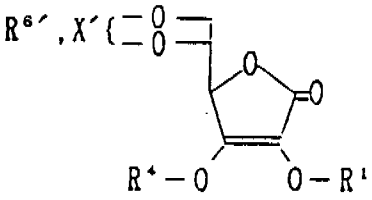
[VII]

R^4-Y



[VIII]

R^1-Z



[V'], [III']

Ylläesitetyissä kaavoissa X´ ja $R^{6'}$ tarkoittavat asetali- tai ketalijäännöstä.

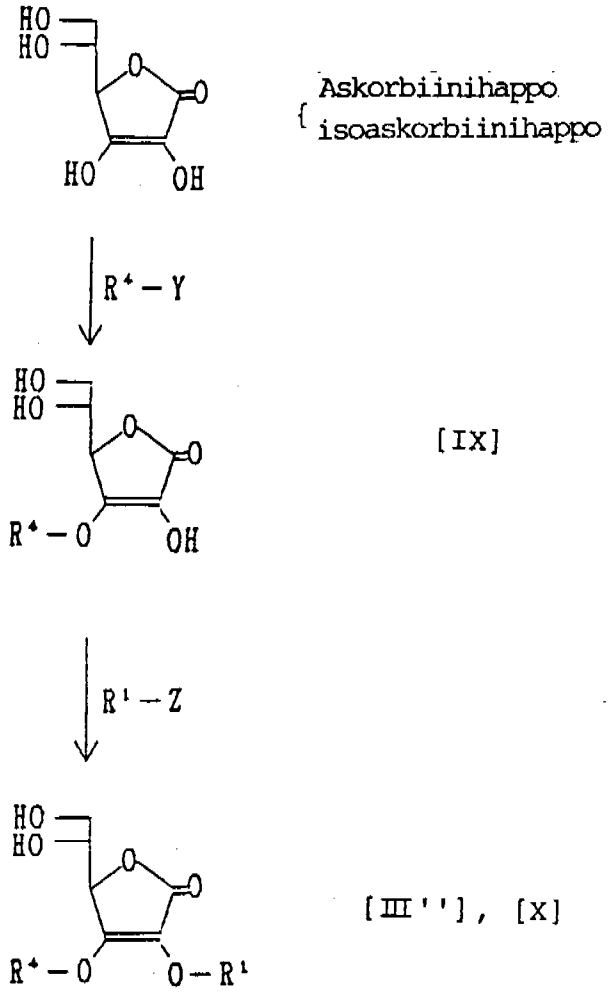
Kun lähtöaineena käytetään askorbiinihappoa, askorbiinihappo asetalisoidaan tai ketalisoidaan ensiksi yhdisteen (VII) valmistamiseksi. Tämä reaktio suoritetaan antamalla askorbiinihapon reagoida ketonin tai aldehydin, kuten asetonin, bentsaldehydin, syklopentanonin, sykloheksanonin, jne. kanssa. Reaktioliuottimena käytetään mm. tetrahydrofuraania, kloroformia, dietyylieetteriä, dikloorimetaania tai dikloorietaania. Reaktiolämpötila on välillä huoneenlämpötila...60 °C ja reaktio suoritetaan happamen katalysaattorin läsnäollessa. Katalysaattorin esimerkkejä ovat asetyylikloridi, rikkihappo, p-tolueenisulfonihappo ja kamferisulfonihappo. Reaktioaika on välillä noin 4...24 tuntia. Tämän jälkeen yhdisteen (VII) annetaan reagoida yhdisteen kanssa, jota edustaa kaava R^4-Y (jossa R^4 tarkoittaa samaa kuin edellä ja Y tarkoittaa halogeenia (esimerkiksi klooria tai bromia)) (esimerkiksi kloorimetyylimetyylieetteri, kloorimetyylietyylieetteri, bentsyylikloridi, bentsyylibromidi) dimetyyliformamidissa, dimetyylisulfoksidissa (DMSO), heksametyylifosforamidissa tai tetrahydrofuraanissa, joko yksistään tai näiden liuotinseoksessa, kun läsnä on epäorgaanista emästä kuten kaliumkarbonaattia, natriumkarbonaattia, natriumhydroksidia, kaliumhydroksidia ja natriumvetykarbonaattia, yhdisteen (VIII) valmistamiseksi. Reaktiolämpötila on välillä 0...40 °C (edullisesti 25 °C). Reaktio kuluu loppuun 1...18 tunnissa.

Tämän jälkeen näin saadun yhdisteen (VIII) annetaan reagoida yhdisteen kanssa, jota edustaa kaava R^1-Z (jossa R^1 tarkoittaa samaa kuin edellä ja Z tarkoittaa halogeenia (esimerkiksi klooria tai bromia)) liuottimessa, kuten dimetyyliformamidissa, dimetyylisulfoksidissa, heksametyylifosforamidissa tai tetrahydrofuraanissa yksin tai näiden liuottimien seoksessa, kun läsnä on epäorgaanista emästä (esimerkiksi natriumhydroksidi, kaliumhydroksidi, natriumkarbonaatti ja kaliumkarbonaat-

ti) lämpötilassa välillä 10...60 °C 1...18 tunnin ajan yhdisteen (III´) tai (V´) tuottamiseksi.

Yhdiste (III´´), toisin sanoen yhdiste (III), jossa X tarkoittaa kahta vetyatomia, voidaan valmistaa saattamalla yhdiste (III´) hydrolyysiin samalla tavalla kuin edellä on selitetty.

(B) Yhdiste (III´´), toisin sanoen, yhdiste (III), jossa X on kaksi vetyatomia, voidaan valmistaa seuraavalla menetelmällä.



Ylläesitetyssä menetelmässä lähtöaineena käytetään askorbiinihappoa tai isoaskorbiinihappoa ja sen 3-asemassa olevan hydroksyyliryhmän annetaan reagoida tavanomaisella tavalla metoksimetyylikloridin, etoksimetyylikloridin, bentsyylibromidin,

trimetyylisilyylikloridin, dimetyylitert-silyylikloridin, jne. kanssa siten, että saadaan 3-O-eetteriyhdiste (IX), minkä jälkeen näin saadun yhdisteen (IX) annetaan reagoida yhdisteen kanssa, jota edustaa kaava R^1-Z (jossa R^1 ja Z ovat kuten edellä määritelty) lämpötilavälillä noin 10...60 °C noin 1...20 tunnin ajan dimetyyliformamidissa, dimetyylisulfoksidissa, heksametyylifosforamidissa, tetrahydrofuraanissa, dioksaanissa, jne., joko yksistään tai liuotinseoksessa epäorgaanisen emäksen läsnäollessa (esimerkiksi kaliumkarbonaatti, natriumkarbonaatti, jne.), jolloin saadaan yhdistettä (X).

(C) Menetelmä yhdisteen (V´), toisin sanoen yhdisteen (V), jossa R^6 tarkoittaa ryhmää O=S<, valmistamiseksi:

Ylläesitetty yhdiste valmistetaan antamalla tionyylikloridin reagoida yhdisteen (X) kanssa.

Reaktio suoritetaan liuottimessa, kuten esimerkiksi tetrahydrofuraanissa, dimetyyliformamidissa, metyleenikloridissa, jne. orgaanisen emäksen, esimerkiksi trietyyliamiinin, pyridiinin, 1,8-diatsabisyklo(5,4,0)-7-undekeenin läsnäollessa. Reaktio suoritetaan noin 0...30 °C:ssa noin 1...6 tunnin aikana.

Ylläesitetyillä menetelmillä valmistetut yhdisteet (III) ja (V) ovat käyttökelpoisia välituotteina esimerkiksi yhdisteen (I) synteesissä.

Yhdisteellä (I) ja sen suoloilla on osoittautunut olevan lipidien per-hapettumista estävä vaikutus in vitro-kokeissa käyttäen stabiilia radikaalia tai aivohomogenaattia, ja vapaiden happiradikaalien aiheuttamissa rotan sydämen verettömyys-reperfuusiomallissa tai rotan verettömässä aivomallissa tai rotan munuais-toimettomuusmallissa, näillä yhdisteillä on estävä tai parantava vaikutus kulloiseenkin toimintahäiriöön samalla kun niillä on merkittävän alhainen toksisuus, eikä laisinkaan sivuvaikutuksia.

Yhdisteellä (I) ja sen suoloilla on terapeuttista, ennaltaehkäisevää ja parantavaa vaikutusta eri toiminnallisia häiriöitä vastaan, joista mainittakoon verettömyydestä johtuvat sydänsairaudet (rytmihäiriö, sepelvaltimonkouristus, sydänkudoksen kuolio, sydäninfarkti, jne.), lukinkalvonalainen verenvuoto, verettömyydestä johtuvat aivokudossairaudet (esimerkiksi aivoinfarkti, tylsistyminen, vanhuuden tylsistyminen, jne.), verettömyydestä johtuvat munuaissairaudet, verettömyydestä johtuvat suolisairaudet (esimerkiksi suolihaavauma, jne.) ja siten ne ovat käyttökelpoisia verenkiertojärjestelmän toiminnallisten häiriöiden ehkäisevinä ja hoitavina aineina.

Erityisiä esimerkkejä yllämainittuja verenkiertojärjestelmän toiminnallisia häiriöitä hoitavien ja ehkäisevien aineiden käytöstä käsittävät verenkiertojärjestelmän toimintahäiriöitä parantavat aineet, munuaistoimintaa parantavat aineet, stressin aiheuttamaa suolihaavaumaa hoitavat aineet, jne., esimerkiksi rytmihäiriöiden, sydäninfarktin, aivoinfarktin vastaiset aineet, vanhuuden tylsistymistä ehkäisevät aineet, lukinkalvonalaisen verenvuodon jälkeinen terapia ja hoito.

Keksinnön mukaisilla yhdisteillä on alhainen toksisuus (esimerkiksi hiirien akuutti-toksisuus-kokeessa ei yhtään eläintä kuollut suun kautta annetun annoksen ollessa 1000 mg/kg) ja yhdistettä (I) voidaan turvallisesti antaa suun kautta tai muulla tavalla farmaseuttisena koostumuksena (esimerkiksi tablettina, kapselina (mukaanlukien pehmeät kapselit ja mikrokapselit), nesteenä, peräpuikkona, ruiskeliuoksena, valmisteena nenän kautta hengittämistä varten), jotka valmistetaan sekoittamalla sinänsä tavanomaisten farmakologisesti hyväksyttävien kantoaineiden, täyteaineiden, laimentimien, jne. kanssa sinänsä tunnetulla tavalla. Vaikka annos vaihtelee antotavan, symptomien, jne. mukaan, se on tavallisesti yllämainituille imettäväisille annostettuna noin 0,1...50 mg/kg kehonpainoa,

edullisesti noin 0,5...20 mg/kg kehonpainoa noin 1...3 kertaa päivässä.

Kun yhdistettä (I) annetaan muuta kautta kuin suun kautta, esimerkiksi peräpuikkona, sitä annetaan noin 5...10 mg/kg yhdisteenä (I) lausuttuna noin 1...2 kertaa päivässä. Ruiskeliuoksena sitä on edullista käyttää yhdisteenä (I) lausuttuna noin 0,1...5 mg/kg noin 1...2 kertaa päivässä.

Valmistettaessa yllämainittuja koostumuksia suun kautta annettaviksi valmisteisiin sisällytetään sopivasti sideainetta (esimerkiksi hydroksipropyyliselluloosaa, hydroksimetyylipropyylimetyyliselluloosaa, makrogolia, jne.), hajotinta (esimerkiksi tärkkelystä, karboksimetyyliselluloosa-kalsiumia, jne.), täyteainetta (esimerkiksi laktoosia, tärkkelystä, jne.), voiteluainetta (esimerkiksi magnesiumstearaattia, talkkia, jne.), jne.

Valmistettaessa valmistetta annettavaksi muuta kautta kuin suun kautta, esimerkiksi ruiskevalmistetta, voidaan siihen sopivasti sisällyttää isotonoivaa ainetta (esimerkiksi glukoosia, D-sorbitolia, D-mannitolia, natriumkloridia, jne.), antiseptistä ainetta (esimerkiksi bentsyylialkoholia, kloributanolia, metyylipara-hydroksibentsoaattia, propyylipara-hydroksibentsoaattia, jne.), puskuria (esimerkiksi fosfaattipuskuria, natriumasetaattipuskuria, jne.), jne.

Piirustuksen lyhyt selitys

Kuviossa 1 esitetään kokeessa 1 selitetyn hapettumista inhiboivan vaikutuksen tulokset.

Seuraavassa esitetyt koe-esimerkit, viite-esimerkit ja suoritusesimerkit havainnollistavat keksintöä tarkemmin.

Koe-esimerkki 1

Hapettumista inhiboivan aktiivisuuden määrittäminen käyttämällä stabiilia radikaalia.

M.S. Brois (Nature, 181, 1199, 1958), selittämän menetelmän mukaan määritettiin aktiivisuus stabiilin, vapaan radikaalin α, α-difenyyli-β-pikryylihydratsyylin (DDPH) pelkistämiseksi, mitä käytettiin hapettumista inhiboivan aktiivisuuden indeksinä. Tarkemmin sanottuna koeyhdistettä (toisin sanoen yhdistettä (I), jossa $R^1 = -(CH_2)_{17}CH_3$, R^2 = OH ja R^3 = H, josta toisinaan käytetään nimitystä "yhdiste (1-12)") lisättiin 3 ml:aan 0,1 mM DDPH:n etanoliliuosta. Tämän jälkeen 20 minuuttia myöhemmin absorbanssi aallonpituudella 517 nm mitattiin käyttäen spektrofotometriä. Absorbanssin erotusta näyteliuoksen ja vertailuliuoksen (ei enemmän kuin 0,5 DMF) välillä pidettiin pelkistysaktiivisuutena.

Kokeen tulokset on esitetty kuviossa 1, missä - ● - tarkoittaa tuloksia ylläesitetyllä koelääkkeellä, - o - tuloksia vitamiinilla E, ja - ▲ - tuloksia vitamiinilla C.

Ylläesitetyn koelääkkeen todettiin pelkistävän DDPH:n konsentraatiossa yli 10^{-5}M tavalla, joka oli riippuvainen käytetystä määrästä. Vitamiineilla C ja E oli samanlainen aktiivisuus kuin koelääkkeillä.

Koe-esimerkki 2

Aktiivisuus lipidiperoksidin muodostumisen estymiselle rotan aivokudoksen homogenaatissa.

i) Menetelmä:

Koiras-SD-rottia (12 viikon ikäiset) saatettiin verettömyys-

tilaan pentobarbitaalilla nukuttaen, ja tämän jälkeen aivot poistettiin. Aivokudos homogenisoitiin fosfaattipuskuriliuoksessa (pH 7,4) 5-prosenttisen homogenaatin valmistamiseksi. Homogenaattia inkuboitiin 37 ^{o}C:ssa tunnin ajan, jonka jälkeen siinä muodostuneiden lipidi-peroksidien määrä määritettiin tiobarbituurihappo (TBA)-menetelmällä, jonka ovat selittäneet Ohkawa et al, Analytical Biochemistry 95 351, 1979.

Koelääkettä lisättiin 5-prosenttiseen homogenaattiin ennen inkubointia siten, että lopullinen konsentraatio oli 10^{-5}M. Yhdisteen aktiivisuutta lipidiperoksidien muodostumisen inhiboimiseksi verrattiin vertailuryhmään, johon oli lisätty liuotinta (DMSO), ja tulokset on esitetty %-inhibitiona.

ii) Tulokset on esitetty allaolevassa taulukossa 1.

Aktiivisuus lipidiperoksidien muodostumisen inhiboimiseksi vaihtelee sivuketjun pituuden mukaan, kun sivuketjun metyleeniryhmien lukumäärää (n) yleisessä kaavassa (I) muutettiin alueella 7...21. Kun n on alueella 13...19, vastaavilla yhdisteillä osoittautui olevan suurempi aktiivisuus, saavuttaen 80 % tai enemmän inhibitorista vaikutusta, mikä on voimakkaammin vaikuttavaa kuin vitamiini E. Verrattuna yhdisteeseen, jonka 3-asemassa olevan metyleeniketjun luku n = 17, yhdiste (1-12) osoitti suurempaa aktiivisuutta. Samassa koejärjestelmässä vitamiini C pikemminkin edisti lipidi-peroksidien muodostumista huomattavasti.

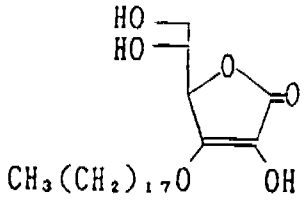
Taulukko 1

Aktiivisuus lipidi-peroksidin muodostumisen inhiboimiseksi rotan aivokudoksen homogenaatissa (TBA-menetelmä)

Yhdiste (I)	Inhiboiva vaikutus %
$R^2=OH, R^3=H, R^1=-(CH_2)_7CH_3$	-6.6± 3.0
$R^2=OH, R^3=H, R^1=-(CH_2)_9CH_3$	40.0± 1.1
$R^2=OH, R^3=H, R^1=-(CH_2)_{11}CH_3$	55.7±26.5
$R^2=OH, R^3=H, R^1=-(CH_2)_{13}CH_3$	93.1± 5.3
$R^2=OH, R^3=H, R^1=-(CH_2)_{14}CH_3$	100.0± 0
$R^2=OH, R^3=H, R^1=-(CH_2)_{15}CH_3$	78.5±11.7
$R^2=OH, R^3=H, R^1=-(CH_2)_{17}CH_3$	88.6± 6.8
$R^2=OH, R^3=H, R^1=-(CH_2)_{19}CH_3$	95.4± 4.6
$R^2=OH, R^3=H, R^1=-(CH_2)_{21}CH_3$	38.1±16.6
Yhdisteet, joilla on ryhmä 3-asemassa*	45.4± 8.7
C-vitamiini	-71.6±36.8
E-vitamiini	44.9±11.7

Huom.) Kunkin yhdisteen konsentraation on 10^{-5}M, ja kunkin yhdisteen koe-esimerkin lukumäärä on 3. Inhibitorinen vaikutus (%) esitetään keskiarvoina ± standardipoikkeamalla.

Huom.) Yhdisteet, joilla on ryhmä 3-asemassa:



Koe-esimerkki 3

Vaikutus Fe^{3+} nitrilotriasetaatin aiheuttamien munuaishäiriöiden lievittämiseksi rotissa.

(i) Menetelmä

Kokeessa käytettiin koiras-SLC-Wistar-rottia (4 viikon ikäiset, noin 64...85 g). Eläimiä pidettiin erikseen aineenvaihduntahäkeissä ja niille annettiin vapaasti ruokaa ja vettä. Eläinten kehonpaino, virtsatilavuus ja virtsan sisältämä proteiini (BIO-RAD-menetelmä) määritettiin päivittäin ja piilevä verireaktio tarkistettiin myös (Labstick-menetelmä). Kokeen viimeisenä päivänä munuainen poistettiin ja punnittiin.

Eläimille annettiin suun kautta kerran päivässä koeyhdistettä tai sen välitysainetta (arabikumin suspensio ja noin 40...60 minuuttia myöhemmin niihin injektoitiin vatsaontelon sisäisesti nitrilotriasetaattia (NTA) tai Fe^{3+}-NTA. Fe^{3+}-NTA:ta käytettiin seoksen muodossa (1:4, molaarinen suhde), annosten ollessa 5 mg/kg lausuttuna Fe^{3+}:na kolmen päivän ajan ja tämän jälkeen 10 mg/kg viiden päivän ajan.

Koelääkkeinä olivat yhdiste (1-12), vitamiini C ja vitamiini E ja annokset olivat kaikki 30 mg/kg.

(ii) Tulokset

Kokeen viimeisenä päivänä todetut tulokset on esitetty taulukoissa 2 ja 3.

Niissä ryhmissä, joissa eläimille oli annettu välitysainetta, todettiin Fe^{3+}-NTA:n aiheuttama munuaisten häiriintymistila ja munuaisten paino oli kasvanut huomattavasti, ja useimmissa eläimissä piilevä verikoe oli positiivinen, minkä lisäksi todettiin huomattava lisääntyminen virtsan tilavuudessa ja

virtsan proteiinipitoisuudessa. Ryhmissä, joissa eläimille oli annettu yhdistettä (1-12), munuaishäiriöt olivat lievemmät, siten verrattaessa näitä ryhmiä ryhmiin, joissa eläimille oli annettu välitysainetta, munuaisten paino oli huomattavasti pienempi ja virtsan tilavuus ja virtsan proteiinipitoisuus olivat merkittävästi pienemmät ja vain puolessa koe-eläimistä todettiin piilevää verta. Vitamiini E osoitti olennaisesti samaa vaikutusta, mutta useammassa kuin puolessa koe-eläimistä piilevä verikoe oli positiivinen. Vitamiini C ei osoittanut merkittävää vaikutusta munuaishäiriöiden lievittämiseksi.

Taulukko 2

Vaikutus Fe^{3+}-nitrilotriasetaatin (NTA) aiheuttamaan munuaishäiriöön

Ryhmä	n	Ruumiinpaino (g)	Munuaisen paino (mg)	Piilevä verikoe
Ei yhtään *1	2	118	51	0/2
Välitysaine*2	6	86.6±3.7	68.2±2.1	5/6
Yhdiste (1-12)	6	95.5±3.0	56.5±2.0**	3/6
C-vitamiini	6	89.2±4.1	64.5±1.7	5/6
E-vitamiini	6	99.3±2.3	54.3±2.7**	4/6

Kunkin koelääkkeen annos oli 30 mg/kg suun kautta annettuna.
n: koe-eläinten lukumäärä
*1 ei mitään: vertailueläimet, joille ei annettu Fe^{3+}-NTA
*2 välitysaine: arabikumisuspensio

Taulukko 3

Vaikutus Fe^{3+}-nitrilotriasetaatin (NTA) aiheuttamaan munuaishäiriöön

Ryhmä	n	Virtsan tilavuus (ml/päivä)	Virtsan proteiinipitoisuus (mg/päivä)
Ei yhtään	6	5.4±1.2	3.0±1.1
Välitysaine	6	13.2±2.0	15.1±1.9
Yhdiste (1-12)	6	7.4±1.3*	8.1±2.1*
C-vitamiini	6	10.3±1.7	10.7±2.4
E-vitamiini	6	9.0±1.0	6.3±1.4*

Kunkin koelääkkeen annos oli 30 mg/kg suun kautta annettuna.
n: koe-eläinten lukumäärä
Ei mitään: vertailueläimet, joille ei annettu Fe^{3+}-NTA
Välitysaine: arabikumisuspensio

Koe-esimerkki 4

Vaikutus rotan sydämen sepelvaltimotukoksen ja reperfuusion (uudelleenläpivirtauksen) aikana tapahtuneen kammion rytmihäiriön inhiboimiseksi.

(i) Menetelmä

Kokeessa käytettiin koiras-SD-rottia (noin 9...13 viikon vanhat, 250...370 g).

Eläinten rintaontelot avattiin tekohengitystä antaen ja nukutusta ylläpitäen pentobarbitaalilla. Vasen etumainen laskeva sepelvaltimo sidottiin silkkilangalla 5 minuutin ajaksi, tämän jälkeen sidonta vapautettiin, veren annettiin virrata uudelleen ja eläimiä tarkkailtiin 10 minuutin ajan. Kammion rytmi-

häiriöiden esiintymistä tutkittiin jäsenen standardikytkentä-II-elektrokardiogrammien avulla.

Eläimille annettiin nukuttamattomina koelääkettä arabikumisuspensiona annoksen ollessa 30 mg/kg hetkellä noin 90 minuuttia ja 20 mg/kg hetkellä noin 45 minuuttia (kokonaismäärä: 50 mg/kg), tai annoksen ollessa 10 mg/kg kulloinkin (kokonaismäärä:20 mg/kg) hetkellä noin 90 minuuttia ja noin 45 minuuttia ennen kuin sepelvaltimo suljettiin. Tulokset on esitetty taulukossa 4 annoksen kokonaismäärän mukaan.

(ii) Tulokset

Kun viiden minuutin sulkemisen jälkeen annettiin veren uudelleen virrata vasemman etumaisen laskevan sepelvaltimon läpi, todettiin kammion rytmihäiriöitä, joita tyypillisesti osoittivat satunnaisesti tapahtuvat liian aikaiset kammion supistumiset (PVC), sydämen pikasykintää (VT) ja kammiovärinää (VF). VT ja VF toistuivat kohtauksittain tai jatkuva VF johti kuolemaan.

Ryhmässä, jossa eläimille oli annettu välitysainetta, todettiin VF ja VT enemmän kuin 90 %:ssa eläimistä ja kestoajat olivat vastaavasti noin 80 ja noin 20...30 s. Eläimistä noin 10...20 % kuoli jatkuvan VF:n johdosta.

Ryhmissä, jossa eläimille oli annettu 20 ja vastaavasti 50 mg/kg yhdistettä (1-12), mainittujen rytmihäiriöiden esiintyminen oli huomattavasti alentunut ja riippui annostuksesta. Myös kun rytmihäiriöitä esiintyi, symptomin kestoaika oli lyhyempi. Tämän johdosta VF:n aiheuttama kuolleisuus oli alhaisempi. Satunnaisten PVC-kohtausten tiheys oli noin 10 kertaa minuutissa niissä ryhmissä, jossa eläimille oli annettu välitysainetta, kun taas niissä ryhmissä, jossa eläimille oli annettu yhdistettä (1-12), tiheys oli vähemmän merkitsevä.

Toisaalta ei todettu merkitsevää vaikutusta annettaessa vitamiinia C tai E suun kautta annoksen ollessa 50 mg/kg.

Taulukko 4

Vaikutus kammion rytmihäiriöön, joka todettiin kun sallittiin reperfuusio rotan sydämen sepelvaltimon sulkemisen jälkeen.

	Kammiovärinä		Sydämen pikasykintä			
Ryhmä	Esiintymis-tiheys	Kesto	Esiintymis-tiheys	Kesto	Lisäsykäys	Kuolleisuus
Kontrolli	7/8(88)	83.9±27.5	7/8 (88)	31.8±15.0	10.8±3.5	2/8 (25)
Yhdiste (1-12)						
50mg/kg	2/9* (22)	1.2± 0.8**	2/9* (22)	3.2± 2.6*	1.1±0.3**	0/9 (0)
Kontrolli	16/18 (89)	74.2±30.8	17/18 (94)	26.5± 6.8	11.8±4.0	2/18(11)
Yhdiste (1-12)						
20mg/kg	9/17*(53)	31.0±28.2	11/17 (65)	10.2± 3.2*	3.3±0.8**	1/17(6)
Kontrolli	17/18 (94)	74.1±36.0	17/18 (94)	16.6± 4.4	7.3±1.7	3/18(17)
C-vitamiini						
50mg/kg	6/6 (100)	9.7± 2.5	6/ 6(100)	19.0± 3.0	5.1±1.0	0/ 6(0)
E-vitamiini						
50mg/kg	6/10 (60)	43.4±36.0	7/10 (70)	22.3± 9.7	7.0±4.1	1/10(10)

*:P<0,05, **:P<0,01, verrattuna kontrolliryhmään

Kammiovärinän (VF) ja sydämen pikasykinnän (VT) esiintymistiheys on esitetty prosenttiosuutena laskettuna symptomeja osoittavien eläinten lukumäärän suhteesta kokeessa mukana olleiden eläinten lukumäärään, ja symptomien kestoaika esitään keskiarvona ± standardipoikkeama sekunteina.

Lisäsykäys on esitetty sykäysten lukumääränä minuutissa, ja kuolleisuus on esitetty prosenttiosuutena verrattaessa kuolleiden eläinten lukumäärää kokeessa mukanaolleisiin eläimiin.

Koe-esimerkki 5

Molemminpuolisen yhteisen päänvaltimon sitomisesta johtuvan verettömyyskohtauksen estyminen SHR-rotissa

i) Menetelmä

Koiras-SHR-rottia (22 viikkoa vanhat, noin 360 g) käytettiin.

Kevyessä eetterinukutuksessa eläinten niska avattiin keskiviivalta ja niiden molemminpuoliset yhteiset päänvaltimot erotettiin, ja sidottiin aivon verettömyyden aiheuttamiseksi. Tämän jälkeen eläinten annettiin herätä nukutuksesta ja niiden käyttäytymistä seurattiin noin neljän tunnin ajan. Eläimille annettiin koelääkettä suun kautta arabikumiliuoksena 60 minuuttia ennen yhteisen päänvaltimon sitomista. Tulokset on esitetty taulukossa 5.

ii) Tulokset

Kun molemminpuoleiset yhteiset päänvaltimot sidottiin aivon verettömyystilan aiheuttamiseksi, todettiin kouristus, verettömyyden aiheuttama kohtaus, noin 150 minuutin jälkeen ryhmässä, jolle oli annettu välitysainetta. Kohtaus todettiin noin 90 %:ssa rotista 180 minuutin sisällä. Mutta ryhmässä, jolle oli annettu suun kautta yhdistettä (1-12) annoksen ollessa 100

mg/kg, kohtauksen esiintyminen oli merkitsevästi myöhästynyt noin 40 minuutilla. Kohtauksen esiintymistiheys 180 minuutin sisällä oli merkitsevästi estynyt 20 prosenttiin.

Taulukko 5

Aktiivisuus verettömyyden aiheuttaman kouristuskohtauksen estämiseksi, jollainen kohtaus todettiin, kun SHR-rottien molemminpuoliset yhteiset päänvaltimot sidottiin.

		Verettömyyden aiheuttama kouristuskohtaus	
Ryhmä	n	Aika (min)	Esiintymis-tiheys ⓐ
Välitysaine	41	151 4	36/41 (87.8%)
Yhdiste (1-12)	5	199 13*	1/5* (20 %)

Yhdiste (1-12): 100 mg/kg p.o.; Välitysaine: arabikumisuspensio

ⓐ : 180 min. sisällä

* : $P < 0.05$

Koe-esimerkki 6

Akuutti toksisuus hiirissä

(i) Menetelmä

Kokeessa käytettiin koiras-Crj-ICR-hiiriä (4 viikkoa vanhat, noin 21...26 g). Eläimet jaettiin ryhmiin, joissa kussakin oli 6 hiirtä ja niille annettiin suun kautta yhdistettä (1-12) annoksen ollessa 300 tai 1000 mg/kg. Tämän jälkeen ryhmiä pidettiin häkeissä ja niitä tarkkailtiin 24 tuntia. Koelääk-

keet oli suspendoitu arabikumiin, ja niiden annostustilavuus oli 0,1 ml/10 g.

(ii) Tulokset

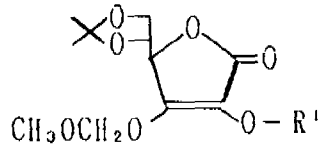
Molemmissa ryhmissä, jossa eläimille oli annettu yhdistettä (1-12) annoksina 300 ja 1000 mg/kg, eläinten levollisuutta ja laskeutumista tarkkailtiin mutta molemmat olivat palautuneet normaaliin kolmen tunnin sisällä. 24 tunnin tarkkailun aikana kummankaan ryhmän eläimistä ei mikään kuollut.

Viite-esimerkki 1

(1) L-askorbiinihappoasetonidia (42 g, 0,19 moolia) liuotettiin liuotinseokseen, jossa oli dimetyyliformamidia (100 ml) ja heksametyylifosforiamidia (100 ml), ja liuokseen lisättiin kaliumkarbonaattia (32 g, 0,23 moolia), jonka jälkeen jäädytettiin jäillä. Seokseen lisättiin liuosta, jossa oli kloorimetyyli-metyylieetteriä (18 g, 0,22 moolia) tetrahydrofuraanissa (25 ml), tipoittain 20 minuutin aikana. Seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 2,5 tuntia, jonka jälkeen reaktioseokseen lisättiin vettä (200 ml) ja sitten 2N suolahappoa lisättiin pH:n säätämiseksi arvoon 5,0, jota seurasi uuttaminen neljällä osuudella etyyliasetaattia. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, kuivattiin ja konsentroitiin alennetussa paineessa, ja jäännös saatettiin silikageelipylväskromatografointiin, jota seurasi eluutio isopropyylieetteri-etyyliasetaatilla (2:1). Eluaatti konsentroitiin ja jäännös kiteytettiin uudelleen samasta liuotinjärjestelmästä, jolloin saatiin L-5,6-O,O-isopropylideeni-3-O-metoksimetyyliaskorbiinihappoa (46 g).
S.p. 93...94 °C.
Alkuaineanalyysi $C_{11}H_{16}O_7$:lle
Laskettu: C, 50,84; H, 6,05%
Havaittu: C, 50,77; H, 6,20

(2) L-5,6-O,O-isopropylideeni-3-O-metoksimetyyliaskorbiinihappoa (1,84 g, 7,1 mmoolia) liuotettiin dimetyylisulfoksidiin (10 ml), ja liuokseen lisättiin oktadekyylijodidia (2,68 g) ja kaliumkarbonaattia (1,0 g) ja reaktion annettiin käydä 60 °C:ssa 6 tuntia. Reaktion käytyä loppuun reaktioseokseen lisättiin vettä (50 ml), jota seurasi reaktiotuotteen uuttaminen etyyliasetaatilla. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, kuivattiin ja konsentroitiin alennetussa paineessa, ja jäännös saatettiin silikageelipylväskromatografointiin, jota seurasi eluutio isopropyylieetterillä. Eluaatti konsentroitiin ja jäännös kiteytettiin uudelleen isopropyylieetteri-etyyliasetaatista, jolloin saatiin L-5,6-O,O-isopropylideeni-3-O-metoksimetyyli-2-O-oktadekyyliaskorbiinihappoa (Rl-11) (0,8 g). Yhdisteen fysikokemialliset ominaisuudet on esitetty taulukossa 6.

Samalla tavalla kuin viite-esimerkissä 1 valmistettiin taulukossa 6 esitetyt yhdisteet [(Rl-1)...(Rl-33)].



(5- ja 6-asemat muodostavat isopropylideenin)

Taulukko 6

Yhdiste	R¹ S.p.(℃)	NMR
R1-1	$-(CH_2)_5Me$ Öljy	0.87(3H,m),1.25(8H,m),1.34(3H,s), 1.37(3H,s),3.50(3H,s),4.09(5H,m), 4.51(1H,d,2Hz),5.40(2H,s)
R1-2	$-(CH_2)_7Me$ Öljy	0.85(3H,m),1.25(12H,s),1.34(3H,s), 1.37(3H,s),3.46(3H,s),4.12(5H,m), 4.56(1H,d,2Hz),5.46(2H,s)
R1-3	$-(CH_2)_8Me$ Öljy	0.85(3H,m),1.27(14H,m),1.33(3H,s), 1.36(3H,s),3.48(3H,s),4.12(5H,m), 4.57(1H,d,2Hz),5.45(2H,s)
R1-4	$-(CH_2)_{10}Me$ Öljy	0.87(3H,m),1.26(18H,m),1.33(3H,s), 1.37(3H,s),3.48(3H,s),4.12(5H,m), 4.56(1H,d,2Hz),5.46(2H,s)
R1-5	$-(CH_2)_{11}Me$ Öljy	0.85(3H,m),1.25(20H,m),1.34(3H,s), 1.37(3H,s),3.47(3H,s),4.12(5H,m), 4.55(1H,d,2Hz),5.46(2H,s)
R1-6	$-(CH_2)_{12}Me$ Öljy	0.86(3H,m),1.25(22H,m),1.34(3H,s), 1.37(3H,s),3.48(3H,s),4.13(5H,m), 4.56(1H,d,2Hz), 5.45(2H,s)

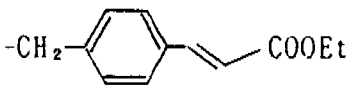
Taulukko 6 (jatkuu)

Yhdiste	R^1 S.p. (C°)	NMR
R1-7	$-(CH_2)_{13}Me$ Öljy	0.86(3H,m),1.25(24H,m),1.33(3H,s), 1.37(3H,s),3.45(3H,s),4.12(5H,m), 4.56(1H,d,2Hz),5.46(2H,s)
R1-8	$-(CH_2)_{14}Me$ Öljy	0.87(3H,m),1.24(26H,m),1.33(3H,m), 1.37(3H,s),3.49(3H,s),4.43(5H,m), 4.56(1H,d,2Hz),5.44(2H,s)
R1-9	$-(CH_2)_{15}Me$ 44-45	0.87(3H,m),1.25(28H,m),1.34(3H,s), 1.38(3H,s),3.50(3H,s),4.11(5H,m), 4.56(1H,d,2Hz),5.44(2H,s)
R1-10	$-(CH_2)_{16}Me$ Öljy	0.85(3H,m),1.26(30H,m),1.33(3H,s), 1.36(3H,s),3.47(3H,s),4.11(5H,m), 4.57(1H,d,2Hz),5.47(2H,s)
R1-11	$-(CH_2)_{17}Me$ 50-52	0.85(3H,m),1.25(32H,m),1.33(3H,s), 1.37(3H,s),3.50(3H,m),4.12(5H,m), 4.57(1H,d,2Hz),5.47(2H,s)
R1-12	$-(CH_2)_{19}Me$ 57-58	0.85(3H,m),1.25(36H,m),1.33(3H,s), 1.36(3H,s),3.47(3H,s),4.25(5H,m), 4.57(1H,d,2Hz),5.43(3H,s)
R1-13	$-(CH_2)_{10}COOMe$ Öljy	1.29(16H,m),2.30(2H,t,7Hz),3.51(3H, s),3.66(3H,s),4.11(3H,m),4.57(1H,d, 2Hz),5.45(2H,s)

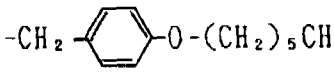
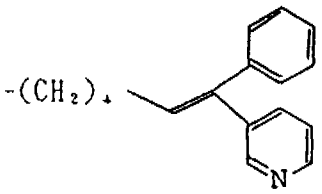
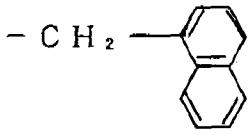
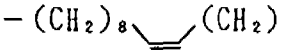
Taulukko 6 (jatkuu)

Yhdiste	R' ominaisuudet	NMR
R1-14	$-(CH_2)_9OH$ öljy	1.30(20H,m),3.50(3H,s),3.51(3H,m),4.03(5H,m),4.51(1H,d,2Hz),5.58(2H,s)
R1-15	-Bz öljy	1.34(3H,s),1.37(3H,s),3.38(3H,s),4.06(3H,m),4.50(1H,d,2Hz),5.05(2H,s),5.17(2H,s),7.20(5H,s)
R1-16	$-(CH_2)_3Ph$ öljy	1.31(3H,s),1.35(3H,s),1.97(2H,m),2.67(2H,m),3.42(3H,s),4.06(5H,m),4.50(1H,d,2Hz),5.36(2H,s),7.16(5H,m)
R1-17	4-Br-Bz öljy	1.34(3H,s),1.37(3H,s),3.46(3H,s),4.12(3H,m),4.58(1H,d,2Hz),5.09(2H,s),5.32(2H,s),7.31(2H,d,7Hz),7.50(2H,d,7Hz)
R1-18	4-Cl-Bz öljy	1.34(3H,s),1.38(3H,s),3.46(3H,s),4.14(3H,m),4.56(1H,d,2Hz),5.10(2H,s),5.31(2H,s),7.30(4H,s)
R1-19	4-Me-Bz öljy	1.34(3H,s),1.39(3H,s),2.33(3H,s),3.43(3H,s),4.10(3H,m),4.56(1H,d,2Hz),5.10(2H,s),5.26(2H,m),7.16(2H,d,8Hz),7.31(2H,d,8Hz)

Taulukko 6 (jatkuu)

Yhdiste	R' ominaisuudet	NMR
RI-20	3-Me-Bz öljy	1.34(3H,s),1.38(3H,s),2.34(3H,s),3.43(3H,s),4.11(3H,m),4.54(1H,d,2Hz),5.24(2H,s),5.24(2H,m),7.20(4H,m)
RI-21	4-iPr-Bz öljy	1.23(6H,d,7Hz),2.90(1H,hep,7Hz),3.42(3H,s),4.12(3H,m),4.56(1H,d,2Hz),5.10(2H,s),5.25(2H,m),7.29(4H,m)
RI-22	4-COOMe-Bz öljy	1.33(3H,s),1.37(3H,s),3.46(3H,s),3.90(3H,s),4.12(3H,m),4.57(1H,d,2Hz),5.19(2H,s),5.32(2H,s),7.49(2H,d,8Hz),8.04(2H,d,8Hz)
RI-23	 öljy	1.32(3H,t,7Hz),1.33(3H,s),1.37(3H,s),3.44(3H,s),4.10(3H,m),4.23(2H,q,7Hz),4.57(1H,d,2Hz),5.14(2H,s),5.31(2H,s),6.42(1H,d,16Hz),7.47(4H,m),7.67(1H,d,16Hz)
RI-24	$-CH_2CH(Ph)_2$ öljy	1.32(6H,s),2.46(2H,m),3.44(3H,s),4.06(6H,m),4.53(1H,d,2Hz),5.36(2H,s),7.25(10H,s)
RI-25	$-(CH_2)_8OBz$ öljy	1.34(12H,m),1.37(6H,s),3.46(2H,t,7Hz),3.49(3H,s),4.09(5H,m),4.48(2H,s),4.54(1H,d,2Hz),5.42(2H,s),7.31(5H,s)

Taulukko 6 (jatkuu)

Yhdiste	R^1 ominaisuudet	NMR
R1-26	$-CH_2$-sykloheksyyli Öljy	1.34(3H,s),1.38(3H,s),1.50(11H,m), 3.50(3H,s),4.12(5H,m),4.56(1H,d, 2Hz),5.43(2H,s)
R1-27	-fenasyyli Öljy	1.33(3H,s),1.37(3H,s),3.53(3H,s), 4.11(3H,m),4.61(1H,d,2Hz),5.54(2H, m),5.74(2H,m),7.53(3H,m),7.91(2H,m)
R1-28	 Öljy	0.88(3H,m),1.35(14H,m),3.40(3H,s), 3.91(3H,t,7Hz),4.08(3H,m),4.52(1H,d, 2Hz),5.01(2H,s),5.18(2H,s),6.80(2H, d,7Hz),7.27(2H,d,7Hz)
R1-29	 Öljy	1.36(3H,s),1.38(3H,s),1.66(6H,m), 2.18(2H,m),3.48(3H,s),4.18(7H,m), 4.55(1H,m),5.40(2H,s),6.11(1H,t), 7.38(7H,m),8.42(1H,m),8.50(1H,m)
R1-30	 Öljy	1.36(3H,s),1.44(3H,s),3.36(3H,s), 3.07(3H,m),4.51(1H,d),5.08(2H,s), 5.57(2H,s),7.45(7H,m)
R1-31	 Öljy	0.88(3H,m),1.30(22H,m),1.36(3H,s), 1.37(3H,s),2.00(4H,m),3.51(3H,m), 4.10(5H,m),4.57(1H,d),5.31(2H,m), 5.42(2H,s)

Taulukko 6 (jatkuu)

Yhdiste	R^1 ominaisuudet	NMR
R1-32	$-CH_2COOMe$	1.37(6H,s).3.52(3H,s).3.74(3H,s).
		4.12(3H,m).4.54(1H,d).4.75(2H,s).
	Öljy	5.49(1H,d).5.62(1H,d)
R1-33	$-(CH_2)_4COOMe$	1.37(6H,s).1.72(4H,m).2.35(2H,m).
		3.49(3H,s).3.65(3H,s).4.10(5H,m).
	Öljy	5.36(2H,s)

Bz:bentsyyli, Me:metyyli, Ph:fenyyli, iPr:isopropyyli, Et:etyyli

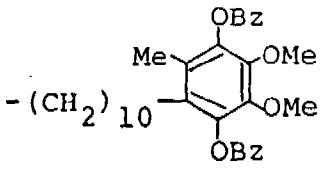
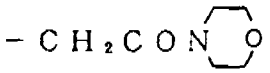
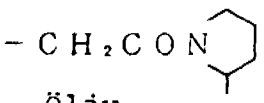
Viite-esimerkki 2

(1) L-askorbiinihappoasetonidia (21,6 g, 0,1 moolia) liuotettiin dimetyyliformamidiin (120 ml), ja liuosta jäähdytettiin jäillä. Liuokseen lisättiin kaliumkarbonaattia (14 g, 0,1 ml) ja perättäisesti bentsyylibromidia (11,2 ml), jonka jälkeen sekoitettiin huoneenlämpötilassa 20 tuntia. Reaktion käytyä loppuun reaktioliuokseen lisättiin vettä (100 ml). Seokseen lisättiin 2N suolahappoa pH:n säätämiseksi arvoon 5,0, jonka jälkeen uutettiin kahdella osuudella etyyliasetaattia. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, kuivattiin (magnesiumsulfaatin avulla) ja konsentroitiin alennetussa paineessa. Tuote saatettiin silikageelipylväskromatografointiin ja eluutio suoritettiin isopropyylieetteri-etyyliasetaatila (3:1). Eluaatti konsentroitiin, jonka jälkeen jäännös kiteytettiin uudelleen isopropyylieetteri-etyyliasetaatista, jolloin saatiin L-5,6-O,O-isopropylideeni-3-O-bentsyyliaskorbiinihappoa (13 g, 40%), S.p. 105-106 °C.

(2) L-5,6-O,O-isopropylideeni-3-O-bentsyyliaskorbiinihappoa (3,06 g, 0,01 moolia) liuotettiin liuotinseokseen, jossa oli dimetyylisulfoksidia (20 ml) ja tetrahydrofuraania (15 ml), ja liuokseen lisättiin kaliumkarbonaattia (1,5 g, 0,011 moolia). Tämän jälkeen seokseen lisättiin oktadekyylijodidia (3,83 g), jonka jälkeen sekoitettiin huoneenlämpötilassa 18 tuntia. Reaktion käytyä loppuun reaktioseokseen lisättiin vettä (100 ml), jonka jälkeen uutettiin etyyliasetaatilla. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, kuivattiin (magnesiumsulfaatin avulla) ja konsentroitiin alennetussa paineessa. Jäännös saatettiin silikageelipylväskromatografointiin, jonka jälkeen eluoitiin isopropyylieetteri-etyyliasetaatilla (10:1), jolloin saatiin L-5,6-O,O-isopropylideeni-3-O-bentsyyli-2-O-oktadekyyliaskorbiinihappoa (yhdiste (R2-7)) (3,8 g). Fysikokemialliset ominaisuudet on esitetty taulukossa 7.

Samalla menetelmällä kuin viite-esimerkissä 2 valmistettiin taulukossa 7 esitetyt yhdisteet [(R2-1)...(R2-12)].

Taulukko 7 (jatkuu)

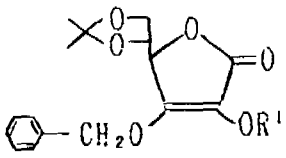
Yhdiste	R^1 S.p. (℃)	NMR
R2-6	$-(CH_2)_{16}Me$ Öljy	0.87(3H,m),1.25(28H,m),1.34(3H,s), 1.37(3H,s),4.08(5H,m),4.54(1H,d, 2Hz),5.46(2H,s),7.36(5H,s)
R2-7	$-(CH_2)_{17}Me$ 44-45	0.88(3H,m),1.26(32H,m),1.38(6H,s), 4.08(5H,m),4.51(1H,d,2Hz),5.43(2H, s),7.29(5H,s)
R2-8	$-(CH_2)_{19}Me$ 48-50	0.87(3H,m),1.24(36H,m),1.34(3H,s), 1.37(3H,s),4.06(5H,m),4.54(1H,d, 2Hz),5.46(2H,s),7.36(5H,s)
R2-9	$-(CH_2)_{21}Me$ 60-61	0.87(3H,m),1.24(40H,m),1.34(3H,s), 1.37(3H,s),4.08(5H,m),4.53(1H,d, 2Hz),5.45(2H,s),7.36(5H,s)
R2-10	 Öljy	1.26(16H,m),1.35(3H,s),1.37(3H,s), 2.14(3H,s),4.12(3H,m),4.51(1H,m), 4.81(2H,m),4.88(2H,s),4.95(2H,s), 7.30(15Hz),
R2-11	 Öljy	1.37(6H,s),3.65(8H,m),4.10(3H,m), 4.55(2H,m),4.81(2H,m),5.67(2H,s), 7.30(5H,s)
R2-12	 Öljy	1.32(3H,s),1.36(3H,s),2.04(3H,s), 3.60(3H,s),4.02(3H,m),4.23(3H,m), 4.53(3H,m),7.34(5H,m)

Viite-esimerkki 3

(1) L-5,6-O,O-isopropylideeni-3-O-bentsyyli-2-O-oktadekyyliaskorbiinihappoa (3,8 g) liuotettiin liuotinseokseen, jossa oli tetrahydrofuraania (40 ml) ja metanolia (10 ml), ja liuokseen lisättiin 2N suolahappoa, jonka jälkeen sekoitettiin 50 ^{O}C:ssa 24 tuntia. Reaktion käytyä loppuun reaktioliuos konsentroitiin alennetussa paineessa ja reaktiotuote uutettiin etyyliasetaatilla. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, kuivattiin ja konsentroitiin alennetussa paineessa ja jäännös kiteytettiin uudelleen isopropyylieetteri-etyyliasetaatista, jolloin saatiin 3-O-bentsyyli-2-O-oktadekyyliaskorbiinihappoa (yhdiste (R3-7)) (2,6 g).

Fysikokemialliset ominaisuudet on esitetty taulukossa 8.

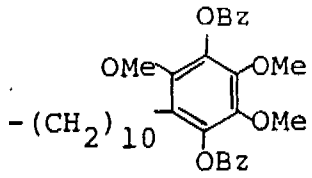
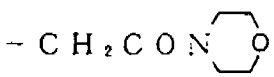
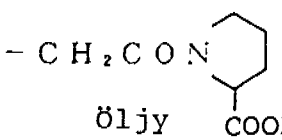
(2) Viite-esimerkissä 2 saatuja yhdisteitä käsiteltiin yllä-esitetyn menetelmän kanssa analogisella menetelmällä siten, että saatiin taulukossa 8 esiteyt yhdisteet [(R3-1)... (R3-12)].



Taulukko 8

Yhdiste	R^1 S.p. (℃)	NMR
R3-1	$-(CH_2)_7Me$ Öljy	0.87(3H,m),1.26(12H,m),4.00(5H,m), 4.66(1H,d,2Hz),5.45(2H,s),7.32(5H,s)
R3-2	$-(CH_2)_9Me$ Öljy	0.86(3H,m),1.25(16H,m),3.80(2H,m), 4.00(3H,m),4.68(1H,d,2Hz),5.46(2H, s),7.36(5H,s)
R3-3	$-(CH_2)_{13}Me$ 65-66	0.86(3H,m),1.25(24H,m),3.80(2H,m), 4.00(3H,m),4.68(1H,d,2Hz),5.47(2H, s),7.35(5H,s),
R3-4	$-(CH_2)_{14}Me$ 62-63	0.87(3H,m),1.23(26H,m),3.82(2H,m), 4.02(3H,m),4.68(1H,d,2Hz),5.47(2H, s),7.36(5H,s)
R3-5	$-(CH_2)_{15}Me$ 71-72	0.86(3H,m),1.25(28H,m),3.85(2H,m), 4.02(3H,m),4.69(1H,d,2Hz),5.47(2H, 7.37(5H,s)

Taulukko 8 (jatkuu)

Yhdiste	R' S.p. (℃)	NMR
R3-6	$-(CH_2)_{18}Me$ 57-58	0.88(3H,m),1.25(30H,m),3.79(2H,m),4.00(3H,m),4.67(1H,d,2Hz,),5.44(2H,s),7.33(5H,s)
R3-7	$-(CH_2)_{17}Me$ 75-76	0.87(3H,m),1.25(32H,m),3.80(2H,m),4.01(3H,m),4.68(1H,m),5.46(2H,s),7.34(5H,s)
R3-8	$-(CH_2)_{19}Me$ 77-78	0.86(3H,m),1.24(36H,m),4.00(5H,m),4.68(1H,m),5.46(2H,s),7.36(5H,s),
R3-9	$-(CH_2)_{21}Me$ 83-85	0.86(3H,m),1.25(40H,m),3.82(2H,m),4.02(3H,m),4.69(1H,d,2Hz),5.46(2H,s),7.36(5H,s)
R3-10	 Öljy	1.40(16H,m),2.13(3H,m),2.23(2H,m),3.91(6H,s),4.06(5H,m),4.90(2H,s),4.97(2H,m),5.57(2H,m),7.30(15H,m)
R3-11	 Öljy	3.37(4H,m),3.49(4H,m),3.90(2H,m),4.20(1H,m),4.79(2H,m),4.89(1H,d),5.56(1H,d),5.75(1H,d),7.40(5H,s)
R3-12	 Öljy	2.04(4H,m),3.49(2H,m),3.60(3H,s),4.02(3H,m),4.23(1H,m),4.53(3H,m),7.34(5H,s)

Viite-esimerkki 4

L-5,6-O,O-isopropylideeniaskorbiinihappoa (52 g, 0,24 moolia) liuotettiin tetrahydrofuraanin (200 ml) ja DMF:n (50 ml) seokseen. Reaktioseokseen lisättiin kaliumkarbonaattia (42 g, 0,3 moolia) ja seosta sekoitettiin 10 minuuttia huoneenlämpötilassa. Reaktioseokseen lisättiin kloorimetyylietyylieetteriä (27 ml, 0,3 moolia) viiden minuutin aikana pysyttäen lämpötila n. 20 °C:ssa jäähauteella. Reaktioseosta sekoitettiin neljä tuntia huoneenlämpötilassa, jonka jälkeen reaktioseos kaadettiin veteen (300 ml), sen pH säädettiin arvoon 8 lisäämällä 2N suolahappoa, jonka jälkeen uutettiin kahdesti (400 ml, 200 ml) etyyliasetaatilla. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, kuivattiin ja konsentroitiin alennetussa paineessa. Näin saatu raaka tuote puhdistettiin silikageelipylväskromatografoimalla (300 g, Merck Limited Art 7734, kehittävä liuotin; etyyliasetaatti:isopropyylieetteri=1:2), jonka jälkeen kiteytettiin uudelleen isopropyylieetteristä (kiteytyi jääkaapissa), jolloin saatiin 5,6-O,O-isopropylideeni-3-O-etoksimetyyli-(L)-askorbiinihappoa (40 g, 61%).

Viite-esimerkki 5

L-5,6-O,O-isopropylideeni-3-O-etoksimetyyliaskorbiinihappoa (13,6 g, 0,05 moolia) ja oktadekyylijodidia (20 g, 0,055 moolia) liuotettiin tetrahydrofuraanin (200 ml) ja DMSO:n (50 ml) seokseen ja reaktioseokseen lisättiin kaliumkarbonaattia (8 g, 0,06 moolia) sekoittaen huoneenlämpötilassa. Kun seosta oli sekoitettu 3 tuntia 50 °C:ssa, siihen lisättiin vettä (300 ml). Reaktioseoksen pH säädettiin arvoon 7 2N suolahapolla ja se uutettiin isopropyylieetterillä (600 ml). Orgaaninen kerros pestiin vedellä, kuivattiin ja konsentroitiin alennetussa paineessa. Näin saatu raaka tuote puhdistettiin silikageelipylväskromatografoimalla (300 g, kehittävä liuotin; isopropyylieetteri), jolloin saatiin 5,6-O,O-isopropylideeni-3-O-

etoksimetoksi-2-O-oktadekyyli-(L)-askorbiinihappoa (15 g, 57%). Tämä tuote ei muodostanut kiteitä huoneenlämpötilassa.

Viite-esimerkki 6

(1) Liuokseen, jossa oli 2-O-oktadekyyli-L-askorbiinihappoa (0,8 g, 2 mmoolia) kloroformissa (20 ml), lisättiin pyridiiniä (1 ml), jonka jälkeen liuokseen lisättiin tipoittain bentsoyylikloridia (0,28 g, 2 mmoolia) huoneenlämpötilassa. Reaktioseosta sekoitettiin tunnin ajan, jonka jälkeen siihen lisättiin 2N suolahappoa sen tekemiseksi happamaksi. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, ja kuivattiin (magnesiumsulfaatin avulla). Liuotin haihdutettiin pois ja jäännös kiteytettiin uudelleen isopropyylieetteri-etyyliasetaatista, jolloin saatiin 3-O-bentsoyyli-2-O-oktadekyyli-L-askorbiinihappoa (0,6 g, 49%), S.p. 68...69 °C.
$C_3H_{48}O_7$ (Havaittu: C, 69,94; H, 8,98%. Anal. Laskettu: C, 69,89; H, 9,08)

(2) Samalla menetelmällä kuin yllä 2-O-heksadekyyli-L-askorbiinihappo bentsyloitiin siten, että saatiin 3-O-bentsoyyli-2-O-heksadekyyli-L-askorbiinihappoa, S.p. 77...78 °C.
$C_{29}H_{44}O_7$ (Havaittu: C, 69,21; H, 8,82%. Anal. Laskettu: C, 69,02; H, 8,79).

Esimerkki 1

L-5,6-O,O-isopropylideeni-3-O-metoksimetyyli-2-O-oktadekyyliaskorbiinihappoa (1,2 g) liuotettiin metanolin (30 ml) ja tetrahydrofuraanin (10 ml) muodostamaan liuotinseokseen ja liuokseen lisättiin 2N suolahappoa (10 ml), jonka jälkeen sekoitettiin 50 °C:ssa 6 tuntia. Reaktioliuos konsentroitiin alennetussa paineessa ja reaktiotuote uutettiin etyyliasetaatilla. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, ja kuivattiin (magnesiumsulfaatin avulla) ja konsentroitiin alennetussa paineessa ja jäännös kiteytettiin uudelleen isopropyylieetteri-etyyliase-

taatista, jolloin saatiin 2-O-oktadekyyliaskorbiinihappoa (yhdiste (1-12)) (0,82 g). Tätä tuotetta saatiin myös L-5,6-O,O-isopropylideeni-3-O-etoksimetyyliaskorbiinihaposta yllä mainitulla hydrolyysillä. Fysikokemialliset ominaisuudet on esitetty taulukossa 9.

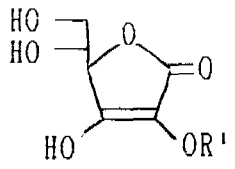
Esimerkki 2

3-O-bentsyyli-2-O-oktadekyyliaskorbiinihappoa (2,1 g) liuotettiin etyyliasetaattiin (25 ml) ja liuokseen lisättiin 5-prosenttista Pd-C (0,5 g) katalyyttisen pelkistyksen suorittamiseksi ilmakehän paineessa. Katalysaattori suodatettiin pois ja suodos konsentroitiin alennetussa paineessa. Reaktiotuote kiteytettiin uudelleen isopropyylieetteri-etyyliasetaatista, jolloin saatiin 2-O-oktadekyyliaskorbiinihappoa (yhdiste (1-12)) (1,5 g).

Fysikokemialliset ominaisuudet on esitetty taulukossa 9.

Esimerkki 3

Taulukossa 9 esitetyt yhdisteet [(1-1)...(1-38)] valmistettiin menetelmällä, joka vastaa ylläesitetyissä esimerkeissä 1...2 selitettyä menetelmää.



Taulukko 9

Yhdiste	R'	Valmistus vastaa esim. no.	S.p. (℃)	NMR
1-1	$-(CH_2)_5Me$	1	100-101	0.88(3H,m),1.32(8H,m),3.54(2H,m),3.89(3H,m),4.70(1H,d,1Hz)
1-2	$-(CH_2)_7Me$	1,2	115-117	0.84(3H,m),1.26(12H,m),3.53(2H,m),3.85(3H,m),4.70(1H,d,1Hz)
1-3	$-(CH_2)_8Me$	1,2	122-123	0.86(3H,m),1.25(14H,m),3.54(2H,m),3.87(3H,m),4.71(1H,d,1Hz)
1-4	$-(CH_2)_9Me$	2	118-120	0.85(3H,m),1.24(16H,m),3.43(2H,m),3.86(3H,m),4.72(1H,d,1Hz)
1-5	$-(CH_2)_{10}Me$	1	124-125	0.86(3H,m),1.24(18H,m),3.50(2H,m),3.87(3H,m),4.71(1H,d,1Hz)
1-6	$-(CH_2)_{11}Me$	1	127-128	0.85(3H,m),1.24(20H,m),3.53(2H,m),3.91(3H,m),4.72(1H,d,1Hz)

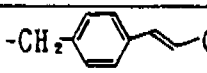
Taulukko 9 (jatkuu)

Yhdiste	R^1	Valmistus vastaa esim. no.	S.p. (℃)	NMR
1-7	$-(CH_2)_{12}Me$	1	129-130	0.85(3H,m),1.25(22H,m),3.52(2H,m),3.91(3H,m),4.72,(1H,d,1Hz)
1-8	$-(CH_2)_{13}Me$	1,2	126-127	0.85(3H,m),1.25(24H,m),3.51(2H,m),3.90(3H,m),4.74(1H,d,1Hz)
1-9	$-(CH_2)_{14}Me$	1,2	126-127	0.85(3H,m),1.26(26H,m),3.45(2H,m),3.86(3H,m),4.73(1H,d,1Hz)
1-10	$-(CH_2)_{15}Me$	1,2	128-129	0.86(3H,m),1.24(28H,m),3.59(2H,m),3.94(3H,m),4.75(1H,d,1Hz)
1-11	$-(CH_2)_{16}Me$	1,2	127-129	0.86(3H,m),1.27(30H,m),3.54(2H,m),3.86(3H,m),4.71(1H,d,1Hz)
1-12	$-(CH_2)_{17}Me$	1,2	127-128	0.85(3H,m),1.26(32H,m),3.51(2H,m),3.91(3H,m),4.75(1H,d,1Hz)
1-13	$-(CH_2)_{19}Me$	1,2	126-127	0.85(3H,m),1.23(36H,m),3.45(2H,m),3.86(3H,m),4.70(1H,d,1Hz)

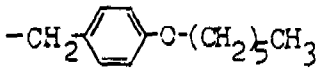
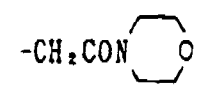
Taulukko 9 (jatkuu)

Yhdiste	R^1	Valmistus vastaa esim. no.	S.p. (℃)	NMR
1-14	$-(CH_2)_{21}Me$	1, 2	125-127	0.86(3H,m),1.24(40H,m), 3.46(2H,m),3.86(3H,m), 4.70(1H,s)
1-15	$-(CH_2)_{10}COOMe$	1	78- 79	1.26(16H,m),2.26(2H,t, 7Hz),3.45(2H,m),3.54(3 H,m),4.73(1H,s)
1-16	$-(CH_2)_9OH$	1	73- 74	1.30(16H,m),3.45(4H,m), 3.80(3H,m),4.73(1H,s)
1-17	-Bz	1	126-127	3.44(2H,m),3.78(1H,m), 4.74(1H,s),4.96(2H,s) 7.38(5H,m)
1-18	$-(CH_2)_3Ph$	1	107-108	1.92(2H,m),2.67(2H,m), 3.48(2H,m),3.77(1H,m), 3.92(2H,t,7Hz),4.77(1H, s),7.23(5H,m)
1-19	4-Br-Bz	1	184-185	3.45(3H,m),3.76(1H,m), 4.75(1H,s),4.92(2H,s) 7.36(2H,d,8Hz),7.54(2H, d,8Hz)
1-20	4-Cl-Bz	1	174-175	3.55(2H,m),3.84(1H,m), 4.75(1H,s),4.98(2H,s), 7.38(4H,m)

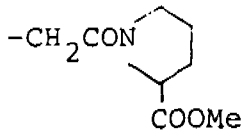
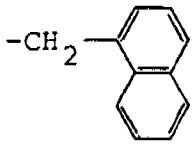
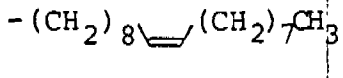
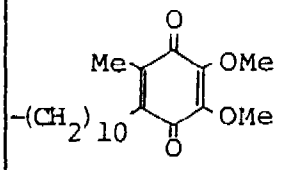
Taulukko 9 (jatkuu)

Yhdiste	R^1	Valmistus vastaa esim. no.	S.p. (℃)	NMR
1-21	4-Me-Bz	1	157-158	2.28(3H,s),3.45(2H,m),3.75(1H,m),4.73(1H,s),4.90(2H,s),7.14(2H,d,7Hz),7.31(2H,7Hz)
1-22	3-Me-Bz	1	92-93	2.30(3H,s),3.44(2H,m),3.77(1H,m),4.75(1H,d,1Hz),4.92(2H,s),7.20(4H,m)
1-23	4-iPr-Bz	1	118-119	1.20(6H,d,7Hz),3.87(1H,hep,7Hz),3.45(2H,m),3.76(1H,m),4.73(1H,s),4.71(2H,s),7.27(4H,m)
1-24	4-COOMe-Bz	1	171-172	3.44(2H,m),3.75(2H,m),3.84(3H,s),4.74(1H,s)5.03(2H,s),7.55(2H,d,7Hz),7.95(2H,d,7Hz)
1-25		1	158-160	1.28(3H,t,7Hz),3.46(2H,m),3.81(1H,m),4.22(2H,q,7Hz),4.78(1H,s),5.22,(2H,s),6.22(1H,d,16Hz),7.49(2H,d,8Hz),7.62(1H,d,16Hz),7.72(2H,m)

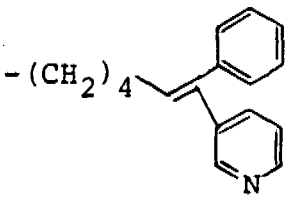
Taulukko 9 (jatkuu)

Yhdiste	R^1	Valmistus vastaa esim. no.	S.p. (°C)	NMR
1-26	$-(CH_2)_2CH(Ph)_2$	1	129-130	2.37(2H,m),3.45(2H,m), 3.78(3H,m),4.17(1H,t, 7Hz),4.74(1H,d,1Hz), 7.26(10H,m)
1-27	$-(CH_2)_8OCH_2Ph$	1	75- 76	1.29(12H,m),3.40(4H,m), 3.87(3H,),4.42(2H,s), 4.74(1H,s),7.29(5H,s)
1-28	$-CH_2$-sykloheksyyli	1	125-126	1.25(6H,m),1.63(7H,m), 3.37(2H,m),3.62(3H,s), 4.64(1H,s)
1-29	-fenasyyli	1	145-146	3.43(2H,m),3.78(1H,m), 4.76(1H,s),5.33(2H,s) 7.58(3H,m),7.89(2H,m)
1-30		1	133-134	0.88(3H,m),1.33(8H,m), 3.45(2H,m),3.73(1H,m), 3.93(2H,t,7Hz),4.72(1H, d,1Hz),4.86(2H,s),6.84 (2H,d,8Hz),7.32(2H,d, 8Hz)
1-31		2	Oil	3.56(11H,m),4.40(1H,m), 4.56(2H,m),4.64(1H,d, 2Hz)

Taulukko 9 (jatkuu)

Yhdiste	R'	Valmistus vastaa esim. no.	S.p. (℃)	NMR
1-32		2	Öljy	1.95(4H,m),3.44(5H,m),3.62(3H,s),4.35(1H,m),4.60(1H,m),4.74(1,d,2Hz)
1-33		1	Öljy	3.66(5H,m),4.74(1H,d,2Hz),5.40(2H,m),7.45(7H,m)
1-34		1	101-104	0.86(3H,m),1.25(22H,m),1.98(4H,m),2.80(5H,m),4.69(1H,d,2Hz),5.21(2H,t,6Hz)
1-35	$-CH_2COOCH_3$	1	Öljy	3.54(3H,m),3.65(3H,s),3.88(5H,m),4.67(1H,d,2Hz)
1-36	$-(CH_2)_4COOCH_3$	1	Öljy	1.70(4H,m),2.35(2H,m),3.65(3H,s),3.88(5H,m),4.67(1H,d,2Hz)
1-37		2	Öljy	1.28(16H,m),2.12(3H,s),2.57(2H,m),3.90(5H,m),3.85(6H,s)

Taulukko 9 (jatkuu)

Yhdiste	R'	Valmistus vastaa esim. no.	S.p. (°C)	NMR
1-38		1	Öljy	1.46(6H,m),2.10(2H.m), 3.80(5H,m),4.63(1H.d, 2Hz),6.10(1H,t,7Hz), 7.38(7H,m),8.45(2H,m)

Huomautettakoon, että yhdiste (1-37) valmistettiin hapettamalla esimerkin 2 mukaisen menetelmän kanssa analogisella menetelmällä valmistettu hydrokinoniyhdiste ferrikloridilla.

Esimerkki 4

(1) Liuokseen, jossa oli 2-oktadekyyli-L-askorbiinihappoa (0,8 g, 2 mmoolia) kloroformissa (20 ml), lisättiin pyridiiniä (1 ml) ja 4,4-dimetyyliaminopyridiiniä (0,1 g), jonka jälkeen liuokseen lisättiin asetyylikloridia (0,25 ml) huoneenlämpötilassa. Reaktioliuosta sekoitettiin 18 tuntia, jonka jälkeen orgaaninen kerros pestiin 2N suolahapolla, ja sitten pestiin vedellä ja kuivattiin. Liuotin haihdutettiin pois alennetussa paineessa ja jäännös kiteytettiin uudelleen isopropyylieetteri-etyyliasetaatista, jolloin saatiin 6-O-asetyyli-2-O-oktadekyyli-L-askorbiinihappoa (0,6 g, 65 %), S.p. 117...118 °C. $C_{26}H_{40}O_7$ (Havaittu: C, 66,24; H, 9,95%. Anal. Laskettu: C, 66,35; H, 9,85).

(2) Yllaesitetyn menettelyn kanssa analogisella menetelmällä 2-O-pentadekyyli-L-askorbiinihappo, 2-O-heksadekyyli-L-askorbiinihappo ja 2-O-oktadekyyli-L-askorbiinihappo asetyloitiin, bentsyloitiin, fenyyli-asetyloitiin ja sukkinyloitiin vastaavasti, jolloin saatiin seuraavia yhdisteitä.

(i) 6-O-asetyyli-2-O-pentadekyyli-L-askorbiinihappo, s.p. 112...113 °C. $C_{23}H_{40}O_7$ (Havaittu: C, 64,59; H, 9,48%. Anal. Laskettu: C, 64,46; H, 9,41)
(ii) 6-O-bentsoyyli-2-O-pentadekyyli-L-askorbiinihappo, s.p. 139...140 °C. $C_{28}H_{42}O_7$ (Havaittu: 68,36; H, 8,78%. Anal. Laskettu: C, 68,55; H, 8,63)
(iii) 6-O-fenyyliasetyyli-2-O-pentadekyyli-L-askorbiinihappo, s.p. 126...127 °C. $C_{29}H_{44}O_7$ (Havaittu: C, 68,79; H, 8,99%. Anal. laskettu: C, 69,02; H, 8,79)
(iv) 6-O-asetyyli-2-O-heksadekyyli-L-askorbiinihappo, s.p. 114...115 °C. $C_{24}H_{42}O_7$ (Havaittu: C, 65,02; H, 9,46%. Anal. Laskettu: C, 65,13; H, 9,56)
(v) 6-O-nikotynoyyli-2-O-oktadekyyli-L-askorbiinihapon hydrokloridi, s.p. 142...143 °C. $C_{34}H_{48}NO_7Cl$ (Havaittu: C, 66,49; H, 8,70; N, 2,20%. Anal. Laskettu: C, 66,06; H, 7,83; N, 2,27)
(vi) 6-O-(3-karboksipropionyyli)-2-O-tetradekyyli-L-askorbiinihappo, s.p. 155...156 °C. $C_{24}H_{40}O_9$ (Havaittu: 60,73; H, 8,66%. Anal. laskettu: C, 60,99; H, 8,53)
(vii) 6-O-(3-karboksipropionyyli)-2-O-pentadekyyli-L-askorbiinihappo, s.p. 156...157 °C. $C_{25}H_{42}O_9$ (Havaittu: 61,59; 8,87%. Anal. Laskettu: C. 61,71; H, 8,70)
(viii) 6-O-(3-karboksipropionyyli)-2-O-oktadekyyli-L-askorbiinihappo, s.p. 155...156 °C. $C_{28}H_{48}O_9$ (Havaittu: 63,49; H, 9,33%. Anal. Laskettu: C, 63,61, H, 9,15)

Esimerkki 5

Liuokseen, jossa oli 2-O-oktadekyyli-L-askorbiinihappoa (0,8 g, 2 mmoolia) kloroformissa (20 ml), lisättiin pyridiiniä (1 ml). Seokseen lisättiin tipoittain asetyylikloridia (0,25 ml) huoneenlämpötilassa. Reaktioliuosta sekoitettiin tunnin ajan jota seurasi pesu 2N suolahapolla. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, ja kuivattiin. Liuotin haihdutettiin pois alennetussa paineessa ja jäännös kiteytettiin uudelleen isopropyylieetteri-etyyliasetaatista, jolloin saatiin 3-O-asetyyli-2-O-oktadekyyli-L-askorbiinihappoa (0,8 g, 87%), S.p. 78...79 °C.

$C_{26}H_{46}O_7$ (Havaittu: C, 66,07; H, 9,80%. Anal. Laskettu: C, 66,35; H, 9,85).

Esimerkki 6

Liuokseen, jossa oli 2-O-oktadekyyli-L-askorbiinihappoa (0,8 g, 2 mmoolia) ja fenyyli-isosyanaattia (0,24 g, 2 mmoolia) kloroformissa (20 ml), lisättiin trikloorietikkahappoa (0,1 ml). Seosta kuumennettiin 60 °C:ssa tunnin ajan, pestiin vedellä ja kuivattiin ja konsentroitiin tuotteen saamiseksi. Tuote kiteytettiin uudelleen isopropyylieetteri-etyyliasetaatista, jolloin saatiin 6-O-fenyylikarbamoyyli-2-O-oktadekyyli-L-askorbiinihappo (0,75 g), S.p. 149...150 °C.
$C_{31}H_{49}NO_7$ (Havaittu: C, 68,14; H, 9,08; N, 2,74%. Anal. Laskettu: C, 67,98; H, 9,02; N, 2,56).

Esimerkki 7

1) Liuokseen, jossa oli natrium-D-isoaskorbaattia (120 g, 0,1 moolia) dimetyyliformamidissa (50 ml), lisättiin tipoittain bentsyylibromidia (12 ml). Seosta kuumennettiin 50 °C:ssa 4 tuntia. Reaktioliuokseen lisättiin vettä (100 ml). Tuote uutettiin etyyliasetaatilla. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, kuivattiin ja konsentroitiin. Tämän jälkeen raaka tuote saatettiin silikageelipylväskromatografointiin ja kehitettiin etyyliasetaatilla, jolloin saatiin 2-O-bentsyyli-D-isoaskorbiinihappoa (10 g, 37 %). Tämä bentsyyliyhdiste (10 g, 0,037 moolia) liuotettiin dimetyylisulfoksidin (40 ml) ja tetrahydrofuraanin (10 ml) seokseen. Liuoksen annettiin reagoida oktadekyylijodidin (14 g) kanssa kaliumkarbonaatin (5 g) läsnäollessa 50 °C:ssa 2 tuntia. Reaktiotuotteen jäähdyttyä siihen lisättiin vettä (100 ml) ja tuote uutettiin isopropyylieetterillä. Orgaaninen kerros pestiin vedellä, kuivattiin ja konsentroitiin alennetussa paineessa. Konsentraatti saatettiin silikageelipylväskromatografointiin, jonka jälkeen kehitettiin isopropyylieetteri-etyyliasetaatilla (1:1). Näin saadut raa´at

kiteet kiteytettiin uudelleen heksaani:isopropyylieetteristä (1:1), jolloin saatiin 2-O-oktadekyyli-3-O-bentsyyli-D-isoaskorbiinihappoa (5 g, 26 %), S.p. 62...63 °C. $C_{31}H_{50}O_8$ (Havaittu: C, 72,02; H, 9,67%. Anal. Laskettu: C, 71,78; H, 9,72)

2) 2-O-oktadekyyli-3-O-bentsyyli-D-isoaskorbiinihappoa (3 g, 6,7 mmoolia), jota saatiin kuten yllä, liuotettiin etanoliin (50 ml). Liuos saatettiin hydrogenointiin ilmakehän paineessa ja 5 % Pd-hiilen (0,2 g) läsnäollessa. 18 tuntia myöhemmin katalysaattori suodatettiin pois ja suodos konsentroitiin alennetussa paineessa. Konsentraatti kiteytettiin uudelleen etyyliasetaatista, jolloin saatiin 2-O-oktadekyyli-D-isoaskorbiinihappoa (2 g, 80%), S.p. 103...104 °C. $C_{24}H_{44}O_6$ (Havaittu: C, 67,45; H, 10,46%. Anal. Laskettu: C, 67,26; H, 10,35).

Esimerkki 8

Liuokseen, jossa oli 5,6-O,O-isopropylideeni-3-O-metoksimetyyli-2-O-oktadekyyli-L-askorbiinihappoa (5 g, 10 mmoolia) tetrahydrofuraanissa (20 ml), lisättiin 1,8-diatsabisyklo(5,4,0)-7-undekeeniä (3 ml). Seosta sekoitettiin 50 °C:ssa kahden tunnin ajan. Reaktioseokseen lisättiin jäähtymisen jälkeen etyyliasetaattia (40 ml). Seos pestiin kahdesti 2N suolahapolla ja tämän jälkeen vedellä, kuivattiin ja konsentroitiin alennetussa paineessa. Konsentraattia sekoitettiin 60 °C:ssa 6 tuntia etanolin (40 ml) ja 2N suolahapon (20 ml) seoksessa. Reaktioliuos konsentroitiin alennetussa paineessa ja tuote liuotettiin etyyliasetaattiin, pestiin vedellä, kuivattiin ja konsentroitiin. Näin saatu raaka jäännös kiteytettiin uudelleen isopropyylieetteristä, jolloin saatiin 2-O-oktadekyyli-5-dehydroksiaskorbiinihappoa (2 g, 51 %), S.p. 114...115 °C. $C_{24}H_{42}O_5$ (Havaittu: C, 70,24; H, 10,42%. Anal. Laskettu: C, 70,21; H, 10,31).

2-O-oktadekyyli-5-dehydroksiaskorbiinihappoa, (0,4 g, 1 mmoolia), jota saatiin kuten yllä, liuotettiin etanoliin (10 ml). Liuokseen lisättiin 5% Pd-hiiltä (0,2 g) ja seosta sekoitettiin vetyilmakehässä 4 tuntia normaalipaineessa. Reaktion kuluttua loppuun katalysaattori suodatettiin pois ja suodos konsentroitiin alennetussa paineessa. Konsentraatti kiteytettiin uudelleen isopropyylieetteri-heksaanista, jolloin saatiin haluttua d, l-2-O-oktadekyyli-5-deoksiaskorbiinihappoa (0,2 g), S.p. 83...84 °C.
$C_{24}H_{44}O_5$ (Havaittu: C, 69,33; H, 10,74%. Anal. Laskettu: C, 69,86; H, 10,75).

Esimerkki 9

Käyttämällä seuraavia aineosia valmistettiin tabletteja sinänsä tavanomaisilla välineillä.

Yhdiste (1-12)	
(Yhdiste (I) jossa	
$R^1=(CH_2)_{17}CH_3$	
R^2=OH, R^3=H)	50 mg
Maissitärkkelys	90 mg
Laktoosi	30 mg
Hydroksipropyyliselluloosa L	25 mg
Magnesiumstearaatti	5 mg
Yhteensä (tablettia kohden)	200 mg

Annostus on 1...3 tablettia/aikuinen kunkin aterian jälkeen (kolme kertaa/päivä)

Esimerkki 10

Käyttämällä seuraavia aineosia valmistettiin tabletteja sinänsä tavanomaisilla välineillä.

Yhdiste (1-9)	
(Yhdiste (I) jossa	
$R^1=(CH_2)_{14}CH_3$,	
R^2=OH, R^3=H)	60 mg
Maissitärkkelys	80 mg
Laktoosi	30 mg
Hydroksipropyyliselluloosa L	25 mg
Magnesiumstearaatti	5 mg
Yhteensä	200 mg

Annostus on 1...3 tablettia/aikuinen kunkin aterian jälkeen (kolme kertaa/päivä)

Esimerkki 11

(1) Liuokseen, jossa oli 2-O-oktadekyyli-L-askorbiinihappoa (0,8 g, 2 mmoolia) asetonissa (50 ml), lisättiin p-tolueenisulfonihappoa (50 mg). Seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 6 tuntia. Reaktioliuokseen lisättiin natriumvetykarbonaattia (100 mg), jonka jälkeen liuos konsentroitiin alennetussa paineessa. Näin saadut raa'at kiteet kiteytettiin uudelleen diisopropyylieetteristä (IPE), jolloin saatiin 2-O-oktadekyyli-5,6,-O,O-isopropylideeni-L-askorbiinihappoa (0,8 g, 91%), S.p. 81...82 °C.

(2) 2-O-dodekyyli-L-askorbiinihappo ja 2-O-heksadekyyli-L-askorbiinihappo saatettiin vastaavasti ylläesitetyn kanssa analogiseen reaktioon, jolloin saatiin vastaavasti allaesitetyt yhdisteet

(i) 2-O-dodekyyli-5,6-O,O-isopropylideeni-L-askorbiinihappo, S.p. 83...84 °C.

(ii) 2-O-heksadekyyli-5,6-O,O-isopropylideeni-L-askorbiinihappo, S.p. 85...86 °C.

Esimerkki 12

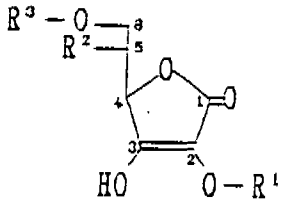
(1) Liuokseen, jossa oli 2-O-heksadekyyli-L-askorbiinihappoa (0,8 g, 2 mmoolia) ja sykloheksanonia (0,3 g) tolueenissa (50 ml), lisättiin p-tolueenisulfonihappoa (50 mg). Seosta palautusjäähdytettiin ja tällöin muodostunut vesi erotettiin. Reaktioliuoksen jäähdyttyä se pestiin natriumvetykarbonaatin kyllästetyllä vesiliuoksella, jonka jälkeen kuivattiin ja konsentroitiin alennetussa paineessa siten, että saatiin raakoja kiteitä, jotka kiteytettiin uudelleen IPE:stä, jolloin saatiin 2-O-heksadekyyli-5,6-O,O-sykloheksylideeni-L-askorbiinihappoa (0,6 g, 84%), S.p. 80...81 °C.

(2) 2-O-dodekyyli-L-askorbiinihappo saatettiin ylläesitetyn kanssa analogiseen reaktioon, jolloin saatiin seuraavaa yhdistettä.

(i) 2-O-dodekyyli-5,6-O,O-sykloheksylideeni-L-askorbiinihappoa, S.p. 85...86 °C.

Patenttivaatimus

Menetelmä farmaseuttisesti aktiivisen askorbiinihappojohdannaisen valmistamiseksi, jonka kaava (I) on



(I)

jossa kaavassa R_1 edustaa C_{6-22}-alkyyliä, joka on valinnaisesti substituoitu C_{1-4}-alkoksikarbonyylillä, hydroksilla, fenyyli-C_{1-4}-alkoksilla, 1,2-di-(C_{1-4}-alkoksi)-4-(C_{1-4}-alkyyli)-kinon-3-yylillä; C_{1-4}-alkyyliä, joka on substituoitu fenyylillä, halogeenifenyylillä, C_{1-4}-alkyyli-fenyylillä, C_{1-4}-alkoksikarbonyylifenyylillä, sykloheksyylillä, C_{4-10}-alkoksifenyylillä, morfolinokarbonyylillä, naftyylillä, 2-(C_{1-4}-alkoksikarbonyyli-pyrrolidino)-karbonyylillä, C_{1-4}-alkoksikarbonyylillä, fenyylikarbonyylillä, C_{1-4}-alkoksikarbonyyli-C_{2-4}-alkenyylifenyylillä; C_{6-20}-alkenyyliä, joka on valinnaisesti substituoitu fenyylillä tai pyridyylillä;

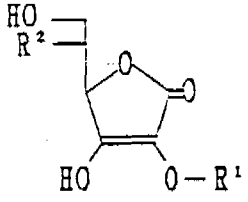
R_2 edustaa vetyä tai hydroksia, tai

R_2 ja R_3 muodostavat yhdessä C_{1-4}-alkylideeni- tai sykloheksylideeni-oksin, joka on liittynyt happiatomiensa kautta C-5-asemaan; ja

R_3 edustaa vetyä tai C_{1-4}-alkyylikarbonyyliä, joka on valinnaisesti substituoitu fenyylillä tai karboksilla; edelleen fenyylikarbonyyliä, nikotinoyyliä tai fenyyliaminokarbonyyliä,

t u n n e t t u siitä, että

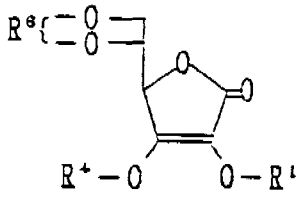
a) kaavan (IV)



(IV)

mukainen yhdiste, jossa kaavassa R^1 ja R^2 ovat kuten edellä määriteltiin, asyloidaan tai fosforyloidaan, ja asyloinnnin tapauksessa tätä seuraa tarvittaessa asyylimigraatio tai de-asylointi;

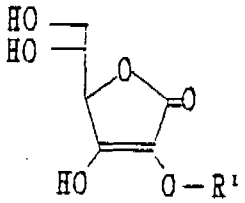
b) saatetaan kaavan (V)



(V)

mukainen yhdiste, jossa kaavassa R^1 on kuten edellä määriteltiin; R^4 on ryhmä, joka pystyy irtoamaan hydrolyysillä tai pelkistyksellä; ja R^6 on asetalijäännös, ketalijäännös tai ryhmä O=S<, vedenpoistoreaktioon ja sitten pelkistykseen, jota seuraa tarvittaessa hydrolyysi;

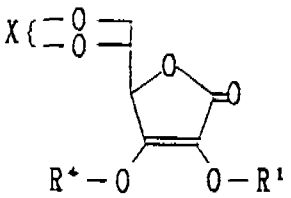
c) kaavan (Ia)



(Ia)

mukainen yhdiste, jossa kaavassa R^1 on kuten edellä määriteltiin, asetalisoidaan tai ketalisoidaan, tai

d) kaavan (III)



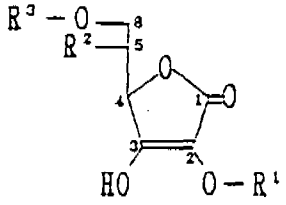
(III)

mukainen yhdiste, missä R^1 on kuten edellä määriteltiin; R^4 tarkoittaa hydrolyysillä tai pelkistyksellä lohkaistavissa olevaa ryhmää; ja X tarkoittaa kahta vetyä, asetalijäännöstä

tai ketalijäännöstä, hydrolysoidaan, mitä seuraa tarvittaessa pelkistys.

Patentkrav

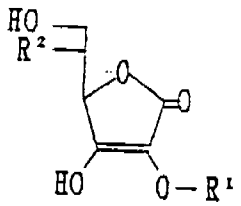
Förfarande för framställning av ett farmaceutiskt aktivt askorbinsyraderivat med formeln (I)



(I)

i vilken formel R_1 betecknar en C_{5-24}-alkyl, som är valbart substituerad med C_{1-4}-alkoxikarbonyl, hydroxi, fenyl-C_{1-4}-alkoxi, 1,2-di-(C_{1-4}-alkoxi)-4-(C_{1-4}-alkyl)-kinon-3-yl; en C_{1-4}-alkyl, som är substituerad med fenyl, halogenfenyl, C_{1-4}-alkyl-fenyl, C_{1-4}-alkoxikarbonylfenyl, cykloheksyl, C_{4-10}-alkoxifenyl, morfolinokarbonyl, naftyl, 2-(C_{1-4}-alkoxikarbonylpyrrolidino)-karbonyl, C_{1-4}-alkoxikarbonyl, fenylkarbonyl, C_{1-4}-alkoxikarbonyl-C_{2-4}-alkenylfenyl; en C_{6-20}-alkenyl, som är valbart substituerad med fenyl eller pyridyl;
R_2 representerar väte eller hydroxi, eller
R_2 och R_3 bildar tillsammans en C_{1-4}-alkyliden- eller cyklohexyliden-oxi, som via sin syreatom är bunden i C-5-ställning; och
R_3 representerar väte eller en C_{1-4}-alkylkarbonyl, som är valbart substituerad med fenyl eller karboxi; samt fenylkarbonyl, nikotinoyl eller fenylaminokarbonyl, k ä n n e t e c k n a t av att

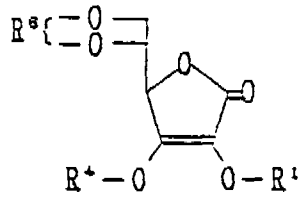
a) en förening med formeln (IV)



(IV)

där R^1 och R^2 är som ovan definierats, acyleras eller fosforyleras, varefter, ifall att en acylering utförs, vid behov följer acylmigration eller deacylering;

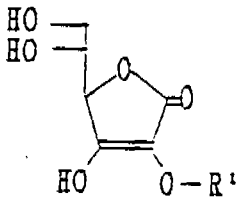
b) en förening med formeln (V)



(V)

där R^1 är som ovan definerats; R^4 är en grupp, som kan avlägsnas genom hydrolys eller reduktion; och R^6 är en acetalrest, ketalrest eller en grupp O=S<, dehydreras, sedan reduceras, varefter vid behov följer hydrolys;

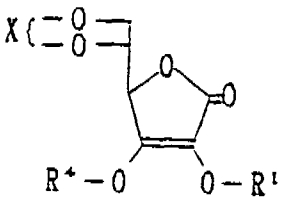
c) en förening med formeln (Ia)



(Ia)

där R^1 är som ovan definierats, acetaliseras eller ketaliseras; eller

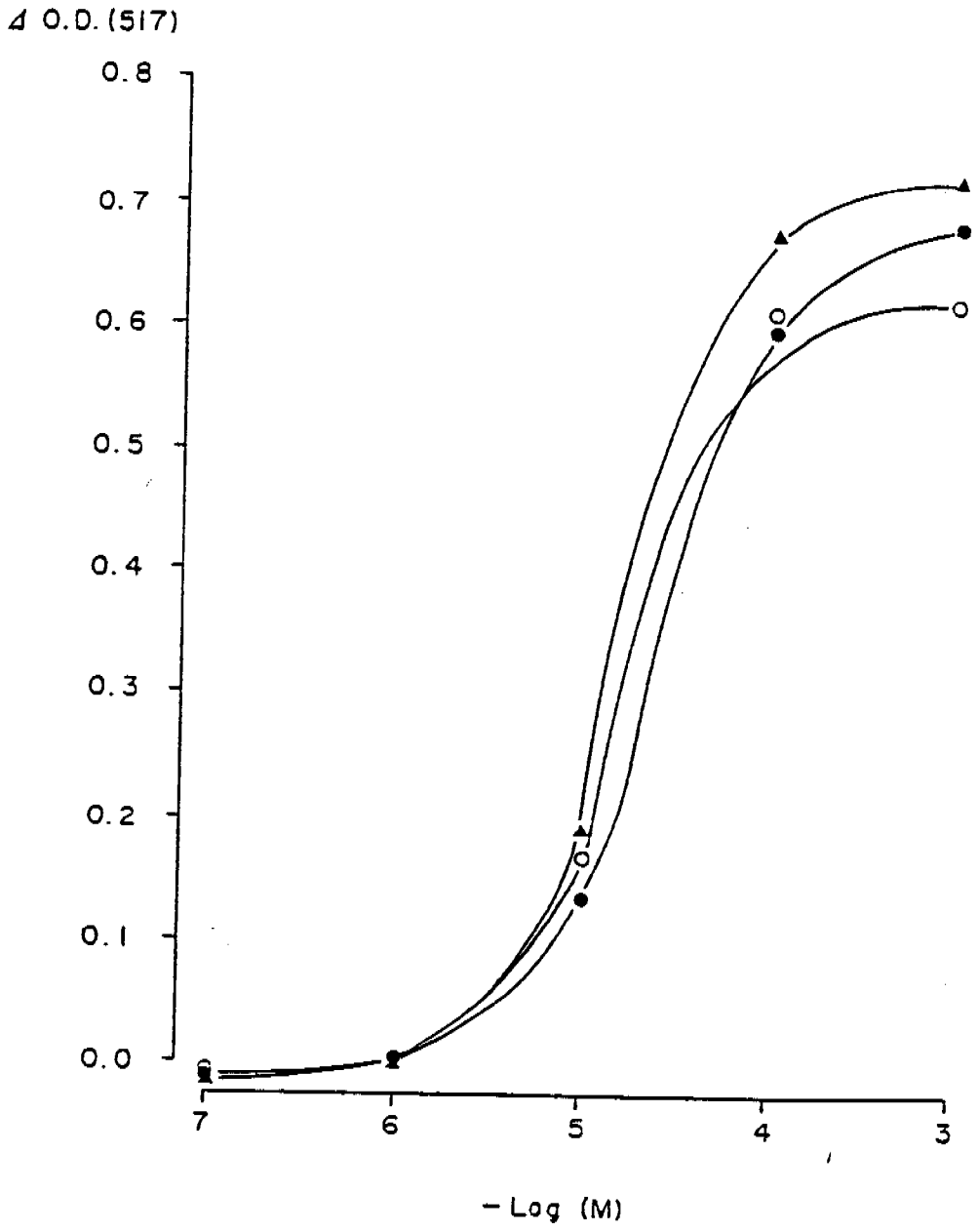
d) en förening med formeln (III)



(III)

där R^1 är som ovan definierats; R^4 betecknar en grupp som kan avspjälkas genom hydrolys eller reduktion; och X betecknar två väteatomer, en acetalrest eller en ketalrest, hydrolyseras, varefter vid behov följer reduktion.

Fig. 1



PATENTTI-JA REKISTERIHALLITUS
PATENTTIOSASTO

TUTKIMUSRAPORTTI

PATENTTIHAK.NRO	LUOKKA	TUTKIJA	TUTKIMUSTUL. SAATU
862029	C07D 307/68	PS	

TUTKITUT LUOKAT	TUTKITUT MAAT FI SE NO DK CH DE WO EP GB US	TUTK. KESK. *)

PATENTTIVIRASTOJEN JULKAISUT	LUOKKA	HUOM!
1) DE C 1468406	12 O 21 ?	
2) EP C 7095	A23 L 1/275	
3) FI A 821314	C07D 307/68	
4) FI A 851886	C07D 307/68	(FI C 86180)
5)		
6)		
7)		
8)		
9)		

*) TUTKIMUS KESKEYTETTY ESTEEN LÖYTYMISEN TAKIA

KÄÄNNÄ!

PATENTTIVIRASTOJEN JULKAISUT	LUOKKA	HUOM!
10)		
11)		
12)		
13)		
14)		
15)		
16)		
17)		
18)		
19)		

MUITA JULKAISUJA / ON-LINE TUTKIMUS, JOS TEHTY (TIETOKANTA, HAKUSANAT YM.)

HELSINKI 12.1.95

PÄIVÄYS

ALLEKIRJOITUS