

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

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

(10) **FI 853925 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **853925**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -  
International patent classification

C07F 9/65

C07F 9/60

C07F 9/09

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **09.10.1985**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **09.10.1985**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **11.04.1986**

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

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

10.10.1984 US 659249

18.07.1985 US 756368

15.08.1985 US 766116

(71) Hakija - Sökande - Applicant

**1 • Sandoz AG**, Lichtstrasse 35, 4056 Basel, SVEITSI, (CH)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

**1 • Jaeggi, Christian**, United States, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

**2 • Lee, Mark L.**, United States, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

**3 • Tomesch, John Charles**, United States, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

**Kolster Oy Ab**, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

**Substituoituja 2-furanyyli- tai 5-okso- 2-furanyyli-alkoksifosforyylialkyyliisoklimmonium-suoloja.**

**Substituerade 2-furanyl- eller 5-oxo- 2-furanyl-alkoxi-fosforylalkylcyklimmonium-salter.**



renkaista jokainen voi olla substituimaton tai joko mono-, di- tai tri-substituoitu  $C_{1-4}$ -alkyyllillä tai mono-substituoitu  $CF_3$ :lla, halogeenilla,  $COOH$ :lla tai  $COOCH_3$ :lla;

$Z^{\ominus}$  on farmaseuttisesti hyväksyttävä anioni;

5 m on 1 tai 2;

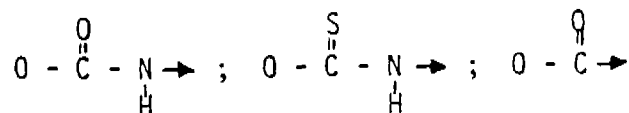
n on 1 tai 2;

p on 2-8; ja

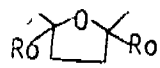
Y on  $\ominus$  ja q on 0; tai

y on H ja q on 1.

10 Kuten alaan perehtyneelle on selvää ja kuten on ilmeistä prosessiselityksestä tämän jälkeen, ryhmien Y liittymispiste viereiseen R-ryhmään on seuraava:



15

Kaavan I yhdisteet voidaan jakaa kolmeen alaluokkaan, nimittäin niihin, joissa T on  (Ia)

ja niihin, joissa T on  ja X on  $CH_2$  (Ib) tai X on  $\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}$  (Ic).

20

Edullisia alaluokan Ia yhdisteitä ovat ne, joissa R on  $n-C_{14-20}$ -alkyyli, alkenyyli tai alkynyyli tai  $C_{12-20}$ -alkoksialkyyli, fenyylit tai bentsyyli,

25 Y on  $CH_2$ ; 0;  $O - \overset{\overset{O}{\parallel}}{C} - \underset{\underset{H}{|}}{N}$ ;  $O - \overset{\overset{O}{\parallel}}{C} - O$ ;  $O - \overset{\overset{O}{\parallel}}{C}$ ,

30  on tiatsolium-, pyridinium-, pyridatsinium-, kinolinium- tai isokinolinium-rengas, joka on substituimaton tai joko mono-, di- tai trisubstituoitu  $C_{1-4}$ -alkyyllillä tai monosubstituoitu  $CF_3$ :llä, halogeenilla,  $COOH$ :llä tai  $COOCH_3$ :lla, p on 2-6, ja  $Ro'$ t, m, n, y, Z ja q tarkoittavat samaa kuin edellä (yhdisteet Ia").

35

Edullisempia alaluokan Ia yhdisteitä ovat ne, joissa

R on n-C<sub>16-20</sub>-alkyyli, alkenyyli tai alkynyyli tai C<sub>14-18</sub>-alkoksialkyyli, fenyyli tai bentsyyli,

5 Y on O,  $O - \overset{\overset{O}{\parallel}}{C} - \underset{\underset{H}{|}}{N}$ ,  $O - \overset{\overset{O}{\parallel}}{C} - O$  tai  $O - \overset{\overset{O}{\parallel}}{C}$

-N $\bigcirc$  on tiatsolinium-, pyridinium- tai kinolinium-rengas, joka on substituimaton tai joko mono-, di- tai trisubstituoitu C<sub>1-4</sub>-alkyyllillä tai monosubstituoitu CF<sub>3</sub>:lla, halogeenilla, COOH:lla tai COOCH<sub>3</sub>:lla,

10 p on 2-4,

ja Ro't, m, n, y, Z ja q tarkoittavat samaa kuin edellä (yhdisteet Ia"). Erityisen edullisia alaluokan Ia yhdisteitä ovat ne, joissa

15 R on n-C<sub>16-18</sub>-alkyyli, alkenyyli tai alkynyyli tai C<sub>14-18</sub>-alkoksialkyyli,

Y on O,  $O - \overset{\overset{O}{\parallel}}{C} - \underset{\underset{H}{|}}{N}$  tai  $O - \overset{\overset{O}{\parallel}}{C}$ ,

20 p on 2,

N $\bigcirc$  tarkoittaa samaa kuin Ia":lle,

ja Ro't, m, n, y, Z ja q tarkoittavat samaa kuin edellä (yhdisteet Ia").

25 Alaluokille Ib ja Ic vastaavat edulliset ryhmät ovat niitä, joissa

(i) R on n-C<sub>14-20</sub>-alkyyli, alkenyyli tai alkynyyli tai C<sub>12-20</sub>-alkoksialkyyli;

30 n on 1 ja muut substituentit ovat kuten Ia':lle esitettiin (yhdisteet Ib' ja Ic').

(ii) R on n-C<sub>16-20</sub>-alkyyli, alkenyyli tai alkynyyli tai C<sub>14-18</sub>-alkoksialkyyli;

n on 1 ja muut substituentit ovat kuten Ia":lle esitettiin (yhdisteet Ib" ja Ic").

(iii) R on n-C<sub>16-18</sub>-alkyyli, alkenyyli tai alkynyyli tai C<sub>14-18</sub>-alkoksiaalkyyli;  
n on 1 ja muut substituentit ovat kuten Ia''':lle esitettiin (yhdisteet Ib''' ja Ic''').

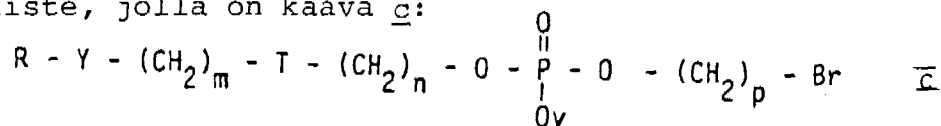
5 Vielä eräs ryhmä yhdisteitä kattaa ne alaluokat Ib ja Ic, joissa  
R on n-C<sub>12-20</sub>-alkyyli;  
X on CH<sub>2</sub> tai C=O;

10 Y on CH<sub>2</sub>, O tai  $\text{O}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{N}$ ;

y on  $\ominus$ ;

15  $\text{-N} \begin{array}{c} \diagup \\ \diagdown \end{array}$  on rengas, jolla on kaava  $\begin{array}{c} \text{N} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{R}_7 \quad \text{R}_8 \end{array}$ , jossa R<sub>7</sub> ja R<sub>8</sub> ovat it-  
senäisesti vety, C<sub>1-4</sub>-alkyyli tai CF<sub>3</sub>;  
m on 1 tai 2;  
n on 1;  
p on 2-4 ja q on 0 (yhdisteet 1p).

20 Keksinnön mukaisia yhdisteitä valmistetaan saattamalla yhdiste, jolla on kaava  $\bar{\text{C}}$ :



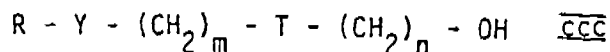
25 reagoimaan yhdisteen kanssa, jolla on kaava  $\underline{\underline{\text{C}}}$ :



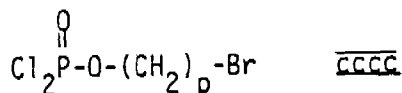
30 jossa R, Y, T, m, n, p ja y tarkoittavat samaa kuin edellä, ja ottamalla tuote talteen sisäisen suolan muodossa tai farma-  
seuttisesti hyväksyttävän happoadditiosuolan muodossa.

35 Reaktio saatetaan sopivasti tapahtumaan inertin liuot-  
timen, kuten aromaattisen hiilivedyn, esim. bentseenin tai to-  
luenin, alemman alkyylinitriilin, esim. asetonitriilin, tai  
polaarisen aproottisen liuottimen, esim. dimetyyliformamidin,  
läsnäollessa 50-100<sup>0</sup>:n lämpötilassa.  $\underline{\underline{\text{C}}}$ :n luonteen mukaan sitä  
voidaan käyttää sekä reagoivana aineena että liuottimena  
(esim. kun se on pyridiini).

Kaavan  $\bar{c}$  lähtöaine voidaan valmistaa saattamalla yhdiste, jolla on kaava  $\bar{ccc}$



5 reagoimaan yhdisteen kanssa, jolla on kaava  $\bar{cccc}$



Tämä reaktio saatetaan tapahtumaan tavanomaiseen tapaan  
esim. amiini-emäksen, kuten pyridiinin tai trietyyliamiinin  
10 läsnäollessa ja inertissä orgaanisessa liuottimessa, esim. aromaattisessa hiilivedyssä kuten tolueenissa, bentseenissä tai ksyleenissä, halogenoidussa alifaattisessa hiilivedyssä, kuten metyleenikloridissa, kloroformissa tai hiilitetrakloridissa, halogenoidussa aromaattisessa hiilivedyssä, esim. kloori-  
15 bentseenissä, tai eetterissä, kuten dietyylieetterissä. Reaktio voidaan saattaa tapahtumaan 20-70°C:n lämpötiloissa.

Näin valmistettu tuote saatetaan sitten emäksiseen hydrolyysiin, esim. suspendoimalla tuote veteen. Hydrolyysi toteutetaan sopivasti 20-100°C:n lämpötilassa.

20 Edellä esitetyt lähtöaineet ovat joko tunnettuja ja/tai niitä voidaan saada yhdenmukaisesti tunnettujen menetelmien kanssa tavanomaisella tavalla.

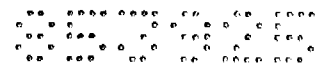
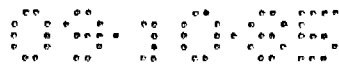
Lopputuotteet ja välituotteet voidaan eristää ja puhdistaa tavanomaiseen tapaan. Välituotteita, milloin on sopivaa, voidaan käyttää suoraan seuraavassa vaiheessa puhdistamatta.

Kuten alaan perehtyneille on selvää, kaavan I yhdisteet voivat esiintyä raseemisessa tai enantiomeeri-muodossa ja keksintö on tarkoitettu kattamaan kaikki muodot.

30 Enantiomeeri-muotoja voidaan ottaa talteen tavanomaiseen tapaan, esimerkiksi hajottamalla loppu- tai välituotteita tai käyttämällä optisesti aktiivisia lähtöaineita.

Nämä yhdisteet esiintyvät myös cis/trans-isomeerien muodossa, kun  $T =$





Esimerkkejä anioneista  $Z^{-}$ na ovat kloridi, bromidi, jodidi, fosfaatti, vetyfosfaatti, metafosfaatti, sulfaatti, vetysulfaatti ja perkloraatti.

5 Kaavan I yhdisteitä esitetään käytettäväksi verihiutale-aktivoimistekijän estoaineina, kuten on osoitettu niiden kyvylä estää verihiutale-aktivoimistekijän (PAF) aiheuttamaa ihmisen verihiutalekasautumista in vitro testin Platelet Aggregation Inhibition Assay (PAIA-testi) mukaisesti seuraavasti:

10 Ihmiskohteita pidetään aspiriini-vapaina yksi viikko ja ravinnotta yli yön. Runsaasti verihiutaleita sisältävää plasmaa (PRP) valmistetaan linkoamalla (200 x g) vastaotettua verta, joka on antikoaguloitu 0,38 %:lla natriumsitraattia (loppuväkevyys). Verihiutalelukema asetetaan 250.000:een/ $\mu$ l käyttäen niukasti verihiutaleita sisältävää plasmaa (PPP), jota on saatu verinäytteen toisella linkoamisella (700 x g).  
15 PRP:n tasaosa (0,38 ml) jaetaan kyvetteihin ja pidetään huoneen lämpötilassa (22°C) käyttöön asti (mutta ei pitempään kuin 2 tuntia). PRP-sisältäviä kyvettejä inkuboidaan 37°C:ssa ja sekoitetaan kierrosluvulla 900 r/min Payton Aggregometer-laitteessa, joka on aktivoitu seuraamaan valon taittumismallia ennen testiyhdisteen lisäämistä. Testiyhdiste (liuotettuna sopivaan liuotinseokseen, joka ei vaikuta verihiutalekasautumiseen) lisätään sitten PRP sisältävään kyvettiin määrässä, joka on riittävä antamaan loppuväkevyys 100  $\mu$ M. Yhden ja kahden minuutin välillä testiyhdisteen lisäämisen jälkeen kasautumista aiheuttavaa ainetta (C-16 PAF-Sandoz-Hanover), liuotettuna puskuriin, joka käsittää 0,01 M Tris-Tyrode'n puskuria, jossa on 0,25 % naudan seerumialbuminia (pH 7,4), lisätään PRP sisältäviin kyvetteihin määrässä, joka on ennalta  
25 määritetty antamaan yhtäpitävä kasautumisvaste (joko 0,1  $\mu$ M tai 0,01  $\mu$ M). Kaikkien kasautumisten annetaan jatkua 6 minuuttia indusoivan aineen lisäämisestä. Kasautumisvaste määritetään kvantitatiivisesti määrittämällä pinta-ala käyrän (AUC) alapuolella. Indusoivalle aineelle yksinään lasketun  
30 AUC:n katsotaan olevan 100 %. Kasautumisvasteen pontentiaali-

35

nen estymisprosentti määritetään jakamalla AUC, joka on kehittynyt yhdisteen läsnäollessa, indusoivan aineen yksinään AUC:llä, kertomalla 100:lla ja vähentämällä sitten 100:sta. Yhdisteet, jotka osoittavat yli 50 %:n estämistä 100  $\mu$ M:ssä, arvioidaan alemmissa väkevyyksissä kehittävän IC<sub>5</sub> (50 %:n estoväkevyyys)-arvon.

Lisäksi on havaittu, että kaavan I yhdisteet on esitetty käytettäväksi verihiutale-aktivoimistekijän reseptoriantagonisteina kuten osoitetaan niiden kyvyllä estää [<sup>3</sup>H]-PAF:n spesifinen sitoutuminen verihiutaleisiin testin Human Platelet PAF Reseptor Assay (Testi A) mukaisesti seuraavasti:

Ihmisverta saadaan laskimopistolla terveistä ihmisluovuttajista hyytymisenestoseokseen, joka sisältää 3,15 % trinitriumsitraattia ja 20  $\mu$ g/ml Prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI)<sub>2</sub> veren suhteessa hyytymisenestoaineeseen 9:1. Runsaasti verihiutaleita sisältävää plasmaa (PRP) valmistetaan linkoamalla (250 x g) verta 20 minuuttia huoneen lämpötilassa. PRP:tä lingotaan sitten (900 x g) 10 minuuttia huoneen lämpötilassa ja verihiutalepelletti pestään kaksi kertaa Tris-Tyrode'n (TT) liuoksella, jonka pH on 7,4 ja joka sisältää 0,25 % naudan seerumialbumiinia (BSA) ja johon on lisätty PGI<sub>2</sub> loppuväkevyydessä 0,3 g/ml. Verihiutaleet suspendoidaan uudelleen 350.000  $\mu$ l:ssä TT/BSA:han, joka sisältää 1,4 mM CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O ja 0,7 mM MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O. Kaikki nämä testit suoritetaan kaksinkertaisina ja jokainen testiyhdisteistä arvioidaan väkevyyksissä 100, 50, 1 ja 0,1  $\mu$ M. Jokaista määrittystä varten sekoitetaan seuraavat liuokset:

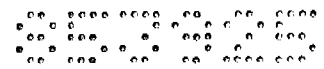
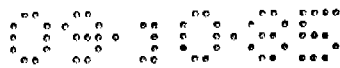
500  $\mu$ l edellä selostettuja verihiutaleita;  
 10  $\mu$ l [<sup>3</sup>H]-PAF (40.000 lukemaa/minuutti (cpm) lopulliseen väkevyyteen 1,5  $\mu$ M); ja  
 joko  
 10  $\mu$ l testiyhdistettä 50x halutussa loppuväkevyydessä,  
 10  $\mu$ l kanninta (sitoutunut täydellisesti), tai  
 10  $\mu$ l 1,85 x 10<sup>-5</sup> M kylmää PAF (ei-spesifisesti sitoutunut).



Jokaisen seoksen annetaan inkuboitua huoneen lämpötilassa yksi tunti, jonka ajan jälkeen reaktio lopetetaan lisäämällä 500  $\mu$ l jääkylmää TT/BSA ja linkoamalla (900 x g) 4°C:ssa 10 minuuttia. Saatu päällä oleva neste imetään tuikepulloihin ja pelletti pestään 250 ml:lla jääkylmää TT/BSA ja lingotaan (900 x g) 4°C:ssa 10 minuuttia. Päällä olevat nesteet imetään samoihin tuikepulloihin kuin edellä ja lisätään 10 ml Scintiverse II (nestemäinen tuike"cocktail") ja sekoitetaan sen kanssa. Pelletit suspendoidaan uudelleen 500  $\mu$ l:aan Scintiverse II ja sekoitetaan hyvin. Sitten pulloihin lisätään vielä ylimääräisesti 2 ml Scintiverse II ja, sekoittamisen jälkeen, pulloja lasketaan 1 minuutti nestetuike-spektrometrissä. Spesifisen sitoutumisen määrä lasketaan erotuksena cpm:ssä yhteensä sitoutuneen  $^3\text{H}$ -PAF:n ja ei-spesifisesti sitoutuneen  $^3\text{H}$ -PAF:n välillä. Spesifisen sitoutumisen estoprosentti määritetään jakamalla spesifisesti sitoutunut cpm testiyhdisteen läsnäollessa spesifisesti sitoutuneella cpm:llä yhteensä, kertomalla 100:lla ja vähentämällä 100:sta.  $\text{IC}_{50}$  (50 %:nen estoväkevyys)-arvo kehitetään arvioimalla testiyhdiste koko väkevyysalueella.

Lisäksi, ottaen huomioon niiden potentiaalin PAF-reseptoriantagonisteina, kaavan I yhdisteitä esitetään käytettäväiksi PAF:n välittämän keuhkoputken kuristuman estoaineina, mikä ominaisuus arvioitiin PAF:n indusoimalla Pulmonary Inflation Pressure (PIP) Increase-testillä (Testi B) seuraavasti:

Urospuolisia marsuja, jotka painavat 300:n ja 400 g:n välillä, nukutetaan, minkä ajan jälkeen asetetaan henkitorviputki, yhteisen päänvaltimon ja kaula-katetrit. Testieläintä pakkotuuletetaan sitten käyttäen pientä Harvard eläinhengityskojetta ja vastus keuhkon puhalluslaajennusta (PIP) vastaan mitataan käyttäen paineanturia ja muistiintallentajaa. Testiyhdiste annetaan joko suun kautta 30 minuuttia ennen tai laskimonsisäisesti (kaula) 5 minuuttia ennen PAF:n tuomista. PAF ( $\text{C}_{18}$ -Sandoz, Hanover) liuotetaan Tris-Tyrode'n naudan seerumi-albumiini-puskuriin ja annetaan laskimonsisäisesti (kaula) an-



noksena 100 ng/kg. Kaikki otetut verenpainemittaukset merkitään muistiin yhteiseen päänvaltimokatetriin liitetystä anturista. PIP-tallennuksissa havaitaan kaksi vastetta PAF:n antamisen jälkeen: 1) välitön vaste, joka, ainoastaan PAF:llä käsitellyissä testieläimissä, on keskimäärin 70-80 % enemmän kuin perusviivan PIP-arvot. (Tämä varhaisvaste on myös suurin vaste ja on sentähden nimetty maksimaaliseksi PIP:ksi); ja (2) pitkäaikainen (vähintään 30 minuuttia) PIP-vaste, joka hitaasti alenee perusviivalle. 15 minuuttia PAF:n antamisen jälkeen otettua lukemaa nimitetään päätepieste-PIP:ksi. Testi-yhdisteen vaikutus PIP-vasteeseen määritetään erotuksella prosentuaalisen kasvun maksimaalisessa PIP:ssa yli perusviivan testieläimelle, jolle on annettu PAF, ja testiyhdisteen välillä verrattuna testieläimeen, jolle ainoastaan PAF on annettu.

Vielä edelleen, kaavan I yhdisteitä on esitetty käytettäväksi estoaaineina PAF:n välittämälle verenpurkaumalle (plasman ulostunkeutumiselle verisuonten onteloista suonen seinään ja ympäröiviin kudoksiin) mitattuna hemokonsentraation funktiona PAF-induced Extravasationtest'in (Testi C) mukaisesti seuraavasti:

Urospuolisia marsuja, jotka painavat 300-400 g, nukutetaan, minkä ajan jälkeen asetetaan reisikatetri. Testiyhdistettä annetaan valtimonsisäisesti 1-5 minuuttia ennen PAF:n tuomista. PAF (C<sub>18</sub>-Sandoz, Hanover) liuotetaan Tris-Tyrode'n naudan seerumialbumiinipuskuriin ja annetaan laskimonsisäisesti (kaula) määrässä 100 ng/kg.

Verisolujen tilavuusarvon määrittämiseksi, jota käytetään osoittamaan hemokonsentraatiota ja joka määritellään pakkaantuneiden punaisten verisolujen prosenttina verinäytteessä, jota lingotaan plasman erottamiseksi solukomponenteista, kerätään verinäytteitä 50 µl:n heparinoituihin verisolujen tilavuudenmittausputkiin. Nämä näytteet otetaan juuri ennen PAF:n injektointia, minuutin kuluttua PAF:n injektomisesta ja joka kahden minuutin kuluttua sen jälkeen kunnes

15 minuuttia on kulunut PAF:n injektoimisesta. Putkia lingo-  
taan sitten ja pakkautuneiden punaisten verisolujen (veriso-  
lujen tilavuusarvo) prosentti mitataan (PAF aiheuttaa maksii-  
maalisen lisäyksen verisolujen tilavuusarvossa 5-7 minuuttia  
5 PAF:n injektoimisen jälkeen). Lisäysprosentti verisolujen ti-  
lavuusarvossa verrattuna arvoon ennen PAF:n injektoimista las-  
ketaan. Testiyhdisteellä saatuja verisolujen tilavuusarvoja  
verrataan hemokonsentraatio-arvoihin, jotka on saatu PAF:llä  
yksinään ja ilmaistaan lisäysprosentin estoprocenttina veriso-  
10 lujen tilavuusarvossa.

Vielä edelleen kaavan I yhdisteitä on esitetty käytettä-  
viksi PAF-indusoidun matalan verenpaineen estoaineena mitattui-  
na niiden kyvyllä estää PAF:lla aiheutettu verenpainetasojen  
aleneminen seuraavan testin mukaisesti (Testi D):

15 Urospuolisia Wistar-rottia, jotka painavat n. 300 g,  
nukutetaan ja niiden yhteiset päänvaltimot kanyloidaan teke-  
mään mahdolliseksi niiden diastolisen ja systolisen valtimove-  
renpaineen mittausten tallentaminen. PAF annetaan sitten laski-  
monsisisäisesti annoksessa joko 100 tai 500 ng/kg ja verenpaineen  
20 aleneminen (10 sekunnissa) ja elpymisaika, joka vaaditaan saa-  
vuttamaan ruisketta edeltävä verenpainetaso, mitataan. Annok-  
sella 100 ng/kg havaitaan 30 %:n aleneminen verenpaineessa ja  
3-4 minuutin elpymisaika, kun taas annoksella 500 ng/kg havai-  
taan 52 %:n aleneminen verenpaineessa ja 10 minuutin elpymis-  
25 aika. Jonkun yhdisteen tehokkuuden mittaamiseksi sekä veren-  
paineen alentumisen estämiseksi ja elpymisajan lyhentämisek-  
si testi-yhdistettä annetaan laskimonsisisäisesti viiden ja seit-  
semän annostason alueella (1 tai 2 testieläintä annosta kohti)  
ja 1 ja 5 minuuttia ennen PAF:n tuomista ED<sub>50</sub>:n kehittämiseksi.

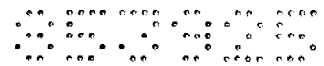
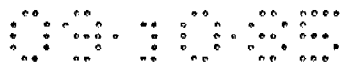
30 Vieläkin edelleen kaavan I yhdisteitä esitetään käytet-  
täviksi estoaineina PAF:lla aiheutetulle verettömälle suolikuo-  
liolle, joka ominaisuus mitattiin seuraavan testin mukaisesti  
(Testi E):

Seuraten olennaisesti F. GONzalez-Crussi'n ja  
35 W. Hsueh'in menetelmää, joka on julkaistu julkaisussa J. Amer.

Pathol., 112, sivut 127-135 (1983), urospuolisia Sprague-Dawley-rottia, jotka painavat n. 260-300 g, nukutetaan ja niiden yhteiset päänvaltimot kanyloidaan ja yhdistetään verenpaineanturiin ja tallentajaan. Testiyhdiste viedään kanyyliin, joka on pistetty kaulasuoneen, ajankohtana 10 minuuttia ennen PAF:n antamista. Vatsa avataan sitten pitkin keskivivaa ja 2  $\mu$ g PAF tai 20  $\mu$ g LPS (lipopolysakkaridia) mitä seuraa välittömästi 1  $\mu$ g PAF, injektoidaan sitten vatsa-aorttaan munuaisvaltimon tasolla. Mahaviilto peitetään sitten suolaliuoksella kostutetulla harsolla ja suoli paljastetaan ja tutkitaan jaksottain 2-3 tuntiin asti ennen eläimen lopettamista. Kaulasuoneen injektoidaan sitten 5 ml 2-%:sta Evans Blue'ta suoliperfuusio-asteen arvioimiseksi. Palasia suolikudoksesta otetaan sitten mikroskooppitutkimusta varten sekä kuolion ulottuvuuden määrittämiseksi että kuolion poissaolon vahvistamiseksi, kun se on estynyt testiyhdisteen vaikutuksesta. Mikroskooppiset muutokset suolessa arvioidaan hematoksyliini- ja eosinivärjäyksellä. Testi-yhdiste arvioidaan kykynsä suhteen lievittää tai estää suurten ja mikroskooppisten vammautumien kehityminen ja voidaan ilmaista eläinten lukumääränä, joissa estymistä havaitaan suhteessa kontrolliin (joka on otettu olemaan 100 %).

Näitä yhdisteitä on siten esitetty käytettäväksi PAF:n estämisessä tai vastustamisessa ja esitetty sopiva päivittäinen annos tähän käyttöön on n. 1-500 mg, edullisesti 1-50 mg sopivasti annettuna jaettuina annoksina 0,25 - 500 mg, edullisesti 0,25 - 50 mg yksi-neljä kertaa päivässä tai säädetysissä vapautumismuodossa. Tyypillinen annos suun kautta on 5 mg kolme kertaa päivässä.

Näitä yhdisteitä on edelleen esitetty käytettäväksi hoidettaessa PAF:n välittämää keuhkoputken kuristumista ja verenpurkaumaa, PAF:n aiheuttamaa matalaa verenpainetta ja veretöntä suolitautia ja esitetty sopiva päivittäinen annos tähän käyttöön on n. 10-2000 mg, edullisesti 10-350 mg sopivasti annettuna jaettuina annoksina 0,25 - 500 mg (erityises-



ti 0,25 - 350 mg) yksi-neljä kertaa päivässä tai säädetyssä vapautumismuodossa. Tyypillinen suun kautta annettava annos on 50 tai 100 mg kaksi tai kolme kertaa päivässä.

5       Keksinnön kohteena on siten myös menetelmä verihiutale-  
aktivoimistekijän estämiseksi ja vastustamiseksi ja verihiutale-  
aktivoimistekijän välittämän keuhkoputken kuristuman ja veren-  
purkauman, verihiutale-aktivoimistekijän aiheuttaman matalan  
10       verenpaineen ja verettömän suolitaudin hoitamiseksi, jonka me-  
netelmän mukaisesti kohteelle, joka on tällaisen hoidon tar-  
peessa, annetaan kaavan I yhdistettä, sekä myös yhdisteitä käy-  
tettäviksi farmaseuttisina aineina, esim. verihiutale-aktivoi-  
mistekijän estämisessä tai vastustamisessa ja verihiutale-akti-  
voimistekijän välittämän keuhkoputken kuristuman ja verenpur-  
15       kauman, verihiutale-aktivoimistekijän aiheuttaman matalan ve-  
renpaineen ja verettömän suolitaudin hoidossa.

      Näitä yhdisteitä voidaan antaa yksinään tai sekoitettui-  
na farmaseuttisesti hyväksyttävän jatkoaineen tai kantimen kans-  
sa ja valinnaisesti muiden täyteaineiden kanssa ja antaa suun  
kautta sellaisissa muodoissa kuten tabletteina, dispergoituvi-  
20       na jauheina, rakeina, eliksiireinä, kapseleina tai suspensioi-  
na tai ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti sellaisissa muodois-  
sa kuin steriileinä injektoitavina liuoksina tai suspensioina.

      Edullisia farmaseuttisia yhdistelmiä valmistuksen ja  
antamisen helppouden kannalta ovat kiinteät yhdistelmät, eri-  
25       tyisesti tabletit ja kovatäytteiset tai nestetäytteiset kap-  
selit.

      Tällaiset yhdistelmät ovat myös osa tätä keksintöä.

      Seuraavat esimerkit, joissa kaikki lämpötilat ovat  
C-asteissa, valaisevat keksintöä.

Esimerkki 1

3-{2-[(2-Oktadekyylioksi)etyyli-5-okso-tetrahydrofuran-2-yyli]metoksihydroksifosfinyylioksi-etaani}tiatsoliumhydroksidi-sisäinen suola-4-oksidi

5

$R = C_{18}H_{37}$ ,  $\gamma = 0$ ,  $m = 2$ ,  $x = \overset{O}{\parallel}C$ ,  $y = \ominus$ ,  $n = 2$ ;  $N \text{ (in a circle)} = \text{tiatsolium}$ ;  
 $p = 0$

a) 1-Bentsyylioksi-4-oktadekyylioksi-butan-2-olin valmistus

10

12,0 g:aan 60-%:sta natriumhydridiä mineraaliöljyssä (30 mmol) (pesty vapaaksi öljystä käyttämällä petrolieetteriä) lisättiin 32,4 g (0,3 mol) bentsyylialkoholia 200 ml:ssa kuivaa dimetyyliformamidia. Suspensio kuumennettiin typpivirrassa 80<sup>o</sup>:seen ja pidettiin tässä lämpötilassa 45 minuuttia, jonka ajan jälkeen lisättiin 66,1 g (0,19 mol) epoksidia (valmistettu oktadekyyli-3-butenyylietterin perhappo-hapetuksella) 100 ml:ssa dimetyyliformamidia ja lämpötila pidettiin 80<sup>o</sup>C:ssa 15 tuntia. Liuotin poistettiin tyhjössä ja jäännös kromatografoitiin piihappogeelillä käyttäen petrolieetterin ja dietyylietterin seosta suhteessa 3:2 eluenttina antamaan vahamainen kiinteä aine.

15

20

b) 1-Bentsyylioksi-4-oktadekyylioksi-2-butanonin valmistus

25

Kompleksiin, joka oli valmistettu -60<sup>o</sup>:ssa lisäämällä 10,4 ml kuivaa dimetyylisulfoksidia 8,9 g:aan (70 mmol) oksalyylikloridia 150 ml:ssa metyleenikloridia, lisättiin tiputtaen 27,7 g (62,2 mmol) edellä kohdassa a) valmistettua yhdistettä. Seoksen sekoittamisen jälkeen yhden tunnin ajan typpi-atmosfäärissä lisättiin 50 ml trietyyliamiinia 50 ml:ssa metyleenikloridia ja syntyneen seoksen annettiin lämmetä 0<sup>o</sup>:seen 30 minuutin aikana, jonka ajan kuluttua se tukahdutettiin 75 ml:lla vettä. Senjälkeen kun seoksen oli annettu lämmetä huoneen lämpötilaan orgaaninen kerros erotettiin, pestiin kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella, kuivattiin magnesiumsulfaatilla ja haihdutettiin tyhjössä antamaan öljy, joka jäh-

30

35

mettyi seistessään. Äkkikromatografia piihappogeelillä käyttäen eluenttina petrolieetterin ja dietyylieetterin seosta suhteessa 7:3 antoi kiinteän aineen, sp. 33°-34°.

c) 3-Bentsyylioksimetyyli-3-hydroksi-1-oktadekyyli-  
oksi-hept-6-eenin valmistus

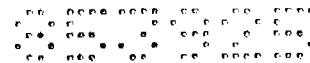
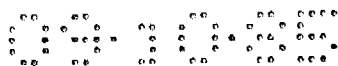
1,12 g (8 mmol) 4-bromi-1-buteenia 15 ml:ssa kuivaa  
eetteriä saatettiin reagoimaan 200 mg:n kanssa magnesium-las-  
tija palautusjäähdyttäen kuumentaa typpi-atmosfäärissä 1 tunti.  
Syntynyt Grignard-reagenssi jäähdytettiin  $-60^{\circ}$ :seen ja käsitel-  
tiin sitten 2,22 g:lla (5 mmol) edellä kohdassa b) valmistet-  
tua yhdistettä 30 ml:ssa eetteriä. Yhden tunnin kuluttua  
 $-60^{\circ}$ :ssa seos lämmitettiin yön aikana huoneen lämpötilaan ja  
tukahdutettiin sitten kyllästetyllä vesipitoisella ammonium-  
asetaatliuoksella ja jaettiin. Orgaaninen kerros pestiin  
sitten kahdesti ammoniumasetaatilla, pestiin kyllästetyllä  
natriumkloridiliuoksella ja kuivattiin magnesiumsulfaatilla,  
minkä jälkeen liuotin poistettiin alennetussa paineessa. Raa-  
katuotteen puhdistaminen suoritettiin piihappogeelillä käyt-  
tämällä eluenttina petrolieetterin ja dietyylieetterin seosta an-  
tamaan matalalla sulava kiinteä aine.

d) 5-Bentsyylioksimetyyli-2-hydroksi-5-(2-oktadekyyli-  
oksietyyli)tetrahydrofuraanin valmistus

6,15 g (12,3 mmol) edellä kohdassa c) valmistettua yhdistettä 100 ml:ssa metyleenikloridia käsiteltiin otsonilla -60<sup>o</sup>:ssa. Olefiinin kuluttamisen jälkeen lisättiin 25 ml dime-tyylisulfoksidia ja seoksen annettiin lämmetä huoneen lämpötilaan. Liuotin poistettiin tyhjässä ja raakatuote puhdistettiin piihappogeelillä käyttäen eluenttina petrolieetterin ja dietyylieetterin seosta suhteessa 7:3 antamaan väritön öljy.

e) 5-Bentsyylioksimetyyli-5-(2-oktadekyylioksietyyli)-  
4,5-dihydro-2(3H)-furanonin valmistus

Liuokseen, jossa oli 1,6 g (7,4 mmol) pyridiniumkloori-  
kromaattia 25 ml:ssa metyleenikloridia tyypiatmosfäärissä,  
lisättiin 13,5 g (6,5 mmol) edellä kohdassa d) valmistettua  
yhdistettä 25 ml:ssa metyleenikloridia. 18 tunnin jälkeen



25<sup>o</sup>:ssa liuos laimennettiin 150 ml:lla eetteriä, suodatettiin piihappogeelin läpi ja suodos haihdutettiin antamaan öljy. Öljy äkkikromatografoitiin sitten piihappogeelillä käyttäen eluenttina petrolieetterin ja dietyylieetterin seosta suhteessa 7:3 antamaan väritön öljy.

f) 5-Hydroksimetyyli-5-(2-oktadekyylioksietyyli)-4,5-dihydro-2(3H)-furanonin valmistus

Seos, joka sisälsi 10,2 g (21,83 mmol) edellä kohdassa e) valmistettua yhdistettä, 300 ml etyylialkoholin ja veden seosta suhteessa 9:1 ja 1,5 g 5-%:sta palladium/hiiltä (50 %:n vesisisältö) pantiin painepulloon ja hydrattiin 40<sup>o</sup>:ssa 50 lbs:n (22,68 kg) vedyn paineessa kunnes vastaanotto oli täydellinen. Katalyytti suodatettiin sitten pois ja suodos haihdutettiin tyhjössä. Jäännös kiteytettiin metanolista antamaan kiinteä aine.

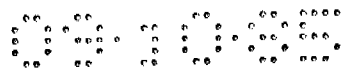
g) 2-Bromietyyli-(2-oktadekyylioksietyylitetrahydro-5-okso-furan-2-yyli)-metyylifosforihappodiesteri

14 g:aan (33,9 mmol) edellä kohdassa f) valmistettua yhdistettä 60 ml:ssa kuivaa bentseeniä lisättiin 9,9 g (40,7 mmol) 2-bromietyylioksifosforidikloridaattia. Syntynyt liuos jäähdytettiin jää-suolahauteella ja käsiteltiin tiputtaen, typpi-atmosfäärissä, liuoksella, jossa oli 3,5 ml pyridiiniä 40 ml:ssa bentseeniä. Jää-suolahauteen poistamisen jälkeen seoksen annettiin lämmetä huoneen lämpötilaan 6 tunnin aikana. Haihtuvat aineet poistettiin alennetussa paineessa ja jäännös suspendoitiin 500 ml:aan vettä ja kuumennettiin höyryhauteella 80 minuuttia. Jäähdyttämisen jälkeen huoneen lämpötilaan seosta uutettiin kloroformilla. Uute kuivatettiin magnesiumsulfaatilla, suodatettiin ja liuottimen poistamisen jälkeen saatiin valkoinen sakka.

h) Otsikkoyhdisteen valmistus

2-Bromietyyli-(2-oktadekyylioksietyyli-tetrahydro-5-okso-furan-2-yyli)metyylifosforihappodiesteriä pantiin painepulloon ja lisättiin 22 g tiatsolia 20 ml:ssa tolueenia. Syntynyttä seosta kuumennettiin 65<sup>o</sup>:ssa 50 tuntia, jonka ajan





jälkeen se jäähdytettiin ja haihdutettiin tyhjössä. Jään-  
nös koottiin sitten 500 ml:lla metanolia ja, senjälkeen kun  
oli lisätty 10,5 g hopeakarbonaattia, seosta sekoitettiin  
90 minuuttia. Kiinteä aine poistettiin senjälkeen suodatta-  
5 malla ja suodos haihdutettiin alennetussa paineessa antamaan  
raakatuote ruskeana jäännöksenä. Raakatuote puhdistettiin sit-  
ten pihappogeelillä ja eluoitiin peräkkäin metanolin 5-%:sella  
liuoksella metyleenikloridissa, metanolin 20-%:sella liuoksella  
metyleenikloridissa ja lopuksi liuoksella, jossa oli metyleeni-  
10 kloridia, metanolia ja vettä suhteessa 10:5:1, antamaan otsik-  
koyhdiste valkoisena kiinteänä aineena, sp. 200°-205° (hajoaa).

#### Esimerkki 2

3-{2-[2-Oktadekyylioksimetyyylitetrahydrofuran-2-yyli-  
metoksi)-hydroksifosfinyylioksi]-7-etaani}-tiatsoliumhydroksidi-  
15 sisäinen suola-4-oksidi

a) 2-Hydroksimetyyli-2-oktadekyylioksimetyyylitetrahydro-  
rofuraanin valmistus

Seokseen, jossa oli 2,64 g (20 mmol) 2,2-bishydroksime-  
tyyylitetrahydrofuraania ja 2,20 g (6,6 mmol) oktadekyylibromi-  
20 dia 8 ml:ssa dimetyylisulfoksidi-tetrahydrofuraani-liuosta suh-  
teessa 1:1, lisättiin 1,84 g (26,4 mmol) hienoksi hienonnettua  
kaliumhydroksidia ja syntynyttä seosta sekoitettiin huoneen läm-  
pötilassa 2 tuntia. Seos kaadettiin sitten 100 ml:aan vettä,  
laimennettiin kyllästetyllä natriumkloridi-liuoksella ja uutet-  
25 tiin eetterillä. Eetteriuute pestiin sitten kyllästetyllä nat-  
riumkloridilla ja kuivattiin natriumsulfaatilla. Liuottimet  
poistettiin sitten antamaan raakatuote matalalla sulavana  
kiinteänä aineena. Raakatuote kromatografioitiin sitten pii-  
happogeelillä käyttäen eluenttina metyyli-t-butyylieetteriä ja  
30 heksaania suhteessa 3:1 antamaan valkoinen, vahamainen kiin-  
teä aine.

b) 2-Bromimetyyli-[2-oktadekyylioksimetyyylitetrahydro-  
furan-2-yyli)-metyyli]-fosforihappodiesterin valmistus

0,244 g:aan bromietoksifosforidikloridaattia 2,5 ml:ssa  
35 bentseeniä lisättiin 0,322 g (0,84 mmol) edellä kohdassa a)  
valmistettua yhdistettä ja syntyneen seoksen jäähdyttämisen

jälkeen jäähauteella jäähdytettyä seosta käsiteltiin tiputtaen 82 /ul:llä kuivaa pyridiiniä. Jäähaude poistettiin sitten ja seosta sekoitettiin, typpiatmosfäärissä, 5 tuntia. Liuotin poistettiin sitten tyhjässä ja jäännökseen lisättiin 4 ml vettä. Seosta kuumennettiin sitten höyryhauteella 15 minuuttia, jäähdytettiin senjälkeen huoneen lämpötilaan, laimennettiin vedellä ja uutettiin eetterillä. Eetteriuutteet pestiin sitten vedellä, kuivattiin natriumsulfaattilla ja, liuottimen poistamisen jälkeen, saatiin vaahto.

10 c) Otsikkoyhdisteen valmistus

Painepulloon, joka sisälsi 1 ml tiatsolin ja tolueenin seosta suhteessa 1:1, lisättiin 2-bromietyyli-(2-oktadekyylioksimetyylitetrahydrofuran-2-yyli)metyylifosforihappodiesteriä ja, pullon sulkemisen jälkeen, seosta kuumennettiin 6 päivää. Haihtuvat aineet poistettiin sitten tyhjässä ja jäännös koottiin etanoliin. Sitten lisättiin 0,5 g hopeakarbonaattia ja seosta sekoitettiin 1 tunti, minkä ajan kuluttua se suodatettiin Celite'n läpi ja suodos haihdutettiin kuiviin. Saatuun jäännökseen lisättiin 10 ml metanolia ja 100 mg aktivoitua hiiltä ja seosta kuumennettiin sitten 5 minuuttia 50<sup>o</sup>:ssa. Kiinteä aine poistettiin senjälkeen suodattamalla ja suodos haihdutettiin alennetussa paineessa antamaan raakatuote. Raakatuote puhdistettiin piihappogeelillä tavalla, joka on yhdenmukainen esimerkissä 1 kuvatun kanssa, antamaan otsikkoyhdiste kiinteänä aineena, sp. 140<sup>o</sup> (hajoaa).

Esimerkki 3

3- $\left\{ 2-\left[ (2\text{-Oktadekyyliaminokarbonyylioksimetyyli-tetrahydrofuran-2-yyli-metoksi})\text{-hydroksifosfinyylioksi} \right] \text{-etaani} \right\}$ -tiatsoliumhydroksidi-sisäinen suola-4-oksidi

30 a) 2-Hydroksimetyyli-2-oktadekyyliaminokarbonyylioksimetyylitetrahydrofuraanin valmistus

Seokseen, jossa oli 1,9 g (14,4 mmol) 2,2-bishydroksimetyylitetrahydrofuraania 10 ml:ssa pyridiiniä, lisättiin huoneen lämpötilassa typpiatmosfäärissä liuos, jossa oli 4,04 g (13,7 mmol) n-oktadekyyli-isosyanaattia 15 ml:ssa pyridiiniä.

10

15

### Esimerkki 4

25

disteestä.

### Esimerkki 5

30

35

Esimerkki 6

2- $\left[ \text{Hydroksi}(\text{tetrahydro})\text{-2-(oktadekyyli-2-furanyyli)-metoksifosfinyylioksi} \right] \text{-etaanitiatsoliumhydroksidi-sisäinen suola-4-oksidi}$

5 a) 2-Bentsyylioksimetyyli-2-oktadekyyli-tetrahydrofuraanin valmistus

11,5 g (26 mmol) 5-bentsyylioksimetyyli-2-hydroksi-5-oktadekyyli-tetrahydrofuraania liuotettiin 120 ml:aan dikloori-metaania, joka sisälsi 4,54 g (39 mmol) trietyylisilaania, ja reaktioseos jäähdytettiin typpiatmosfäärissä  $-20^{\circ}$ :seen. Jäähdytyneeseen seokseen lisättiin 4,26 g (30 mmol) booritri-fluoridieteraattia ja, 1 tunnin kuluttua, lisättiin kyllästettyä vesipitoista natriumbikarbonaattiliuosta. Syntynyt seos lämmitettiin huoneen lämpötilaan sen jälkeen kun se oli  
10  
15 saatettu uuttavaan eristämiseen, kromatografia piihappogee-lillä antoi värittömän öljyn.

Reaktiota jatkettiin yhdenmukaisesti esimerkin 1 f-h) kanssa antamaan otsikkoyhdiste valkoisena kiinteänä aineena, sp.  $198-204^{\circ}$  (hajoaa).

20 Esimerkki 7

3- $\left\{ 2-\left[ (2\text{-Oktadekyyliaminokarbonyylioksimetyyli-tetrahydrofuran-2-yyli-metoksi})\text{-hydroksifosfinyylioksi} \right] \text{-etaani} \right\}$ -kinoliniumhydroksidi-sisäinen suola-4-oksidi

Yhdenmukaisesti 1 h):n kanssa lähtien esimerkin 3  
25 bromietyyli-yhdisteestä ja kinoliinista, sp.  $> 105^{\circ}$  (hajoaa).

Esimerkki 8

3- $\left\{ 2-\left[ (2\text{-Oktadekyyliaminokarbonyylioksimetyyli-tetrahydrofuran-2-yyli-metoksi})\text{-hydroksifosfinyylioksi} \right] \text{-heksaani} \right\}$ -tiatsoliumhydroksidi-sisäinen suola-4-oksidi

Yhdenmukaisesti esimerkin 1 g) ja h) kanssa lähtien  
30 esimerkin 3a yhdisteestä ja 6-bromiheksyylifosforidikloridista, sp.  $65-70^{\circ}$  (hajoaa).

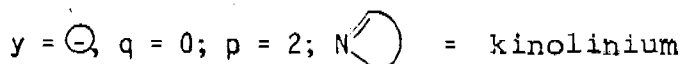
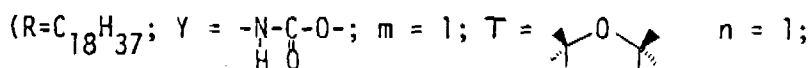
Esimerkki 9

3- $\{$ 2- $\{$ 72-(9-Oktadekenyyli) aminokarbonyylioksimetyyli-tetrahydrofuran-2-yyli-metoksi)-hydroksifosfinyylioksi $\}$ -etaani $\}$ -tiatsoliumhydroksidi-sisäinen suola-4-oksidi

- 5 Yhdenmukaisesti esimerkin 3a) ja esimerkin 1g) ja h) kanssa käyttäen n-oktadek-9-enyyli-isosyanaattia n-oktadekyyli-isosyanaatin asemesta saatiin vahamainen kiinteä aine.

Esimerkki 10

- 10 cis-1- $\{$ 2- $\{$ hydroksi $\}$ tetrahydro-5- $\{$ oktadekyyliaminokarbonyyli)oksi $\}$ metyyli $\}$ furan-2-yyli $\}$ metoksifosfinyylioksi $\}$ etyyli $\}$ -kinoliniumhydroksidi, sisäinen suola-4-oksidi



15

a) cis-2- $\{$ oktadekyyliaminokarbonyyli)oksi $\}$ metyyli-5-hydroksimetyyli-tetrahydrofuraanin valmistus

- 10,1 g:aan (0,077 mol) cis-2,5-bis(hydroksimetyyli)tetrahydrofuraania liuotettuna 50 ml:aan pyridiiniä lisättiin, huoneen lämpötilassa ja typpi-atmosfäärissä, 22,5 g (0,077 mol) n-oktadekyyli-isosyanaattia. Saatu seos kuumennettiin sitten 60<sup>o</sup>:seen ja, sen jälkeen kun sitä oli pidetty tässä lämpötilassa 12 tuntia, seos jäähdytettiin 25<sup>o</sup>:seen, minkä seurauksena muodostui sakka. Sitten lisättiin 300 ml dietyylieetteriä ja, 25 suodattamisen jälkeen, kiinteä aine koottiin ja hylättiin. Suodos haihdutettiin sitten alennetussa paineessa antamaan öljy, joka kuivaamisen jälkeen 50<sup>o</sup>:ssa ja 0,1 mm:n elohopeapaineessa 30 minuutin ajan antoi raa'an tuotteen vaaleankeltaisena kiinteänä aineena. Raakatuote kromatografioitiin sitten piihappogeelillä käyttäen eluenttina heksaanin ja asetonin seosta (tilavuussuhteessa 3:1) antamaan valkoinen kiinteä aine. 30

b) cis-1-{2-[hydroksi][tetrahydro-5-[oktadekyyliaminokarbonyyli]oksi]-metyyli]furan-2-yyli]metoksifosfinyylioksi]etyyli}-bromidin valmistus

1,28 g:aan (3 mmol) edellä kohdassa a) valmistettua yhdistettä liuotettuna 15 ml:aan kuivaa bentseeniä lisättiin 1,16 g (4,8 mmol) 2-bromi-etyylioksifosforidikloridaattia liuotettuna 6 ml:aan kuivaa bentseeniä. Syntynyttä liuosta jäähdytettiin sitten jäähauteella ja käsiteltiin tiputtaen, typpiatmosfäärissä, liuoksella, jossa oli 0,38 g (4,8 mmol) pyridiiniä liuotettuna 6 ml:aan kuivaa bentseeniä. 5 minuutin kuluttua jäähaude poistettiin ja seoksen annettiin lämmetä huoneen lämpötilaan 5 tunnin aikana. Sitten lisättiin 10 ml vettä ja seos kuumennettiin sekoittaen 60<sup>o</sup>:seen ja pidettiin tässä lämpötilassa 30 minuuttia. Jäähdyttämisen jälkeen huoneen lämpötilaan seos jaettiin dietyylieetterin ja veden kesken. Orgaaninen kerros kuivattiin sitten natriumsulfaatilla, suodatettiin ja liuotin poistettiin, saatiin kiinteä aine.

c) Otsikkoyhdisteen valmistus

1,8 g:aan cis-1-{2-[hydroksi][tetrahydro-5-[oktadekyyliaminokarbonyyli]-oksi]-metyyli]furan-2-yyli]metoksifosfinyylioksi]etyyli}-bromidia lisättiin 5 ml kinoliinia ja syntynyt seos kuumennettiin, sekoittaen ja typpiatmosfäärissä, 80<sup>o</sup>:seen ja pidettiin tässä lämpötilassa 16 tuntia. Syntynyt ruskea liuos jäähdytettiin sitten ja laimennettiin heksaanilla, mistä oli seurauksena sakan muodostuminen. Sakka erotettiin sitten liuoksesta ja kromatografioitiin piihappogeelillä käyttäen eluenttina metyleenikloridin, metanolin ja veden seosta (tilavuussuhteessa 80:18:2) antamaan raaka tuote vaaleanruskeana kiinteänä aineena. Raakatuote puhdistettiin sitten piihappogeelillä ja eluoitiin peräkkäin metyleenikloridilla ja metyleenikloridin ja metanolin seoksella (tilavuussuhteessa 4:1) antamaan nahanruskean värinen vaahto, joka koottiin metanoliin ja laimennettiin dietyylieetterillä antamaan useita saantoja kuohkeata valkoista sakkaa. Sakat koottiin sitten metyleenikloridin ja metanolin seokseen (tilavuussuhteessa 6:4) ja haihdutettiin antamaan otsikkoyhdiste beige-värisenä kiinteänä ai-

neena kuivaamisen jälkeen, sp. 56-60° (riippuen hydrataatioasteesta).

Esimerkki 11

5 cis-1-{2-[hydroksi][tetrahydro-5-[oktadekyyliamino-  
karbonyyli)oksi]metyyli]furan-2-yyli]metoksifosfinyylioksi]-  
etyyli}tiatsoliumhydroksidi, sisäinen suola-4-oksidi

Yhdenmukaisesti esimerkin 10 c) kanssa käyttäen tiatso-  
lia kinoliinin asemesta ja saostamalla dietyylieetterillä. Ki-  
teet koottiin ja kromatografoitiin piihappogeelillä käyttäen  
10 eluenttina kloroformin, metanolin ja veden seosta (tilavuussuh-  
teessa 10:5:1) antamaan valkoinen sakka. Sakkaa hierrettiin  
sitten asetonin ja dietyylieetterin seoksella (tilavuussuhteet-  
sa 1:1) antamaan otsikkoyhdiste valkoisena kiinteänä aineena,  
sp. 105-110°.

15 Esimerkki 12

cis-1-{2-[hydroksi][tetrahydro-5-[oktadekyylioksi]me-  
tyyli]furan-2-yyli]metoksifosfinyyli]etyyli}-kinoliniumhydrok-  
sidi, sisäinen suola-4-oksidi

20 a) cis-2-(oktadekyylioksi)-metyyli-5-hydroksimetyylitet-  
rahydrofuraanin valmistus

9,24 g:aan (0,07 mol) cis-2,5-bis(hydroksimetyyli)-tet-  
rahydrofuraania liuotettuna 40 ml:aan tetrahydrofuraanin ja  
dimetyylisulfoksidin 1:1-seosta lisättiin 5,6 g (0,1 mol) hie-  
noksi hienonnettua kaliumhydroksidia ja, tiputtaen ja sekoit-  
25 taen 30 minuutin aikana, 13,5 g (0,04 mol) 1-bromi-oktadekaa-  
nia liuotettuna 40 ml:aan tetrahydrofuraanin ja dimetyylisulfok-  
sidin 1:1-seosta. Syntynyttä keltaista seosta sekoitettiin  
huoneen lämpötilassa (25°) typpi-atmosfäärissä 16 tunnin ajan,  
jonka ajan kuluttua se haihdutettiin alennetussa paineessa  
30 liuottimen poistamiseksi. Saatu viskoosinen öljy liuotettiin  
500 ml:aan dietyylieetteriä ja pestiin 100 ml:lla vettä. Eet-  
terinen liuos kuivattiin ja haihdutettiin antamaan raaka tuo-  
te vahamaisena kiinteänä aineena. Raakatuote kromatografoi-  
ttiin sitten piihappogeelillä käyttäen eluenttina petrolieette-

rin ja asetonin seosta (tilavuussuhteessa 85:15) antamaan, haihduttamisen jälkeen, valkoinen vahamainen kiinteä aine.

b) cis-1-{2-[hydroksi][tetrahydro-5-[oktadekyylioksi]-metyyli]-furan-2-yyli]-metoksifosfinyylioksi]-etyyli}-bromidin valmistus

5 3,8 g:aan (0,01 mol) edellä kohdassa a) valmistettua yhdistettä liuotettuna 50 ml:aan kuivaa bentseeniä lisättiin 3,6 g (0,015 mol) 2-bromi-etyylioksi-fosforidikloridaattia liuotettuna 10 ml:aan kuivaa bentseeniä. Syntyneitä liuosta  
10 jäähdytettiin sitten jäähauteella ja käsiteltiin tiputtaen, typpiatmosfäärissä, liuoksella, jossa oli 1,2 g pyridiiniä liuotettuna 10 ml:aan kuivaa bentseeniä. Viiden minuutin kulu-  
luttua jäähaude poistettiin ja seoksen annettiin lämmitä huoneen lämpötilaan, sekoittaen, 16 tunnin ajan. Sitten lisättiin  
15 10 ml vettä ja seos kuumennettiin sekoittaen 60<sup>o</sup>:seen ja pidettiin tässä lämpötilassa 45 minuuttia. Jäähdyttämisen jälkeen huoneen lämpötilaan seos jaettiin dietyylieetterin ja veden kesken. Orgaaninen kerros kuivattiin sitten natriumsulfaattilla, suodatettiin ja, liuottimen poistamisen jälkeen, saatiin raakatuote öljymäisenä kiinteänä aineena. Raakatuote kro-  
20 matografoitiin sitten pihappogeelillä käyttäen peräkkäin eluenteina petrolieetterin ja asetonin seosta (tilavuussuhteessa 70:30), asetonin ja petrolieetterin seosta (tilavuussuhteessa 1:1) ja metyleenikloridin ja metanolin seosta (tilavuussuhteessa 85:15). Haihduttaminen alennetussa paineessa antoi valkoisen, vahamaisen kiinteän aineen.

Otsikkoyhdisteen valmistus

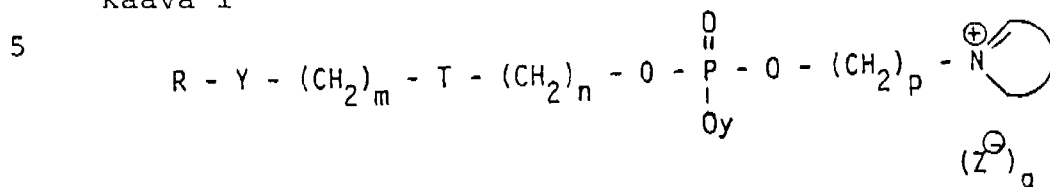
3,4 g:aan cis-1-{2-[hydroksi][tetrahydro-5-[oktadekyylioksi]-metyyli]-furan-2-yyli]-metoksi-fosfinyylioksi]-etyyli}-bromidia lisättiin 10 ml kinoliinia ja syntynyt seos kuumennettiin, sekoittaen ja typpiatmosfäärissä, 80<sup>o</sup>:seen ja pidettiin  
30 tässä lämpötilassa 16 tuntia. Syntynyt ruskea liuos jäähdytettiin sitten ja laimennettiin dietyylieetterillä, mistä oli seurauksena ruskean sakan muodostuminen. Sakka hylättiin ja  
35 emäliuos haihdutettiin peräkkäin alennetussa paineessa ja



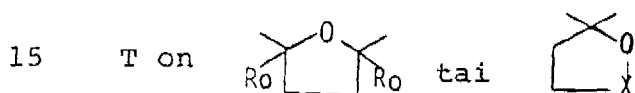
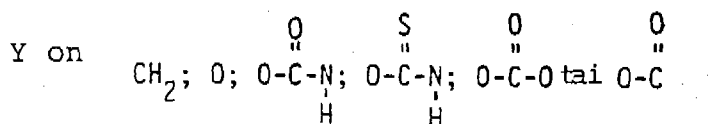
0,2 mm:n elohopeapaineessa antamaan raaka tuote ruskeana  
siirappina. Raakatuote kromatografioitiin sitten piihappo-  
geelillä käyttäen metyleenikloridin, metanolin ja veden  
seosta (tilavuussuhteessa 80:18:2) eluenttina antamaan,  
5 haihduttamisen jälkeen alennetussa paineessa, nahanvärinen  
vaahto. Vaahto saatettiin sitten valmistavaan ohutlevykro-  
matografiaan käyttäen samaa edellä esitettyä eluointiseos-  
ta antamaan, haihduttamisen jälkeen, otsikkoyhdiste beige-  
värisenä kiinteänä aineena kuivaamisen jälkeen, sp. 74-78°  
10 (hajoaa).

Patenttivaatimukset:

1. Menetelmä yhdisteen valmistamiseksi, jolla on  
kaava I



10 jossa R on n-C<sub>12-20</sub>-alkyyli, alkenyyli tai alkynyyli, C<sub>12-24</sub>-alkoksialkyyli, fenyylili tai C<sub>7-9</sub>-fenyylialkyyli,



jossa Ro on vety tai metyyli; ja

$$\text{X on CH}_2 \text{ tai } \begin{array}{c} \text{-C-} \\ \text{"} \\ \text{O} \end{array}$$

20  edustaa 5- tai 6-jäsenistä monosyklistä rengasta, joka va-  
linnaisesti sisältää yhden muun heteroatomin, joka valitaan ty-  
pestä tai rikistä; tai 10-jäsenistä bisyklistä rengasta, joka  
valinnaisesti sisältää yhden muun tyyppiätomia; joista renkaista  
25 jokainen voi olla substituomaton tai joko mono-, di- tai  
tri-substituoitu  $C_{1-4}$ alkyyllillä tai mono-substituoitu  $CF_3$ :lla,  
halogeenilla,  $COOH$ :lla tai  $COOCH_3$ :lla;

$Z^{(-)}$  on farmaseuttisesti hyväksyttävä anioni;

m on 1 tai 2;

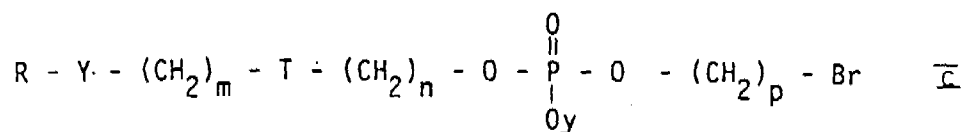
```
n on 1 tai 2;
```

30 p on 2-8; ja

y on  $\ominus$  ja q on 0; tai

y on H ja q on 1

t u n n e t t u siitä, että saadaan yhdiste, jolla on kaava  $\bar{c}$



reagoimaan yhdisteen kanssa, jolla on kaava  $\overline{CC}$

5



jossa R, Y, T, m, n, p ja y tarkoittavat samaa kuin edellä, ja tuote otetaan talteen sisäisen suolan muodossa tai farmaseuttisesti hyväksyttävän happoadditiosuolan muodossa.

10

2. Vaiheet, ominaispiirteet, yhdistelmät ja yhdisteet, joihin on viitattu tai jotka on esitetty selityksessä ja/tai tämän patenttihakemuksen vaatimuksissa, yksittäin tai kollektiivisesti, sekä mikä tahansa ja kaikki yhdistelmät tai mitkä tahansa kaksi tai useampaa näistä vaiheista tai ominaispiirteistä.

15