

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 761628 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 761628

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07C

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **08.06.1976**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **08.06.1976**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **10.12.1976**

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

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

09.06.1975 SE 7506546

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Astra Läkemedel Aktiebolag, Kvarnbergagatan 16, 15185 Södertälje, SVERIGE, (SE)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Carlsson, Per Arvid Emil, Sverige, SVERIGE, (SE)

2 • Linberg, Per Lennart, TOWN UNKNOWN, SVERIGE, (SE)

3 • Wickberg, Börje Vilhelm, Sverige, SVERIGE, (SE)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Berggren Oy Ab, Antinkatu 3 C, 00100 Helsinki

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

Uusi ainekoostumus

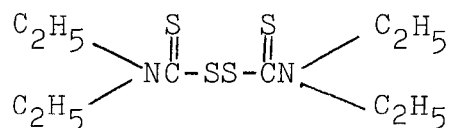
Ny ämnessammansättning

Astra Läkemedel Aktiebolag, Kvarnbergagatan 16, 151 85 Södertälje,
Ruotsi

Uusi ainekoostumus - Ny ämnessammansättning

Esillä oleva keksintö koskee uusia syklopropanolijohdannaisia, menetelmiä niiden valmistamiseksi ja erottamiseksi, ja uusia välituotteita, jotka ovat käyttökelpoisia näiden syklopropanolijohdannaisten valmistuksessa. Keksinntö koskee myös farmaseuttisten preparaattien valmistusta, jotka sisältävät näitä syklopropanolijohdannaisia ja menetelmiä niiden farmakologiseksi käyttämiseksi.

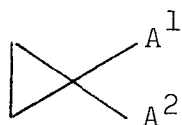
Alkoholismin käsittelyssä käytetään laajasti disulfiramia



Tässä käsittelyssä voi ilmetä kuitenkin useita sivuvaikutuksia, joista muutamat ovat vakavia. On todettu mm. depressiota, pienentynyt sukupuoli-vietti ja potenssi, väsyneisyyttä, hengitysvaikeuksia ja ruuansulatushäiriöitä.

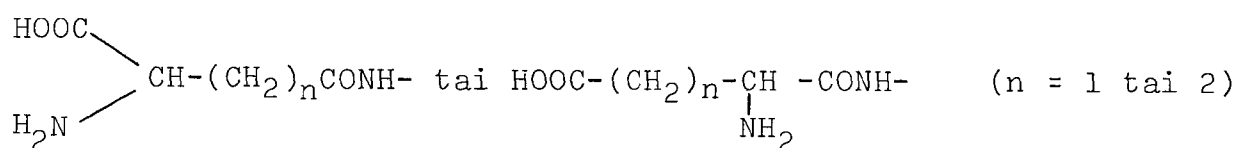
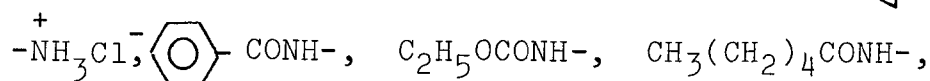
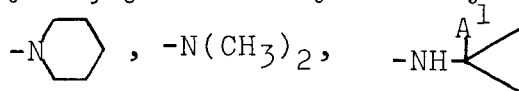
Olemme keksineet sellaisia yhdisteitä, joiden vaikutus on samansuuruinen kuin disulfiramilla, mutta joilla on vähemmän sivuvaikutuksia.

Tarkemmin sanoen näillä yhdisteillä on yleinen kaava



I A

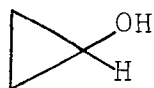
jossa kaavassa A^1 on vetyatomi, hydroksiryhmä, metoksyryhmä, etoksyryhmä tai asetoksyryhmä, ja A^2 on hydroksiryhmä, aminoryhmä, asetoksyryhmä, ryhmä



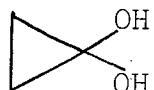
edellyttäen, että A^1 on vetyatomi, metoksyryhmä tai etoksyryhmä kun A^2 on aminoryhmä, että A^2 on hydroksiryhmä tai aminoryhmä kun A^1 on vetyatomi, ja että A^2 on hydroksiryhmä tai asetoksyryhmä kun A^1 on asetoksyryhmä.

Keksintö käsittää myös sopivassa tapauksessa kaavan I A mukaisten yhdisteiden farmaseuttisesti sopivat suolat.

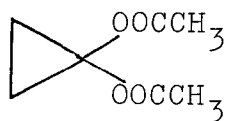
Muutamia näistä yhdisteistä on kuvattu kirjallisuudessa. Näiden yhdisteiden lääketieteellistä käyttöä ei kuitenkaan ole esitetty kirjallisuudessa. Nämä rakenteeltaan tunnetut yhdisteet ovat:



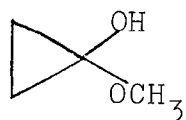
C.H. De Puy ym; J. Org. Chem., 29, 2813 (1964).



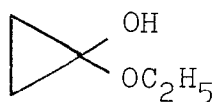
W.J.M. van Tilborg; Thesis, Amsterdam 1971.
S.E. Schaafsma; Thesis, Amsterdam 1968.



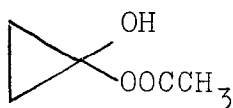
- " -



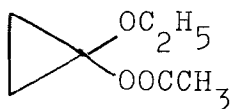
- " -



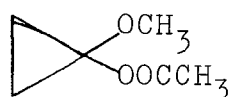
W.J.M. van Tilborg; Thesis, Amsterdam 1971.
S.E. Schaafsma; Thesis, Amsterdam 1968.



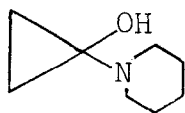
W.J.M. van Tilborg; Thesis, Amsterdam 1971.



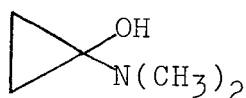
H.H. Wasserman ja D.C. Clagett; J. Am. Chem. Soc., 88, 5368 (1966)



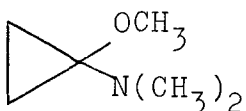
N.J. Turro ja W.B. Hammond; Tetrahedron 24, 6017 (1968)



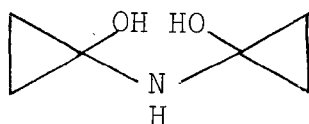
H.H. Wasserman ja M.S. Baird; Tetrahedron Lett., 1729 (1970).



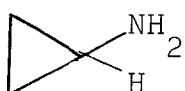
W.J.M. Tilborg; Thesis, Amsterdam 1971.



- " -



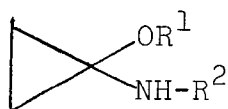
- " -



J.D. Roberts ja V.C. Chambers; J. Am. Chem. Soc., 73, 3176 (1951).

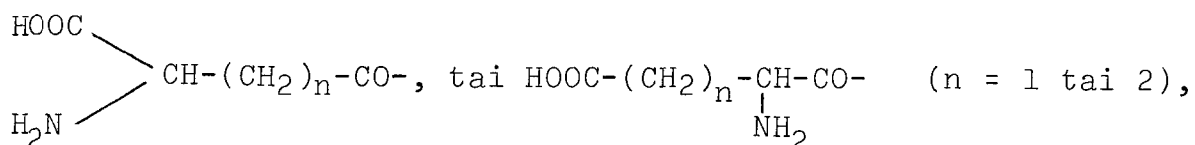
Kaavan I A mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa edellä mainituissa julkaisuissa esitetyillä menetelmillä tai tässä patenttijulkaisussa kuvatuilla menetelmillä.

Tässä selityksessä on esitetty ensimmäistä kertaa sellaiset yhdisteet, joilla on yleinen jaava



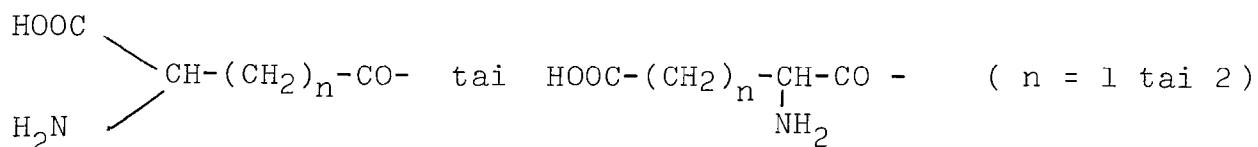
I

jossa kaavassa R^1 on vetyatomi, metyyliryhmä tai etyyliryhmä, ja R^2 on vetyatomi, ryhmä $-H_2^+Cl^-$, $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CO-}$, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OCO-}$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CO-}$,



ja R^1 on metyyli- tai etyyyliryhmä kun R^2 on vetyatomi.

Keksintö käsittää myös kaavan I mukaisten yhdisteiden sopivat suolat, joissa R^1 on vetyatomi, metyyli- tai etyyli-ryhmä, ja R^2 on vetyatomi



Mikäli keksinnön mukaisten yhdisteiden optiset isomeerit ovat mahdollisia, voidaan näitä yhdisteitä käyttää terapeuttisesti raseemina (+) ja (-)-muotojen seoksina, jotka saadaan synteettisesti. Ne voidaan myös erottaa vastaaviksi optisesti puhtaiksi enantiomeereiksi, jotka ovat myös terapiassa käyttökelpoisia. Keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan annostella vapaiden emästen tai näiden suolojen muodossa myrkyttömien happojen kanssa. Muutamia näiden suolojen tyyppillisiä esimerkkejä ovat hydrobromidi, hydrokloridi, fosfaatti, sulfaatti, sitraatti, tartraatti, laktaatti, asetaatti ja sulfamaatti.

Kliinisessä käytännössä annostellaan keksinnön mukaisia yhdisteitä tavallisesti oraalisesti, rektaalisesti tai injektoimalla sellaisten farmaseuttisten valmisteiden muodossa, jotka sisältävät aktiivisen aineosan joko vapaana emäksenä tai farmaseuttisesti sopivana myrkyttömänä happoadditiosuolana, esim. hydrokloridina, hydrobromidina, fosfaattina, sitraattina, tartraattina, laktaattina, asetaattina, sulfaattina, sulfamaattina yms, yhdessä farmaseuttisesti sopivan kantajan kanssa. Näin ollen termit, jotka koskevat keksinnön mukaisia uusia yhdisteitä, käsittävät sekä vapaan amiiniemäksen että vapaan emäksen happoadditiosuolat ellei se yhteys, jossa näitä termejä käytetään, esim. jäljempänä olevissa esimerkeissä, sulje pois tätä laajaa merkitystä. Kantaja voi olla kiinteä, puolikiinteä tai nestemäinen laimennusaine tai kapseli. Nämä farmaseuttiset preparaatit muodostavat keksinnön erään toteuttamismuodon. Aktiivinen aine sisältää tavallisesti välillä 0,1 ja 95 paino-% valmisteesta, ja on tavallisesti välillä 0,5 ja 20 paino-% valmisteesta, joka on tarkoitettu injektoitavaksi, ja välillä 2 ja 50 paino-% sellaisesta valmisteesta, joka on sopiva suun kautta annosteltavaksi.

Farmaseuttisten preparaattien valmistamiseksi, jotka sisältävät keksinnön mukaista yhdistettä annosyksikön muodossa suun kautta tapahtuvaa nauttimista varten, voidaan valittu yhdiste sekoittaa kiinteän, jauhemaisen kantajan, esim. laktoosin, sakkaroosin, sorbitolin, mannitolin, tärkkelysten, kuten perunatärkkelyksen, maissitärkkelyksen tai amylopektiinin, selluloosajohdannaisten tai gelatiinin kanssa, voiteluaineen, kuten magnesiumstearaatin, kalsiumstearaatin, polyetyleeniglykolivahojen yms. kanssa ja puristaa sitten tableteiksi. Päällystettyjä tabletteja tarvittaessa voidaan edellä kuvatulla tavalla valmistetut sydänosat päällystää väkevällä sokeriliuoksella, joka voi sisältää esim. arabikumia, gelatiinitalkkia, titaanidioksidia yms. Vaihtoehtoisesti tabletti voidaan päällystää lakalla, joka on liuotettu helposti haihtuvaan orgaaniseen liuottimeen tai orgaanisten liuottimien seokseen. Näihin päällysteisiin voidaan lisätä väriaineita tarkoituksella erottaa selvästi toisistaan tabletit, jotka sisältävät erilaisia aktiivisia aineita tai aktiivisen yhdisteen erilaisia määriä.

Pehmeiden gelatiinikapseleiden valmistamiseksi (helmimäiset, suljetut kapselit), jotka sisältävät gelatiinia ja esim. glyserolia, tai tämän kaltaisten suljettujen kapselien valmistamiseksi, voidaan aktiivinen aine sekoittaa kasvisöljyn kanssa. Kovat gelatiinikapselit voivat sisältää aktiivisen aineen rakeita yhdessä kiinteiden, jauhemaisen kantajien, kuten laktoosin, sakkaroosin, sorbitolin, mannitolin, tärkkelysten (esim. perunatärkkelys, maissitärkkelys tai amylopektiini), selluloosajohdannaisten tai gelatiinin kanssa.

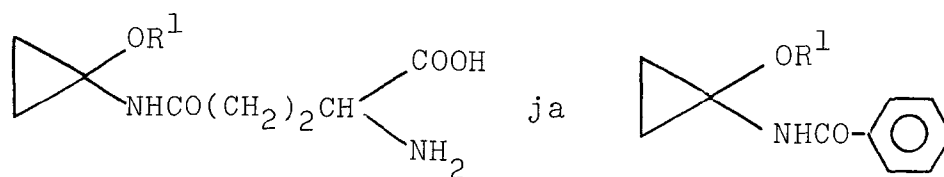
Annosyksiköt rektaalista annostelua varten voidaan valmistaa peräpuikkojen muotoon, jotka sisältävät aktiivisen aineen seoksena neutraalin rasvaemäksen kanssa, tai selllaisten rektaalisten gelatiinikapselien muotoon, jotka sisältävät aktiivista ainetta seoksena kasvisöljyn tai paraffiiniöljyn kanssa.

Nestemäiset valmisteet oraalista käyttöä varten voivat olla siirappien tai suspensioiden muodossa, esim. liuoksina, jotka sisältävät noin 0,2-20 paino-% aktiivista ainetta lopun ollessa sokeria ja etanolin, veden, glyserolin ja propyleeniglykolin seosta. Tällaiset nestemäiset valmisteet voivat mahdollisesti sisältää myös väriaineita, makuaineita, sakkariinia ja karboksimeetyyliselluloosaa sakeutusaineena.

Injektiotarkoituksiin käytettäviä liuoksia voidaan valmistaa aktiivisen aineen vesiliukoisen, farmaseuttisesti sopivan suolan vesiliuoksen muotoon väkevyydessä noin 0,5-10 paino-%. Nämä liuokset voivat myös sisältää stabiloimisaineita ja/tai puskuraineita ja ne voidaan sopivasti muodostaa erilaisiksi annosyksikön sisältäviksi ampulleiksi.

Keksinnön mukaisten yhdisteiden sopivia oraalisia annoksia ovat 5-500 mg, edullisesti 20-150 mg.

Edullisimmilla keksinnön mukaisilla yhdisteillä on kaavat

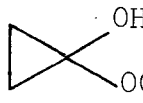


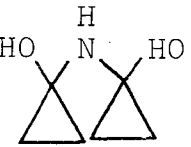
joissa kaavoissa R^1 on vetyatomi, metyyli- tai etyyyliryhmä.

Seuraavassa selostetaan keksinnön mukaisten yhdisteiden valmistusmenetelmiä.

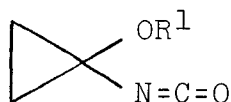
A. Sellaisia kaavan I mukaisia yhdisteitä, joissa R^1 on vetyatomi, metyyli- tai etyyyliryhmä, ja R^2 on vetyatomi tai $-\overset{+}{H}_2Cl^-$, edellyttäen, että R^1 on metyyli- tai etyyyliryhmä kun R^2 on vetyatomi, voidaan valmistaa

a) saattamalla yhdiste  reagoimaan nestemäisen ammoniakin kanssa ensimmäisessä vaiheessa ja HCl/H₂O:n kanssa toisessa vaiheessa, tai

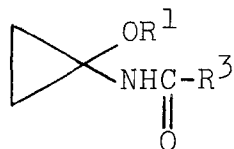
b) saattamalla yhdiste  reagoimaan NH₃/NH₄Cl:n ja H₂O:n kanssa ensimmäisessä vaiheessa ja HCl:n kanssa toisessa vaiheessa, tai

c) kuumentamalla yhdistettä  HCl/H₂O:n läsnäollessa, tai

d) saattamalla kloorivetyhappo reagoimaan sellaisen yhdisteen kanssa, jolla on kaava

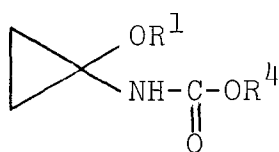


jossa R^1 on metyyli- tai etyyyliryhmä, tai sellaisen yhdisteen kanssa, jolla on kaava

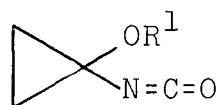


jossa kaavassa R^1 on vetyatomi, metyyliryhmä tai etyyliryhmä ja R^3 on alkyyliryhmä, jossa on 1-5 hiiliatomia, tai helposti poistettavissa oleva alkoksiryhmä, kuten t-butoksi tai bentsyylioksi, edellyttäen, että R^3 on alkyyliryhmä kun R^1 on vety, tai

e) hydroksyloimalla alkalisissa olosuhteissa yhdiste, jolla on kaava

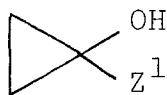


ja

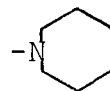


joissa kaavoissa R^1 on metyyli- tai etyyliryhmä, ja R^4 on alkyyliryhmä, jossa on 1-5 hiiliatomia, ja hapottamalla tämän jälkeen kloorivetyhapolla, tai

f) saattamalla yhdiste, jolla on kaava



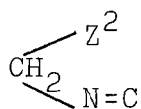
jossa Z^1 on



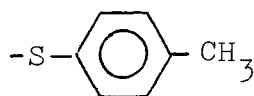
tai

$-N(CH_3)_2$, reagoimaan NH_3/NH_4Cl :n ja H_2O :n kanssa, tai

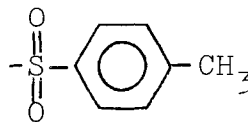
g) alkyloimalla yhdiste, jolla on kaava



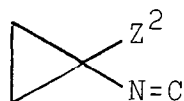
jossa Z^2 on



tai



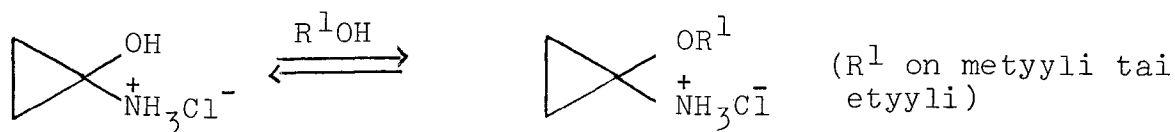
1,2-dibromietaanin kanssa emäksen, kuten natriumhydridin, läsnäollessa, sellaisen yhdisteen muodostamiseksi, jolla on kaava



ja saattamalla tämä yhdiste reagoimaan kloorivetyhapon kanssa.

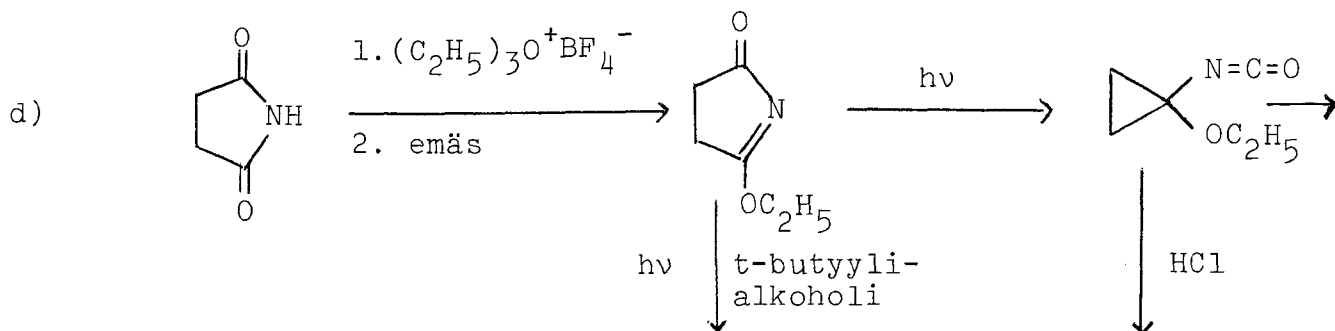
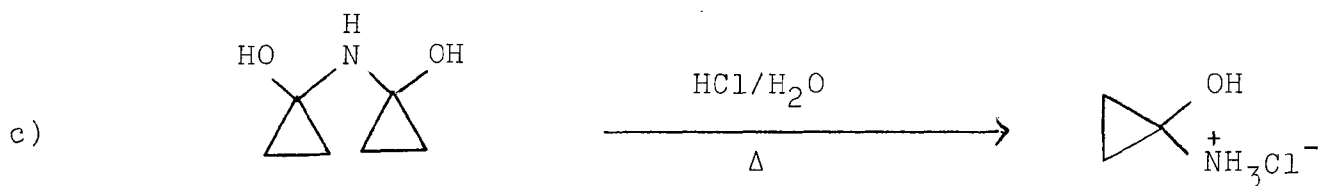
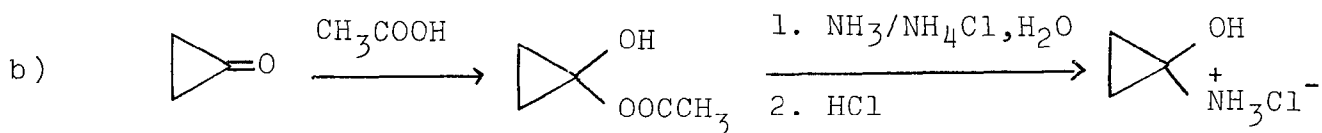
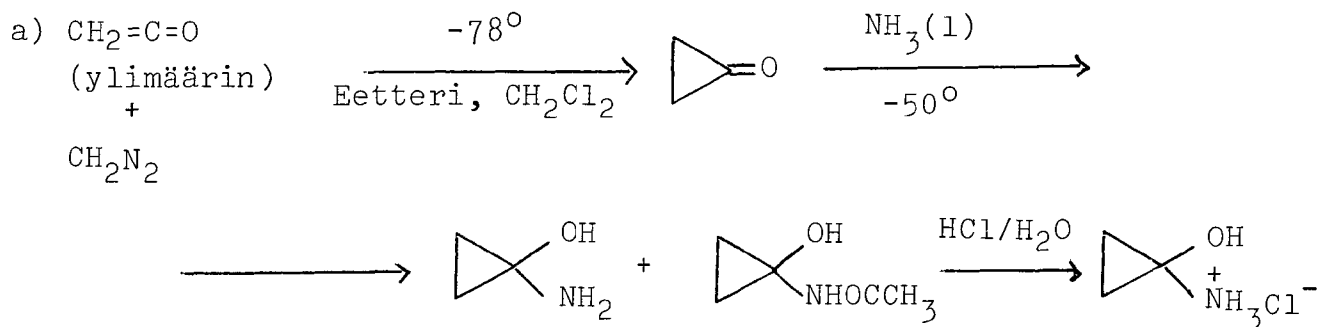
Reaktioissa a - g saadaan sellaisia kaavan I mukaisia yhdisteitä,

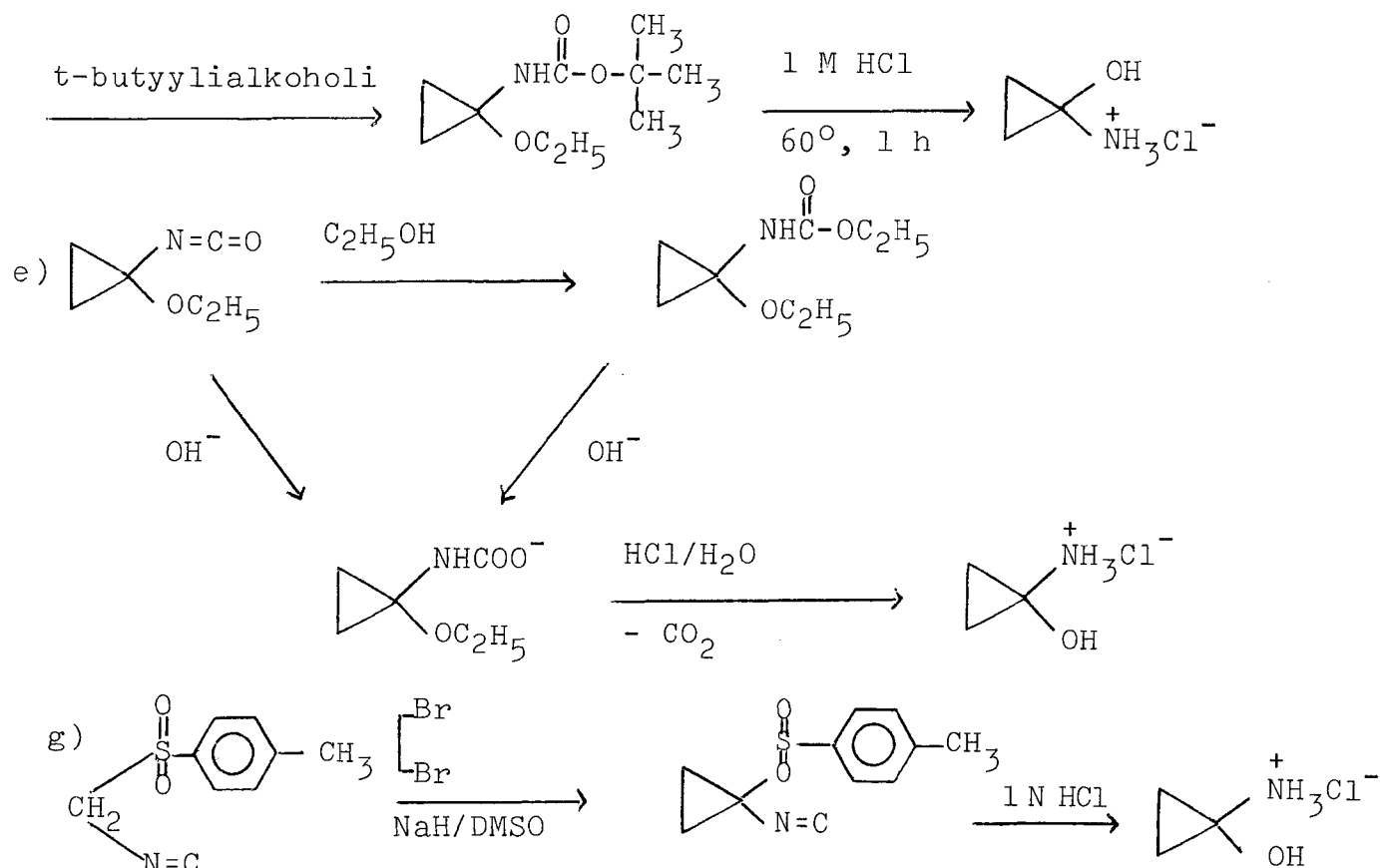
joissa R^1 on vety ja R^2 on $-\overset{+}{H}_2Cl^-$. Sellaisen kaavan I mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, jossa R^1 on metyyli tai etyyli, suoritetaan seuraava reaktio.



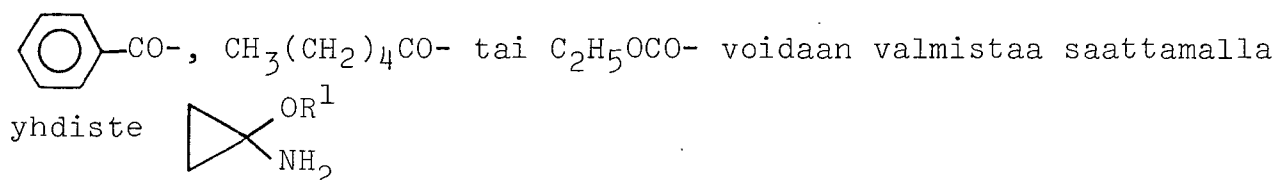
Suola $\text{Cyclopropane-1-yl } R^1\text{-ammonium chloride}$ (R^1 = metyyli tai etyyli) voidaan sitten muuttaa vastaavaksi vapaaksi aminoetteriksi tavanomaisilla menetelmillä.

Seuraava reaktiokaavio esittää esimerkkinä kysymyksessä olevia reaktiosarjoja:





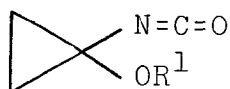
B. a) Kaavan I mukaiset yhdisteet, joissa R^2 on ryhmä



jossa R^1 on vety, metyyli- tai etyyli-ryhmä, reagoimaan yhdisteen $\text{R}^2\text{-OH}$ funktionaalisen johdannaisen kanssa. Tämä reaktio toteutetaan emäksen, edullisesti trietyyliamiinin, läsnäollessa sopivassa liuottimessa, kuten tetrahydrofuraanissa. Asyloitava amiini voidaan muodostaa ennakolta tai vapauttaa in situ käyttämällä suolaa, kuten sen hydrokloridia, edellä mainitussa reaktiossa. Yhdisteen $\text{R}^2\text{-OH}$ funktionaalisesti ekvivalenttinen johdannainen kykenee asyloimaan primäärisen aminoryhmän. Tällaisia funktionaalisia ekvivalenttisia yhdisteitä ovat happokloridit, happobromidit, happoatsidit, aktivoidut esterit, happoanhydridit, sekoitetut happoanhydridit, erikoisesti sellaiset sekoitetut anhydridit, jotka on valmistettu voimakkaammista orgaanisista hapoista, kuten karbonihapon alemmat alifaattiset mono-esterit, ja sekoitetut anhydridit, jotka on valmistettu epäorgaanisista hapoista, kuten dikloorifosforihaposta. Lisäksi voidaan käyt-

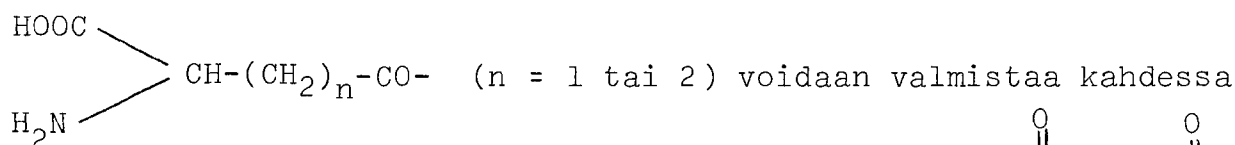
tää aktivoitua heterosyklistä amidia, kuten imidatsolidia, tai itse vapaa happo voidaan kytkeä amino-syklopropaniyhdisteen kanssa käyttämällä karbodi-imidireagenssia tai joitain muita yhdisteitä, kuten N-etyyli-5-fenyyli-isoksatsolium-3'-sulfonaattia, joka voi edistää amidin muodostusta sen jälkeen kun se on lisätty hapon ja amiinin seokseen.

b) Sellaisia kaavan I mukaisia yhdisteitä, joissa R^1 on vetyatomi, metyyli- tai etyyli-ryhmä, ja R^2 on ryhmä C_2H_5OCO- , voidaan myös valmistaa reaktion avulla sellaisen etanolin kanssa, jolla on kaava

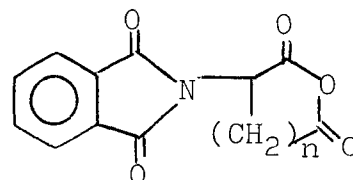


jossa R^1 on metyyli- tai etyyli-ryhmä, jolloin saadaan haluttuja tuotteita, joissa R^1 on metyyli- tai etyyli-ryhmä, joka sitten haluttaessa muutetaan osittaisen happohydrolyysin avulla sellaiseksi tuotteeksi, jossa R^1 on vety.

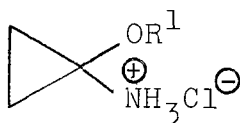
C. Sellaisia kaavan I mukaisia yhdisteitä, joissa R^2 on ryhmä



vaiheessa saattamalla yhdiste, jolla on kaava

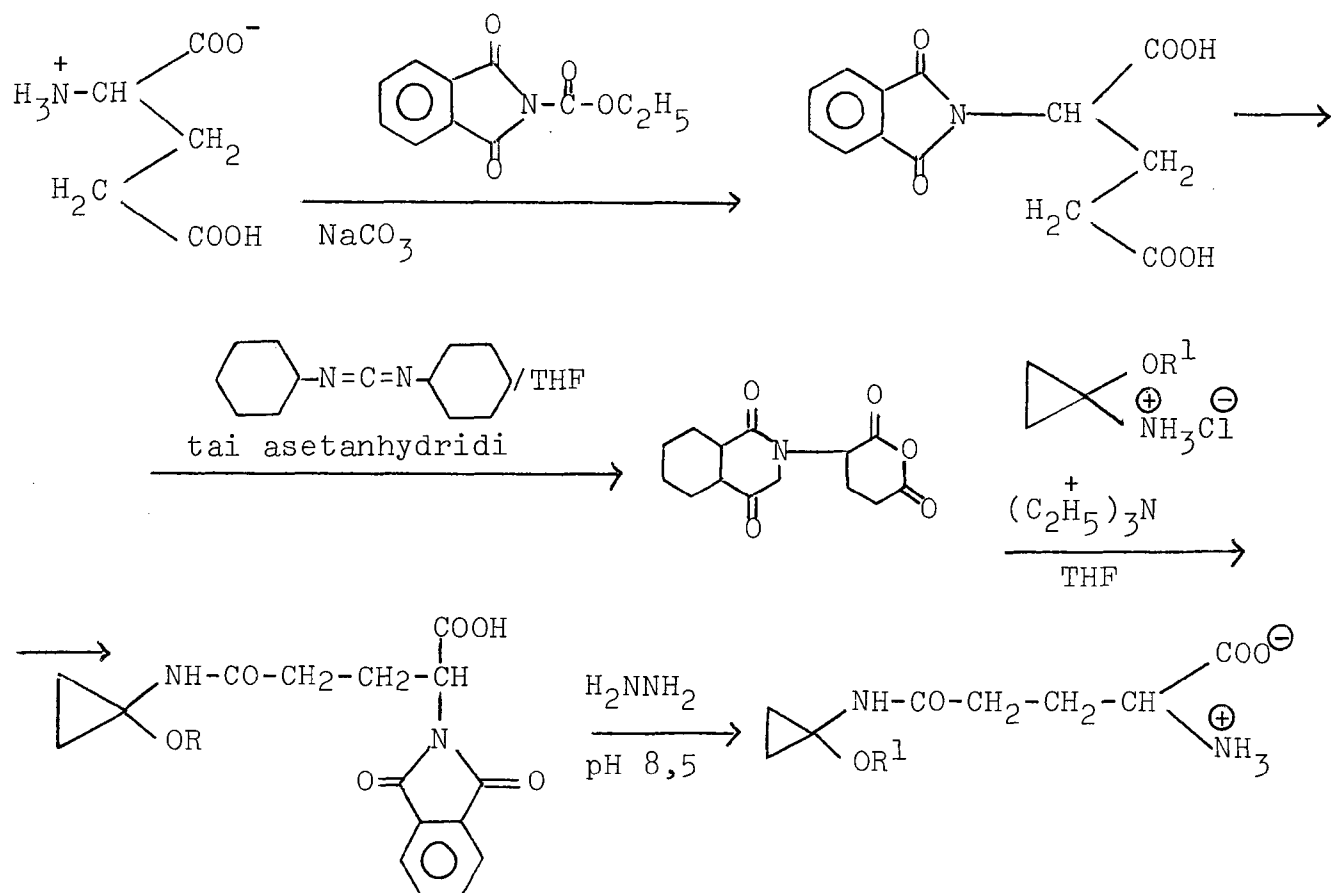


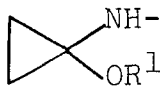
reagoimaan sellaisen yhdisteen kanssa, jolla on kaava



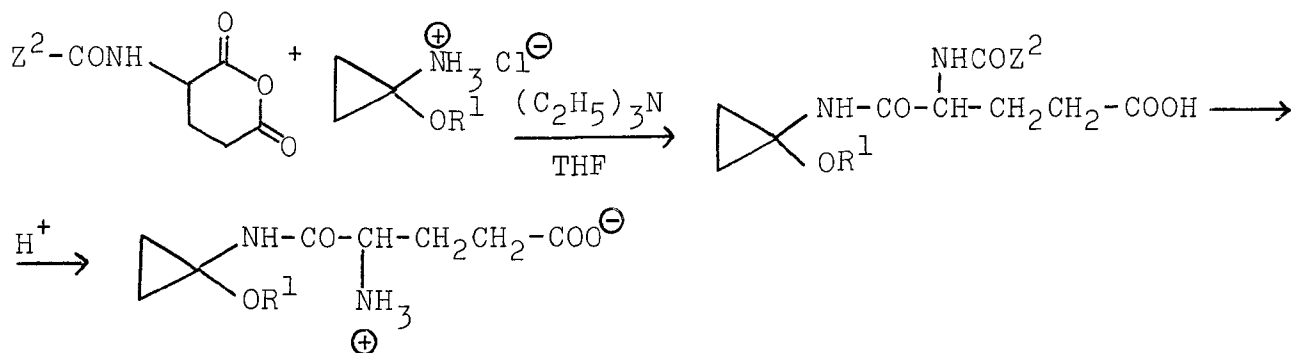
jossa kaavassa R^1 on vety, metyyli tai etyyli, oleellisesti kohdassa B.a) kuvatulla tavalla ja vapauttamalla tämän jälkeen aminoryhmä (esim. käsittelemällä hydratsiinilla).

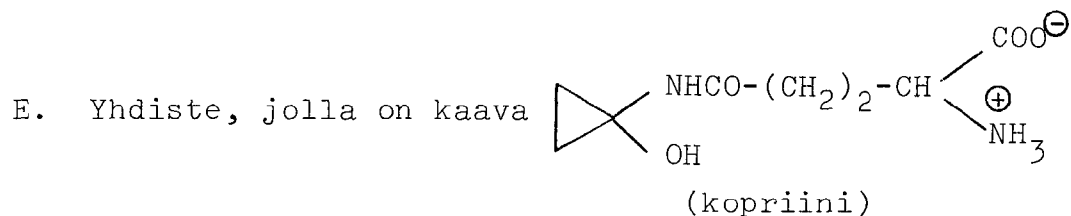
Alla oleva reaktiokaavio kuvaa esimerkkinä tällaista reaktiosarjaa:



D. Sellaista kaavan I mukaisia yhdisteitä, joissa R² on HOOC-(CH₂)_n-CH-CO- (n = 1 tai 2) voidaan valmistaa saattamalla sellainen yhdiste, jolla on kaava  (n = 1 tai 2), jossa kaavassa Z² on tertiäärinen butoksiryhmä tai trifluorimetyyliryhmä, reagoimaan hapon kanssa.

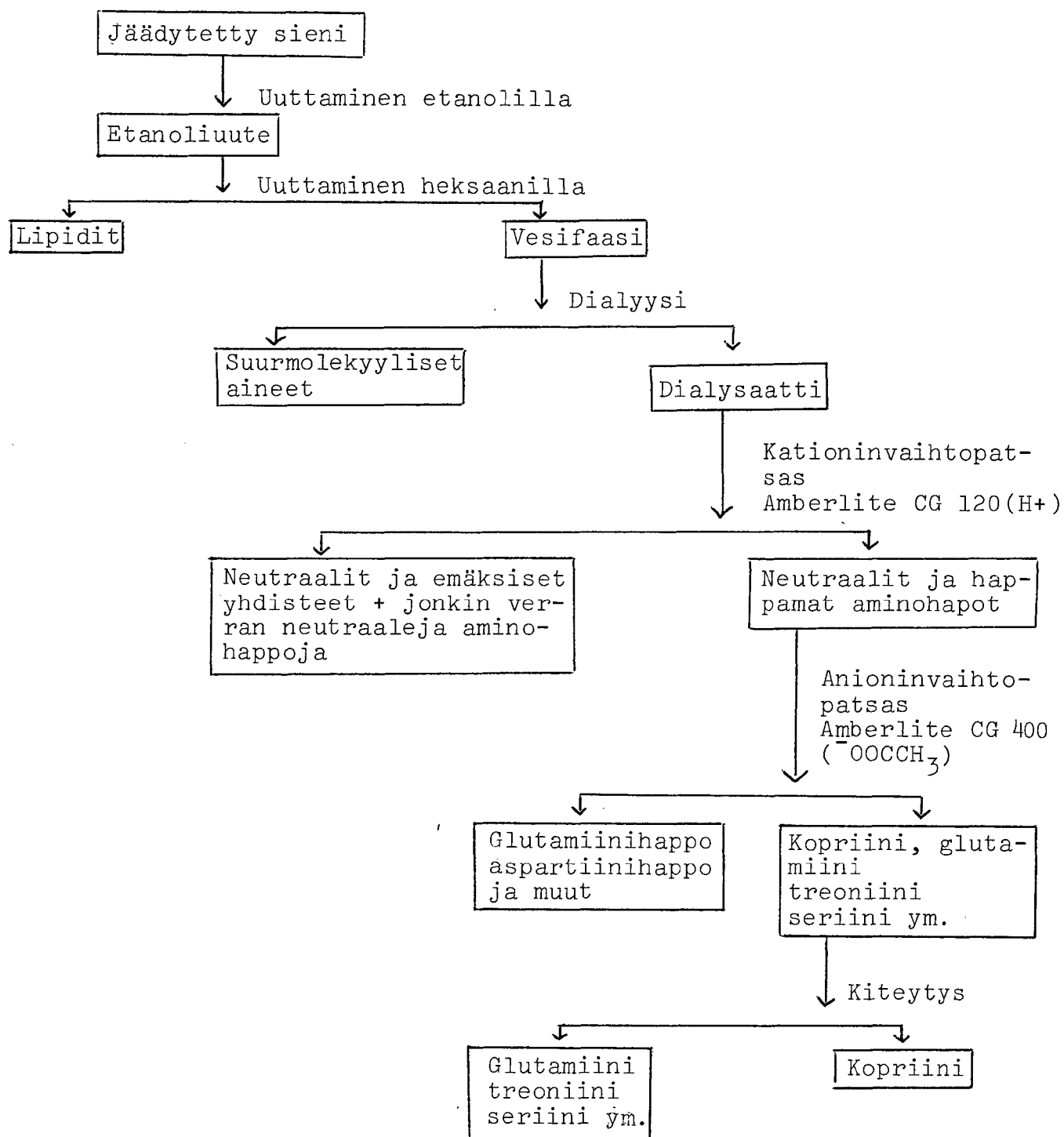
Seuraava reaktiokaavio kuvaa esimerkkinä näitä reaktiosarjoja:



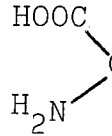


voidaan myös saada erottamalla se sienestä *Coprinus atramentarius*.

Erottaminen aloitetaan valmistamalla sienen etanoliuute. Uute vapautetaan lipideistä ja dialysoidaan tämän jälkeen. Dialysoitua tuotetta käsitellään kromatograafisesti voimakkaasti happamassa kationinvaihtopatsaassa. Happamat aminohapot poistetaan sitten asetaatilla kyllästetyn anioninvaihtajan avulla. Kopriini voidaan saada tämän jälkeen kiteyttämällä. Erottamisen eri vaiheet ilmenevät seuraavasta kaaviosta:

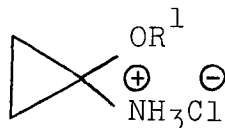


Sellaisten kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi, joissa

R^2 on ryhmä -CO-, C_2H_5OCO -, $CH_3(CH_2)_4CO$ -, $HOOC$  tai

$HOOC-(CH_2)_n-\underset{\substack{| \\ NH_2}}{CH}-CO$ ($n = 1$ tai 2) on todettu, että yhdiste, jolla

on kaava



jossa R^1 on vety, metyyli- tai etyyli-ryhmä, on arvokas välituote.

Näiden yhdisteiden valmistus on kuvattu edellä.

Seuraavassa esitetään muutamia keksinnön toteuttamisesimerkkejä.

Esimerkki 1, 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridi

Menetelmä A, a

Diatsonmetaanin (0,1 moolia) jäädytetty liuos (-78°) eetterissä (200 ml) lisätään samalla voimakkaasti sekoittaen sellaiseen liuokseen, jossa on keteeniä (0,3 moolia) metyleenikloridissa (400 ml, -78°). Lisäämisnopeus säädetään siten, että lämpötila pysyy arvossa alle -60° . Keteeniylimäärän pääosa haihdutetaan sitten (1 mm Hg, -70°) ja nestemäistä ammoniakkia (40 g, 2,4 moolia), joka on kyllästetty NH_4Cl :llä, lisätään nopeasti samalla huolellisesti sekoittaen. Suurin osa NH_3 -ylimäärää haihdutetaan samalla tavoin kuin keteeni. Lämpötila nostetaan sitten arvoon -50° ja 6-m HCl lisätään siksi, kunnes seos on hapan. Orgaaniset liuottimet haihdutetaan alipaineessa. NMR-spektrin perusteella sisältää jäljelle jäänyt vesiliuos ammoniumkloridin ja asetamidin lisäksi kolmea yhdistettä, nimittäin 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridia, N-(1-hydroksisyklopropyyli)-asetamidia ja bis(1-hydroksisyklopropyyli)-ammoniumkloridia. N-(1-hydroksisyklopropyyli)-asetamidi voidaan uuttaa happamasta seoksesta eetterillä, mutta siinä on tällöin epäpuhtautena asetamidia/. Sen jälkeen kun seos on saatettu 3-molaariseksi HCl:n suhteen ja pidetty lämpötilassa 80° 30 min, jää jäljelle ainoastaan 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridia. Lisäksi muodostuu etikkahappoa ja propionihappoa. Tuoteseoksen kokoomus pysyy muuttumattomana usean tunnin kuumentamisen jälkeen. Haihduttamisen jälkeen jää jäljelle 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridin ja NH_4Cl :n seos. Nämä kaksi aineosaa

voidaan erottaa toisistaan uuttamalla butanolilla alla olevan esi-
merkin 2 mukaisesti.

Esimerkki 2, 1-hydroksisysklopropyyliammoniumkloridi

Menetelmä A, b

1 -asetoksisysklopropanolia (440 mg, 3,8 mmoolia) /W.J.M. van Tilborg, Thesis, Amsterdam 1971⁷ lisätään liuokseen, jossa on ammoniumkloridia (205 mg, 3,8 mmoolia) 25 %:ssa ammoniakiliuoksessa (600 mg, 8,8 mmoolia NH_3). Seos tehdään happamaksi väkevällä HCl :llä ja sakka erotetaan suodattamalla. Suodoksen NMR-spektristä ilmenee, että siinä on läsnä bis(1-hydroksisysklopropyyli)-ammoniumkloridia, 1-hydroksisysklopropyyliammoniumkloridia ja 1,1-dihydroksisysklopropaania. Hapotettaessa edelleen (4-m HCl :ään saakka) ja kuumennettaessa lämpötilassa 90° 15 min, jää jäljelle 1-hydroksisysklopropyyliammoniumkloridia, propionihappoa, etikkahappoa ja ammoniumkloridia. Haihduttamisen jälkeen tyhjössä uutetaan jäännös useita kertoja n-butanolilla. Butanoliliuos haihdutetaan tyhjössä. Jäännökseen lisätään vettä ja se haihdutetaan usittin. Tämä menetelmä toistetaan useita kertoja, jolloin saadaan öljymäisenä tuotteena 1-hydroksisysklopropyyliammoniumkloridia (116 mg, 28 %); NMR (60 MHz): $\delta_{\text{D}_2\text{O}} = 1,17$ (s, 4H).

Esimerkki 3, 1-hydroksisysklopropyyliammoniumkloridi

Menetelmä A, c

Yhdisteeseen bis(1-hydroksisysklopropyyli)-amiini (50 mg) /W.J.M. van Tilborg, Thesis, Amsterdam 1971⁷ D_2O :ssa lisätään vähäinen ylimäärä väkevää HCl :ää. NMR-spektrissä on viiva, joka aiheutuu bis(1-hydroksisysklopropyyli)-ammoniumkloridista $\delta_{\text{D}_2\text{O}} = 1,25$ (s, 4H)⁷. Näytettä kuumennetaan lämpötilassa 80° 4 tuntia, jolloin saadaan 1-hydroksisysklopropyyliammoniumkloridia $\delta_{\text{D}_2\text{O}} = 1,17$ (s, 4H)⁷ ja propionihappoa. (hajoaminen on paljon nopeampaa korkeammissa HCl -väkevyyksissä). Haihdutettaessa saadaan öljymäisenä tuotteena 1-hydroksisysklopropyyliammoniumkloridia.

Esimerkki 4, 1-hydroksisysklopropyyliammoniumkloridi

Menetelmä A, d. Valmistetaan N-(1-hydroksisysklopropyyli)-asetamidista

N-(1-hydroksisysklopropyyli)-asetamia valmistettu saattamalla 1-hydroksisysklopropyyliammoniumkloridi reagoimaan etikkahappoanhydridin kanssa trietyyliamiinin läsnäollessa; sp. $81-85^\circ$; NMR (60 MHz): $\delta_{\text{CDCl}_3} = 0,70-1,26$ (m, 4H), 1,98 ja 2,26 (2s, kaikkiaan 3H), 5,0 (br. s, 1H), 7,2 (br. s, 1H), kaksi kiertoa⁷, liuotetaan 2-m HCl :ään

ja kuumennetaan lämpötilassa 80° 1 h. Tämä käsittely hydrolysoi kaiken lähtöaineen 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridiksi ja etikkahapoksi (NMR). Haihdutettaessa saadaan öljymäisenä tuotena 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridia kvantitatiivisella saannolla.

Esimerkki 5, 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridi

Menetelmä A, d. Valmistetaan N-(1-etoksisyklopropyyli)-t-butylikarbamaatista

N-(1-etoksisyklopropyyli)-t-butylikarbamaattia /T.H. Koch ja R.J. Sluski; Tetrahedron Lett., 2391 (1970)7 käsitellään 1-m HCl:llä lämpötilassa 60° 1 h. Liuos haihdutetaan tyhjössä, jolloin saadaan puhdasta k-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridia öljynä (kvantitatiivinen saanto).

Esimerkki 6, 1-metoksisyklopropyyliammoniumkloridi

Menetelmä A, d. Saatu N-(1-etoksisyklopropyyli)-t-butylikarbamaatista

N-(1-etoksisyklopropyyli)-t-butylikarbamaattia (12 g, 59,7 mmoolia) käsitellään 2-m HCl:llä (150 ml) lämpötilassa 60° 1 h. Saatu liuos haihdutetaan tyhjössä. Lisätään kuivaa metanolia (100 ml) ja liuos haihdutetaan. Tämä koe toistetaan kolmasti. Lopullinen haihduttaminen keskeytetään kun jäljelle on jäänyt muutama ml liuotinta ja lisätään abs. eetteriä, jolloin 1-metoksisyklopropyyliammoniumkloridi saostuu. Jäähdyttämisen, suodattamisen ja abs. eetterillä pesemisen jälkeen saadaan puhdasta 1-metoksisyklopropyyliammoniumkloridia, sp. 106-108 $^{\circ}$ (5,2, 71 %); NMR (60 MHz): δ^{CDCl_3} = 0,97 - 1,47 (m, 4H), 3,55 (s, 3H), 8,9 (br. s, 3H).

Esimerkki 7, 1-etoksisyklopropyyliamiini

Menetelmä A, d. Valmistettu N-(1-etoksisyklopropyyli)-t-butylikarbamaatista

N-(1-etoksisyklopropyyli)-t-butylikarbamaattia (4,0 g, 19,9 mmoolia) käsitellään 2-m HCl:llä (50 ml) lämpötilassa 60° 1 h ja liuos haihdutetaan tyhjössä. Sitten lisätään abs. etanolia ja haihdutetaan 4 kertaa. Lopullinen haihduttaminen keskeytetään kun muutama ml liuotinta on jäljellä ja lisätään abs. eetteriä (50 ml), jolloin saostuu 1-etoksisyklopropyyliammoniumkloridia. Suodatettaessa ja pestäessä abs. eetterillä saadaan puhdasta 1-etoksisyklopropyyliammoniumkloridia, sp. 96-98 $^{\circ}$ (2,2 g, 81 %); NMR (60 MHz): δ^{CDCl_3} = 0,97-1,47 (m, 4H), 1,23 (t, J = 7 Hz, 3H), 3,82 (q, J = 7 Hz, 2H), 8,9 (br. s, 3H).

1-etoksisyklopropyyliammoniumkloridia (1,0 g, 7,3 mmoolia) liuotetaan metyyliamiiniin (5 ml). Ylimääräinen metyyliamiini haihdutetaan ja jäännös tislataan, jolloin saadaan puhdasta 1-etoksisyklopropyyliamiinia (0,5 g, 50 %); NMR (60 MHz): δ^{CDCl_3} = 0,60-1,00 (m, 4H), 1,17 (t, J = 7 Hz, 3H), 2,25 (br. s, 2H), 3,55 (q, J = 7 Hz, 2H).

Esimerkki 8, 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridi

Menetelmä A, d. Valmistetaan N-(1-etoksisyklopropyyli)-bentsyylikarbamaatista

N-(1-etoksisyklopropyyli)-bentsyylikarbamaattia (valmistettu saattamalla 1-etoksisyklopropyyli-isosyanaatti reagoimaan bentsyylialkoholin kanssa, jota seuraa tislaminen, kp. 0,2 118-124°; NMR (60 MHz): δ^{CDCl_3} = 0,79 - 1,27 (m, 4H), 1,12 (t, J = 7 Hz, 3H), 3,60 (q, J = 7 Hz, 2H), 5,10 (s, 2H), 5,85 (br. s, 1H), 7,32 (s, 5H)), käsitellään ylimäärin käytetyllä HCl:llä lämpötilassa 90° 5 h. Haihdutettaessa vesifaasi uuttamisen jälkeen kloroformilla saadaan 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridia.

Esimerkki 9, 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridi

Menetelmä A, d. Valmistetaan 1-etoksisyklopropyyli-isosyanaatista

1-etoksisyklopropyyli-isosyanaattiin, /T, H. Koch, R.J. Sluski ja R.H. Moseley; JACS 95, 3957 (1973)/ lisätään ylimäärin 2-m HCl. Seoksen annetaan olla huoneen lämpötilassa 15 h. Haihdutettaessa tyhjöissä saadaan 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridia kvantitatiivisella saannolla.

Esimerkki 10, 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridi

Menetelmä A, e. Valmistetaan N-(1-etoksisyklopropyyli)-etyylikarbamaatista

Liuokseen, jossa on N-(1-etoksisyklopropyyli)-etyylikarbamaattia (0,17 g, 1,0 mmoolia) tetrahydrofuraanissa (0,5 ml), lisätään 6-m NaOH (0,5 ml). Seosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa 72 h, lisätään vettä (1 ml) ja seosta uutetaan kloroformilla. (Kloroformifaasi sisältää reagoimatonta lähtöainetta). Vesipitoinen faasi hapotetaan HCl:llä ja haihdutetaan tyhjöissä, jolloin saadaan 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridia (22 mg, 20 %).

Esimerkki 11, 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridi

Menetelmä A, f. Valmistetaan 1-piperidinosyklopropanolista

1-piperidinosyklopropanolia (200 mg, 1,42 mmoolia) käsitellään huoneen lämpötilassa 30 min ammoniumkloridiliuoksella (0,25 g, 4,7 mmoolia) 20 %:ssa ammoniakkiliuoksessa (2,0 g, 29,6 mmoo-

lia NH_3). Seos hapotetaan väkevällä HCl :llä ja sakka suodatetaan. (Suodoksen NMR-spektri vastaa 1-hydroksisysklopropyyliammoniumkloridin ja reagoimattoman lähtöaineen seosta). Tuote puhdistetaan uuttamalla liuos useita kertoja metyleenikloridilla, jota seuraa 1-hydroksisysklopropyyliammoniumkloridia ja NH_4Cl :ää sisältävän vesifaasin haihduttaminen. Käytettäessä esimerkissä 2 kuvattua butanoli-uuttamismenettelmää saadaan puhdasta 1-hydroksisysklopropyyliammoniumkloridia (8 mg, 5 %).

Esimerkki 12, 1-hydroksisysklopropyyliammoniumkloridi

Menetelmä A, g. Valmistetaan p-tosyyli-metyyli-isosyanidista (TosMIC)
Natriumhydridin (noin 50 % öljyssä, 0,96 g, noin 20 mmoolia) annetaan reagoida kuivan dimetyylisulfoksidin (5 ml) kanssa tetrahydrofuraanissa (25 ml, kuivattu natriumilla) 1 h huoneen lämpötilassa. Seos jäähdytetään lämpötilaan 0° , lisätään nopeasti 1,2-dibromietaania ja TosMIC /A.M. van Leusen ym., Tetrahedron Letters, 2367 (1972) 7 (1,96 g, 10 mmoolia) tetrahydrofuraanissa (25 ml) lisätään tipottain (30 min) lämpötilassa 0° . Kahden tunnin pituisen seisomisen jälkeen huoneen lämpötilassa erotetaan sakka suodattamalla ja suodos haihdutetaan kuiviin. Jäännös liuotetaan metyleenikloridiin (100 ml) ja liuos pestään vedellä (4 x 25 ml). Orgaaninen faasi kuivataan Na_2SO_4 :n avulla ja johdetaan Al_2O_3 -patsaaseen, joka elutoidaan sitten metyleenikloridilla. Eluaatti haihdutetaan kuiviin ja jäännös liuotetaan pieneen määrään kuivaa metanolia. Kun liuos jäähdytetään lämpötilaan 0° , erottuu tuote kiteisenä. Suodatettaessa ja pestäessä kylmällä eetterillä saadaan puhdasta 1-p-tosyyli-sysklopropyyli-isosyanaattia, sp. 126-127 $^\circ$ (1,3 g; 59 %); NMR (60 MHz): $\delta^{\text{CDCl}_3} = 1,43 - 2,05$ (m, 4H), 2,45 (s, 3H), 7,41 - 8,0 (m, 4H).

1-p-tosyyli-sysklopropyyli-isosyanidia (1,9 g, 8,6 mmoolia) käsitellään 1-m HCl :llä (40 ml) 2 h lämpötilassa 60° . Saatu liuos jäähdytetään lämpötilaan 0° ja saostunut p-tolueenisulfinihappo erotetaan suodattamalla ja pestään jääkylmällä 1-m HCl :llä. Suodosta kuumennetaan lämpötilassa 60° 30 min, jolloin muodostuu lisää sulfinihappoa, joka erotetaan samalla tavoin kuin edellä on kuvattu. Täten saatu suodos (noin 60 ml) uutetaan metyleenikloridilla (3 x 10 ml) ja orgaaninen faasi heitetään pois. Puhdasta 1-hydroksisysklopropyyliammoniumkloridia saadaan suodattamalla vesifaasi anioninvaihtajan lävitse ("Amberlite CG-4B"; 200-400 mesh, AcO^- -kyllästetty) 1-m HCl :ään, jota seuraa eluaatin haihduttaminen tyhjiössä tai erottamalla 1-etoksisysklo-

propyyliammoniumkloridi esimerkin 7 mukaisesti, jota seuraa kiteisen yhdisteen hydrolyysi ja haihduttaminen tyhjössä (710 mg, 75 %).

Esimerkki 13, N-(1-hydroksisyklopropyyli)-bentsamidi

Menetelmä B, a.

Bentsoylikloridia (4,2 g, 30 mmoolia) lisätään suspensioon, jossa on 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridia (2,67 g, 24,5 mmoolia) kuivassa tetrahydrofuraanissa. Trietyyliamiinia (6,5 g, 65 mmoolia) lisätään tipottain samalla sekoittaen ja jään avulla jäähdyttäen (1 h). Sakka erotetaan suodattamalla ja pestään tetrahydrofuraanilla. Saatu suodos haihdutetaan tyhjössä. Kiteinen jäännös kiteytetään uudelleen kloroformista, jolloin saadaan N-(1-hydroksisyklopropyyli)-bentsamidia, sp. 153-155° (3,0 g, 69 %); NMR = δ^{CDCl_3} = 0,87 - 1,38 (m, 4H), 4,7 (br. s, 1H), 7,3-7,9 (m, 6H, sisält. NH).

Esimerkki 14, N-(1-metoksisyklopropyyli)-bentsamidi

Menetelmä B, a.

Trietyyliamiinia (3,1 g, 30,5 mmoolia) lisätään tipottain (30 min) lämpötilassa 0° bentsoylikloridin (1,5 g, 12,2 mmoolia) liuokseen tetrahydrofuraanissa (25 ml), joka sisältää suspendoitua 1-metoksisyklopropyyliammoniumkloridia (1,82 g, 13,0 mmoolia). Seosta sekoitetaan sitten huoneen lämpötilassa 30 min. Sakka erotetaan suodattamalla ja pestään perusteellisesti tetrahydrofuraanilla. Suodos haihdutetaan tyhjössä, jolloin jäljelle jää kiteinen jäännös. Kiteytettäessä uudelleen metanolista saadaan puhdasta N-(1-metoksisyklopropyyli)bentsamidia, sp. 190-191° (1,2 g, 55 %); NMR (60 MHz) = δ^{CDCl_3} = 1,00-1,30 (m, 4H), 3,40 (s, 3H), 7,0 (br. s, 1H), 7,35-7,95 (m, 5H).

Esimerkki 15, N-(1-etoksisyklopropyyli)-bentsamidi

Menetelmä B, a.

Trietyyliamiinia (2,5 g, 25 mmoolia) lisätään tipottain lämpötilassa 0° 1-etoksisyklopropyyliammoniumkloridin (1,25 g, 9,15 mmoolia) ja bentsoylikloridin (1,4 g, 10 mmoolia) liuokseen kuivassa tetrahydrofuraanissa (20 ml). Sakka erotetaan suodattamalla ja suodos haihdutetaan tyhjössä, jolloin saadaan kiteinen jäännös. Sublimoimisen avulla, jota seuraa uudelleenkiteyttäminen sykloheksaanista, saadaan N-(1-etoksisyklopropyyli)-bentsamidia, sp. 108-109° (0,95 g, 51 %); NMR (60 MHz): δ^{CDCl_3} = 0,90 - 1,38 (m, 4H), 1,16 (t, J = 7 Hz, 3H), 3,77 (q, J = 7 Hz, 2H), 7,0 - 8,0 (1 m ja 1 br. s, yhteensä 6 H).

Esimerkki 16, N-(1-etoksisyklopropyyli)-kaproamidin
Menetelmä B, a.

Trietyyliamiinia (2,22 g, 22 mmoolia) lisätään tipottain (15 min) samalla voimakkaasti sekoittaen lämpötilassa 0° liuokseen, jossa on 1-etoksisyklopropyyliammoniumkloridia (1,37 g, 10 mmoolia) ja kaproylikloridia (1,34 g, 10 mmoolia) kuivassa tetrahydrofuraanissa (30 ml) ja seosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa 1 h. Sakka erotetaan suodattamalla ja suodos haihdutetaan tyhjössä. Kiteinen jäännös (1,85 g) liuotetaan petrolieetteriin (20 ml) ja liuos suodatetaan lyhyen piidioksidigeelikolonnin (2 cm x 10 cm) lävitse. Haihuttamisen jälkeen jäännös (1,30 g) kiteytetään uudelleen petrolieetteristä (alhaisessa lämpötilassa), jolloin saadaan puhdasta N-(1-etoksisyklopropyyli)-kaproamidia, sp. 47-48,5° (1,0 g, 50 %); NMR (60 MHz): δ^{CDCl_3} = 0,7-1,9 (m, 16H), 2,0-2,4 ja 2,4-2,8 (2 m, yhteensä 2H), 3,57 ja 3,63 (2q, J = 7,2 Hz, yhteensä 2H), 6,7 (br. s, 1H), (kaksi kiertoa).

Esimerkki 17, N-(1-metoksisyklopropyyli)-etyylikarbamaatti
Menetelmä B, a.

Trietyyliamiinia (2,55 g, 2,5 mmoolia) kuivassa tetrahydrofuraanissa (20 ml) lisätään tipottain (30 min) lämpötilassa 0° samalla sekoittaen liuokseen, jossa on kloorietyyliformaattia (1,13 g, 10,5 mmoolia) kuivassa tetrahydrofuraanissa (30 ml), ja joka sisältää suspendoitua 1-metoksisyklopropyyliammoniumkloridia (1,23 g, 10 mmoolia). Seosta sekoitetaan sitten huoneen lämpötilassa 1 h. Sakka erotetaan suodattamalla ja suodos haihdutetaan tyhjössä. Jäännös tislataan ("vigreux"-patsas), jolloin saadaan puhdasta N-(1-metoksisyklopropyyli)-etyylikarbamaattia; NMR (60 MHz): δ^{CDCl_3} = 0,79-1,23 (m, 4H), 1,24 (t, J = 7 Hz, 3H), 3,32 (s, 3H), 4,13 (q, J = 7 Hz, 2H), 6,0 (br. s, 1H).

Esimerkki 18, N-(1-etoksisyklopropyyli)-etyylikarbamaatti
Menetelmä B, a.

Trietyyliamiinia (2,55 g, 2,5 mmoolia) kuivassa tetrahydrofuraanissa (20 ml) lisätään tipottain (30 min) lämpötilassa 0° samalla sekoittaen kloorietyyliformaatin (1,13 g; 10,5 mmoolia) liuokseen kuivassa tetrahydrofuraanissa (30 ml), joka sisältää suspendoitua 1-etoksisyklopropyyliammoniumkloridia (1,37 g, 10 mmoolia). Seosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa 1 h. Sakka erotetaan suodattamalla ja suodos haihdutetaan tyhjössä. Jäännös tislataan ("vigreux"-patsas),

jolloin saadaan N-(1-etoksisyklopropyyli)-etyylikarbamaattia, kp. 0,8 69° (1,5 g, 86 %); NMR (60 MHz): δ^{CDCl_3} = 0,79 - 1,23 (m, 4H), 1,13 (t, J = 7 Hz, 3H), 1,24 (t, J = 7 Hz, 3H), 3,64 (q, J = 7 Hz, 2H), 4,13 (q, J = 7 Hz, 2H), 5,85 (br. s, 1H).

Esimerkki 19, N-(1-hydroksisyklopropyyli)-etyylikarbamaatti
Menetelmä B, b.

a) Abs. etanolia (2,0 g, 43,5 mmoolia) ja trietyyliamiinia (3 tip-paa) lisätään 1-etoksisyklopropyyli-isosyanaattiin (1,53 g, 12,1 mmoolia) ja seoksen annetaan olla lämpötilassa 40° 1 h. Sitten lisätään pentaania (2 ml), seos jäädytetään jään avulla ja sakka, jonka muodostaa N,N'-bis-(1-etoksisyklopropyyli)-urea (90 mg) erotetaan suodattamalla. Suodos haihdutetaan ja jäännös tislataan, jolloin jäljelle jää puhdasta N-(1-etoksisyklopropyyli)-etyylikarbamaattia kp. 0,8 69° (1,64 g, 78 %); NMR (60 MHz): δ^{CDCl_3} = 0,79 - 1,23 (m, 4H), 1,13 (t, J = 7 Hz, 3H), 1,24 (t, J = 7 Hz, 3H), 3,64 (q, J = 7 Hz, 2H), 4,13 (q, J = 7 Hz, 2H), 5,85 (br. s, 1H).

b) Liuosta, jossa on N-(1-etoksisyklopropyyli)-etyylikarbamaattia (100 mg, 0,58 mmoolia) 2-m HCl:ssä (1 ml), kuumennetaan lämpötilassa 90° 2 min. Liuos haihdutetaan tyhjöissä, jolloin saadaan N-(1-hydroksisyklopropyyli)-etyylikarbamaattia (67,5 mg, 80 %); NMR (60 MHz): δ^{CDCl_3} = 0,79 - 1,23 (m, 4H), 1,24 (t, 3H), 2,8 (br. s, 1H), 4,13 (q, 2H), 6,4 (br. s, 1H).

Esimerkki 20, Kopriini(N⁵-(1-hydroksisyklopropyyli)-L-glutamiini)
Menetelmä C.

Trietyyliamiinia (14,0 g, 0,135 moolia) liuotettuna kuivaan tetrahydrofuraaniin (75 moolia) lisätään tipottain (1 h) jään avulla jäädytettyyn ftaloyyli-L-glutamiinihappoanhydridin liuokseen (35,0 g, 0,135 moolia) [Nefkens ym., Rec. Trav. Chim. 79, 688 (1960)] tetrahydrofuraanissa (225 ml), joka sisältää suspendoitua 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridia (13,6 g, 0,124 moolia). Seosta sekoitetaan 1 h huoneen lämpötilassa, sakka erotetaan suodattamalla ja suodos haihdutetaan tyhjöissä. Jäännös liuotetaan veteen (500 ml) natriumkarbonaatin avulla (pH-arvoon 7). Sitten lisätään hydratsiinihydraattia (7,5 g, 0,15 moolia) ja seoksen annetaan olla huoneen lämpötilassa 4 h ja se hapotetaan sitten (pH-arvoon 1,5) väkevän HCl:n avulla. Ftaloyylihydratsidi erottuu kiteisenä seisomisen jälkeen yli yön ja erotetaan suodattamalla. Suodos elutoidaan kationinvaihto-

kolonnin ("Amberlite CG 120", 200-400 mesh, 50 cm x 3 cm, H^+ -muoto) lävitse. Patsas pestään vedellä ja elutoidaan 0,3-m natriumhydroksidilla (kromatograafinen syrjäyttäminen). Kopriinipitoiset fraktiot yhdistetään ja johdetaan asetaatilla kyllästetyn anioninvaihtajan ("Amberlite CG 4B", 200-400 mesh, 10 cm x 4 cm) lävitse glutamiinihapon eliminoimiseksi ja muiden epäpuhtauksien poistamiseksi. Haihdutettaessa eluaatti saadaan liteinen jäännös (16 g), joka on käytännöllisesti katsoen puhdasta kopriinia. Kiteytettäessä uudelleen vesi-etanolista saadaan puhdasta kopriinia, sp. $197-199^\circ$ (14,0 g, 56 %); $[\alpha]_D^{25} = +7,6^\circ$; NMR (100 MHz): $\delta_{D_2O} = 0,81 - 1,14$ (m, 4H), 1,99 - 2,24 (m, 2H, H_2C-3), 2,31 - 2,49 (m, 2H, H_2C-4), 3,77 (t, 1H, HC-2).

Esimerkki 21, O-etyylikopriini (N^5 -(1-etoksisyklopropyyli)-L-glutamiini)

Menetelmä C.

Trietyyliamiinia (7,6 g, 76,5 mmoolia) liuotettuna kuivaan tetrahydrofuraaniin (50 ml) lisätään tipottain (30 min) jään avulla jäähdytettyn ftaloyyli-L-glutamiinihappoanhydridin (19,8 g, 76,5 mmoolia) ja 1-etoksisyklopropyyliammoniumkloridin (10,5 g, 76,5 mmoolia) liuokseen kuivassa tetrahydrofuraanissa (250 ml). Sakka erotetaan suodattamalla ja suodos haihdutetaan tyhjiössä. Jäännös liuotetaan veteen (500 ml) natriumkarbonaatin avulla (pH-arvoon 8). Sitten lisätään hydratsiinihydraattia (4,0 g, 80 mmoolia) ja seoksen annetaan olla huoneen lämpötilassa 4 h ja se hapotetaan sitten pH-arvoon 1,5) väkevän HCl:n avulla. Ftaloyylihydratsidi erottuu kiteisenä seistytään yli yön ja se erotetaan suodattamalla. Suodos elutoidaan kationinvaihtopatsaan ("Amberlite CG 120", 200-400 mesh, 40 cm x 2,5 cm, H^+ -muoto) lävitse. Patsas pestään vedellä ja elutoidaan 0,3-m natriumhydroksidilla (kromatograafinen syrjäytys). O-etyylikopriinia sisältävät fraktiot yhdistetään ja johdetaan asetaatilla kyllästetyn anioninvaihtajan ("Amberlite CG 4B", 200-400 mesh, 10 cm x 4 cm) lävitse glutamiinihapon ja muiden epäpuhtauksien poistamiseksi. Haihdutettaessa eluaatti saadaan kiteinen jäännös (12 g), joka on käytännöllisesti katsoen puhdasta O-etyylikopriinia. Kiteytettäessä uudelleen vesi-etanoli-asetoni-eetteristä saadaan puhdasta O-etyylikopriinia, sp. $183-184^\circ$ (10,5 g, 59,5 %); $[\alpha]_D^{25} = +5,2^\circ$ (H_2O); NMR (60 MHz): $\delta_{D_2O} = 0,73 - 1,25$ (m, 4H), 1,12 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H), 1,84 - 2,62 (m, 4H), 3,60 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H), 3,71 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H).

Esimerkki 22, N^4 -(1-hydroksisyklopropyyli)-L-asparagiiniMenetelmä C

Trietyyliamiinia (5,5 g, 54,5 mmoolia) kuivassa tetrahydrofuraanissa (50 ml) lisätään tipottain (30 min) lämpötilassa 0° samalla sekoittaen liuokseen, jossa on ftaloyyli-L-aspartiinihappoanhydridiä (12,3 g, 50 mmoolia) kuivassa tetrahydrofuraanissa (200 ml) ja joka sisältää suspendoitua 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridia (5,45 g, 50 mmoolia). Sekoittamista jatketaan huoneen lämpötilassa 1 h. Sakka erotetaan suodattamalla ja suodos haihdutetaan tyhjöissä. Jäännös liuotetaan veteen (200 ml) natriumkarbonaatin avulla (pH-arvoon 7). Lisätään hydratsiinihydraattia (3,0 g, 60 mmoolia) ja seoksen annetaan olla huoneen lämpötilassa 4 h ja se hapotetaan sitten (pH-arvoon 1,5) väkevällä HCl:llä. Ftaloyylihydratsidi erottuu kiteisenä seisomisen jälkeen yli yön ja se erotetaan suodattamalla. Suodos elutoidaan kationinvaihtopatsaan ("Amberlite CG 120", 200-400 mesh, 35 cm x 3 cm) lävitse. Patsas pestään vedellä ja elutoidaan 0,3-m natriumhydroksidilla (syrjäytys kromatograafisesti). Fraktiot, jotka sisältävät N^4 -(1-hydroksisyklopropyyli)-L-asparagiinia (TLC: BuOH-asetoni- H_2O - Et_2NH , 10:5:5:3/selluloosa, r_f = 0,36, oranssivärinen läikkä ninhydriinin avulla), yhdistetään ja johdetaan asetaatilla kyllästetyn anioninvaihtajan ("Amberlite CG 4B, 200-400 mesh, 10 cm x 3 cm) lävitse aspartiinihapon ja muiden epäpuhtauksien poistamiseksi. Haihdutettaessa eluaatti saadaan kiteinen jäännös, josta uudelleenkiteyttämisen jälkeen vesi-etanolista saadaan puhdasta N^4 -(1-hydroksisyklopropyyli)-L-asparagiinia (1,0 g, 10,5 %); NMR (60 MHz): δ^{D_2O} = 0,75 - 1,22 (m, 4H), 2,70 - 2,97 (m, 2H), 4,00 (dd, J_1 = 5,0 Hz, J_2 = 6,6 Hz, 1H). Pääasiallinen sivutuote on isomeeri N^1 -(1-hydroksisyklopropyyli)-L-isoasparagiini (NMR (60 MHz): δ^{D_2O} = 0,75 - 1,22 (m, 4H), 2,63 - 2,90 (m, 2H), 4,15 (dd, J_1 = 5,7 Hz, J_2 = 7,0 Hz, 1H).

Esimerkki 23, isokopriini (N^1 -(1-hydroksisyklopropyyli)-L-iso-glutamiiniMenetelmä D.

Trietyyliamiinia (20,2 g, 0,20 moolia) tetrahydrofuraanissa (100 ml) lisätään tipottain (30 min) lämpötilassa 0° liuokseen, jossa on tri-fluoriasetamido-L-glutamiinihappoanhydridia (49,5 g, 0,22 moolia) /Weygand ja Reiher, Ber. 88, 26 (1955)/ tetrahydrofuraanissa (400 ml), joka sisältää myös suspendoitua 1-hydroksisyklopropyyliammoniumkloridia (21,8 g, 0,20 moolia). Seosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa

1 h. Sakka erotetaan suodattamalla ja suodos haihdutetaan tyhjöissä. Jäännökseen lisätään 12 %:sta ammoniakkiuosta (400 ml). 24 h:n kuluttua huoneen lämpötilassa ammoniakki haihdutetaan tyhjöissä (25°). Lisätään vettä (400 ml) ja liuos suodatetaan kationinvaihtopatsaan ("Amberlite CG 120", 200-400 mesh, 50 cm x 2,5 cm, H⁺-muoto) lävitse. Patsas pestään vedellä ja elutoidaan 0,3-m natriumhydroksidilla (kromatograafinen syrjäyttäminen). Isokopriinia sisältävät fraktiot /TLC: BuOH-asetoni-H₂O-Et₂NH, 10:5:5:3/selluloosa, R_F = 0,30, keltainen läikkä (myöhemmin sininen) ninhydriinillä⁷ yhdistetään keskenään ja johdetaan asetaatilla kyllästetyn anioninvaihtajan ("Amberlite CG 4B, 200-400 mesh, 10 cm x 4 cm) lävitse. Eluaatti haihdutetaan kuiviin tyhjöissä. Kiteytettäessä metanoli-etanolista saadaan isokopriinia (4,0 g, 10 %); NMR (60 MHz): δ^{D_2O} = 0,77 - 1,26 (m, 4H), 1,86-2,50 (m, 4H), 3,95 (t, 1H).

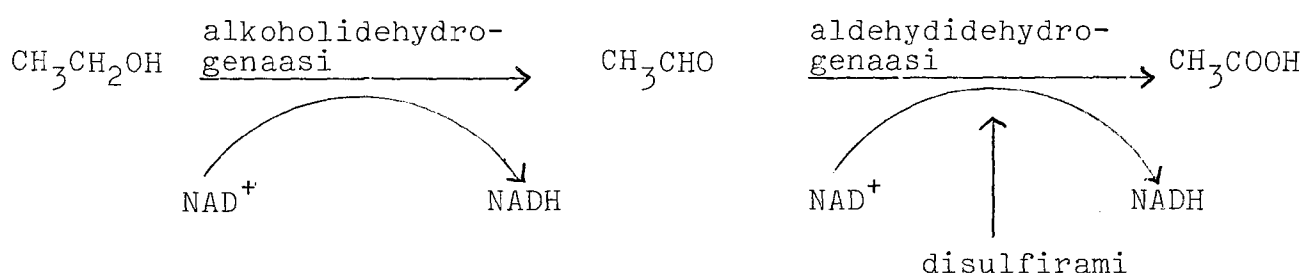
Esimerkki 24, kopriini (N⁵-(1-hydroksisysyklopropyyli)-L-glutamiini)
Menetelmä E.

Jäädytettyjä tuoreita sieniä (65,2 kg) hienonnetaan murskauslaitteessa yhdessä 95 %:sen etanolin (62 l) kanssa. Liete sekoitetaan "celiten" kanssa ja suodatuskakut puristetaan (20 kp/cm²). Saatu uute haihdutetaan alipaineessa (kylvyn lämpötila 40°). Jäännös laimennetaan vedellä noin 5 litraksi ja uutetaan heksaanilla (3 x 2,5 l). Uute heitetään pois. Vesifaasi (kuivapaino 1,5 kg) dialysoidaan vaihteittain puhtaan veden avulla (korkean molekyylipainon omaavan jäännöksen kokonaismäärä 78 g). Dialysoitavaa materiaalia (93 l liuosta) käsitellään ilman edeltävää väkevöimistä syrjäytyskromatografian avulla käyttäen voimakkaasti hapanta kationinvaihtajaa ("Amberlite CG 120", 200-400 mesh). Liuosta käsitellään käyttäen seitsemää yhtä suurta annosta ioninvaihtopatsaissa, joiden dimensiot ovat: halkaisija 8 cm ja korkeus 15 cm. Näytteen lisäämisen jälkeen pestään patsas vedellä ja elutoidaan 0,15-m NaOH:lla siksi, kunnes näkyvä alkalinen rintama alkaa siirtyä. Happamat aminohapot, jotka elutoituvat ensin ja suurin osa neutraaleja aminohappoja yhdistetään keskenään (kaikkiaan 120 g) ja kromatografoidaan uudelleen (0,25-m NaOH) jonkin verran pitemmässä patsaassa (halkaisija 8 cm, pituus 21 cm). Fraktiot, jotka sisältävät kopriinia yhdessä glutamiinihapon, aspartiinihapon, treoniinin ja seriinin osan kanssa, ovat kiteisiä (kaikkiaan 60,5 g). Glutamiinihappo, aspartiinihappo ja jonkin verran muita happamia yhdisteitä (13,2 g) poistetaan johtamalla asetaatilla kyllästetyn anioninvaihtajan ("Amberlite CG 400", 200-400 mesh,

halkaisija 8 cm, pituus 6 cm) lävitse. Eluaatit yhdistetään ja väkevöidään, jolloin saadaan kiteinen jäännös (23,6 g). Kiteytettäessä tämä materiaali useamman kerran uudelleen vesi-etanolista ja käytettäessä sen lisäksi emäliuosten ioninvaihto-syrjäytyskromatografiaa saadaan puhdasta kopriinia, sp. 197-199° (7,3 g); $[\alpha]_D^{25} = +7,6^\circ$ (H₂O); NMR (100 MHz): $\delta_{D_2O} = 0,81-1,14$ (m, 4H), 1,99-2,24 (m, 2H, H₂C-3), 2,31-2,49 (m, 2H, H₂C-4), 3,77 (t, 1H, HC-2).

Farmakologiset kokeet

Etanoli muutetaan in vivo etikkahapoksi seuraavan käsittelysarjan avulla



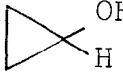
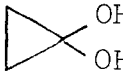
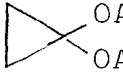
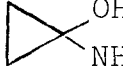
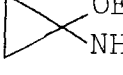
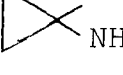
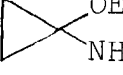
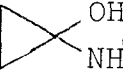
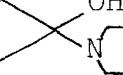
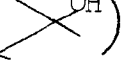
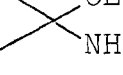
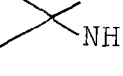
A. Keksinnön mukaisia yhdisteitä on keksitty tarkoituksella tutkia niiden vaikutusta etanolin aineenvaihtoon rotissa. Näiden yhdisteiden on todettu lisäävän kaasukromatograafisesti määrättyä asetaldehydi/-etanolisuhdetta rottien hengitysnäytteissä. Tämä on tulkittu seuraukseksi asetaldehydin dehydrogenaasin estymisestä.

Sellaisten kokeiden tulokset, jotka käsittävät oraalisen syöttämisen. Urospuolisten Sprague-Dawley-rottien, 170-370 g, annettiin paastota yli yön, mutta ne saivat vapaasti vettä. Seuraavana aamuna lääkettä annettiin vesiliuoksena (0,9 %:ssa suolaliuoksessa) kumisen syöttöputken avulla, joka oli johdettu oesophaguksen lävitse mahaan. Annoksen tilavuus oli melkein kaikissa tapauksissa 10 ml/kg. Johtuen N-(1-hydroksisyklopropyyli)-bentsamidin ja sen etyylietterin huonomasta liukoisuudesta oli käytettävä 20 ml/kg suuruisia annoksia näiden yhdisteiden suurempien annostusten aikaansaamiseksi. Kaproamidi-johdannaisen kysymyksessä ollessa käytettiin väliaineena etanolin ja 0,9 %:sen suolaliuoksen 1:1-seosta.

Kuusi tuntia myöhemmin annettiin etanolia (3 g/kg) samaa tekniikkaa käyttäen kuin vesiliuosta (20 % p/t). Annoksen tilavuus oli 15 ml/kg. 30-45 minuuttia etanolin annostelun jälkeen otettiin rotista kolme hengitysnäytettä. Rotat pakotettiin hengittämään 30 sekunnin ajan

kumiputkeen (25 ml). Noin 6 ml:n kaasunäyte poistettiin kumiseinän lävitse kaasutiiviin 10 ml:n Hamilton-ruiskun avulla. Kunkin talteenottamisen jälkeen putki ja ruisku puhdistettiin typen avulla. 5 ml kaasunäytettä injektoitiin kaasukromatograafiseen laitteeseen ("Hewlett-Packard 5711"), joka oli varustettu sellaisella patsaalla (6 mm x 2 mm), joka sisälsi tuotetta "Porapak N" (50-80 mesh). Patsaan lämpötila oli 160°C ja kantajakaasun (N₂) virtausnopeus 30 ml/min. Laitteen herkkyys tutkittiin joka päivä ennen koesarjaa ja sen jälkeen injektoimalla 500 µl tavannomaista kaasuseosta, joka sisälsi 100 ng/ml sekä etanolia että asetaldehydiä. Eläinkokeissa huippukorkeudet mitattiin tämän jälkeen ja laskettiin asetaldehydi/etanoli-suhde. Näiden kolmen mittauksen keskiarvo kunkin eläimen suhteen laskettiin ja tämä arvo on esitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. Asetaldehydi/etanoli $\times 10^3$ mitattuna selllaisten kokeiden avulla, jotka käsittävät annostelun per os.

Yhdiste	Annos (mg/kg)					
Nimi	1	3	9	27	81	243
Kopriini		0	13.5	29.5,38.2	61.4	82.9,153
Etyylikopriini			0	9.5,20.3	12.3,82.4	81.4
			1,6	1.2,2.2	22.1,46.1	
		3.5,7.7,25.6	18.7,47.7	13.4,40.7	30.0,86.3	
			1.7,4.6	32.6,54.4	121	
						0,0
					0	
			0,4.0	16.0,24.9	28.6,44.4	78,6
				27.6,52.7	50.8,96.1	
		0	15.9	22.1,29.1	21.2,75.6	67.6,101
			0	14.2	28.0	39.3
	14.6	25.0	43.1,65.9	171	120	
				18.8,24.5	42.2,73.1	
			18.7	23.3,65.3	73.0	26.2

B. Kopriinin ja disulfiramien vertaileva koe niiden vaikutuksen suhteen asetaldehydin dehydrogenaasin ja dopamiini- β -hydroksilaasin rotissa suoritettiin sitten. Kaasukromatograafisesti määrätty asetaldehydin ja etanolin suhde rotan keuhkorakkula-ilmassa pidettiin aldehydidehydrogenaasin estymisen mittapuuna, kun taas ^{14}C -oktopamiinin (^{14}C -DA) muodostumista intravenööttisesti annetusta ^{14}C -tyramiinista (^{14}C -TA) saman rotan sydämessä (sylkirauhanen ja reisi-lihas) käytettiin dopamiini- β -hydroksilaasin estymismäärän mittapuuna.

Urospuolisille Sprague-Dawley-rotille, joiden paino oli 150-300 g, annettiin kokeiltavia yhdisteitä intraperitoneaalisesti. Kopriini liuotettiin 0,9 %:seen suolaliuokseen ja disulfiram suspendoitiin suolaliuokseen "CMC:n" ja "Tween 80" avulla (loppuväkevyydet vastaa-vasti 1 % p/t ja 0,4 % p/t). Etanolia annettiin 2 g/kg (vesiliuos 20 % p/t) intraperitoneaalisesti 30 min ennen 50 $\mu\text{g/kg}$ ^{14}C -tyramiinin intravenööttistä annostelua. Rottien keuhkorakkuloista tuleva ilma analysoitiin kaasukromatograafisesti asetaldehydin ja etanolin suhteen kolmasti seuraavan 15 minuutin kuluessa, jonka jälkeen rotat tapettiin väkevän kloroformihöyryn avulla ja sydän erotettiin, uutettiin 0,4-n perkloorihapolla ja analysoitiin ^{14}C -OA- ja ^{14}C -EA-määrien suhteen.

Kaasukromatograafinen menetelmä on kuvattu edellä ja tyramiinin β -hydroksyloimisen määräyksen ovat esittäneet Carlsson ja Waldeck 1963 (Acta pharmacol. et toxicol. 20, 371-374).

Aikakäyrät merkittiin käyttäen tavanomaista annosta 150 mg/kg i.p. kopriinia ja disulfiramia. Kolmen rotan asetaldehydi/etanolisuhteiden keskiarvot ($\pm$ s.e.m.) kunakin ajankohtana laskettiin sitten ja ne on esitetty taulukossa 2. Tästä tutkimuksesta ilmenee selvästi, että kopriinin samoin kuin disulfiramien tehokas vaikutus asetaldehydidehydrogneaasin estämiseksi on vähintään 72 h rotissa. Voidaan myös todeta, että kopriini on huomattavasti voimakkaampaa kuin disulfiram. 144 tunnin kuluttua asetaldehydin ja etanolin suhde on taas normaali.

Kopriinin vaikutus ^{14}C -OA:n muodostumiseen ^{14}C -TA:sta oli pieni (taulukko 3) ja disulfiram alensi ^{14}C -OA-saantoa noin 10 % normaalisti 1 tunnin kuluttua. Samanaikaisesti esiintyi muuttumattoman ^{14}C -TA:n määrän kasvu. Kuuden tunnin kuluttua alkoi ^{14}C -OA:n määrä

lisääntyä ja se oli normaaliarvoissa 72 h disulfiramin annostelun jälkeen.

Annosherkkyyskäyrät piirrettiin kahtena eri ajankohtana, nimittäin 2 ja 18 tunnin kuluttua lääkkeen eri annosten annostelun ja 2 g/kg etanolin annostelun välillä. Asetaldehydi/etanolisuhteen kasvun keskiarvot ($\pm$ s.e.m.) on esitetty taulukossa 4. Kahden tunnin jaksoa käytettäessä oli 81 mg/kg disulfiramia suuruinen annos minimiannos, joka aikaansai lisääntyneen asetaldehydi/etanolisuhteen. Kopriini sisälsi asetaldehydi/etanolisuhdetta jo annoksena 3 mg/kg. Kopriinin annosherkkyyskäyrä 18 tunnin kuluttua oli hyvin samanlainen kuin 2 tunnin kuluttua, kun taas disulfiramin suurempi tehokkuus voitiin todeta 18 tunnin kuluttua 2 tuntiin verrattuna erikoisesti suurempia annoksia käytettäessä.

Kopriinilla on marginaalivaikutus ainoastaan ^{14}C -OA:n saannon suhteen ^{14}C -TA:sta (taulukko 5). Toiselta puolen disulfiram huomattavasti pienensi ^{14}C -C-DA-saantoa ja annoksena 3 mg/kg annettuna 2 h etukäteen. Kun sitä annettiin 18 h etukäteen voitiin todeta huomattava ^{14}C -OA-saannon pieneneminen vasta käytettäessä 81 mg/kg annosta.

Täten ilmenee, että kopriini salpaa selektiivisesti aldehydidehydrogenaasin, kun taas disulfiram sen lisäksi estää dopamiini- β -hydroksilaasin muodostumisen. Näin ollen kopriini näyttää olevan paljon tehokkaampaa disulfiramiin verrattuna aldehydidehydrogenaasin estoineena.

Taulukko 2 Asetaldehydi/etanoli $\times 10^3$ rottien keuhkorakkulailmassa eri aikoina sen jälkeen, kun on annettu 150 mg/kg kopriinia tai disulfiramia. Etanolia annettiin 2 g/kg 1/2 tuntia ennen mittausta. Tulokset ovat yleensä kolmen kokeen keskiarvoja $\pm$ s.e.m. Vertailuarvot perustuvat 8 kokeeseen: $1,9 \pm 0,3$.

<u>Aika (tuntia)</u>	<u>Kopriini</u>	<u>Disulfiram</u>
1	$50,8 \pm 12,7$	$2,4 \pm 0,4$
2	$49,8 \pm 0,6$	$16,8 \pm 4,8$
4	$90,1 \pm 42,1$	$30,0 \pm 14,9$
6	$80,9 \pm 12,1$	$20,2 \pm 4,0$
18	$55,2 \pm 4,3$	$31,2 \pm 4,8$
24	$54,5 \pm 1,9$	$34,9 \pm 14,1$
48	$69,8 \pm 24,0$	$17,6 \pm 0,9$
72	$32,2 \pm 4,0$	$14,9 \pm 3,0$
144	$3,2 \pm 0,8$	$3,5 \pm 0,4$

Taulukko 3 Kopriinin ja disulfiramin vaikutus ^{14}C -oktopamiinin (^{14}C -OA) saantoon, joka on muodostunut ^{14}C -tyramiinista (^{14}C -TA) rotan sydämessä. Aika laskettu sen jälkeen, kun on annosteltu 150 mg/kg. Koe on identtinen taulukossa 1 esitetyn esimerkin kanssa. Arvot perustuvat yleensä 3 kokeen keskiarvoihin $\pm$ s.e.m. (ng/g kudosta). Vertailuarvot ovat $23,2 \pm 2,4$ ja $3,7 \pm 1,1$ vastaavasti ^{14}C -OA:n ja ^{14}C -TA:n suhteen.

<u>Aika (tuntia)</u>	<u>Kopriini</u>		<u>Disulfiram</u>	
	^{14}C -OA	^{14}C -TA	^{14}C -OA	^{14}C -TA
1	$15,2 \pm 5,9$	$2,5 \pm 1,2$	$1,5 \pm 0,9$	$9,7 \pm 0,5$
2	$20,8 \pm 2,0$	$6,1 \pm 0,5$	$1,1 \pm 0,2$	$15,7 \pm 4,2$
4	$24,4 \pm 2,4$	$4,7 \pm 0,8$	$2,2 \pm 0,4$	$14,5 \pm 5,4$
6	$20,4 \pm 4,0$	$5,4 \pm 1,3$	$3,2 \pm 1,4$	$20,5 \pm 4,9$
18	$11,6 \pm 3,6$	$6,3 \pm 1,0$	$11,4 \pm 4,4$	$9,4 \pm 3,2$
24	$17,5 \pm 5,2$	$7,9 \pm 1,2$	$11,4 \pm 0,7$	$8,5 \pm 3,2$
48	$14,5 \pm 2,9$	$4,7 \pm 0,8$	$11,9 \pm 6,0$	$7,0 \pm 0,8$
72	$22,6 \pm 4,1$	$5,3 \pm 0,3$	$20,7 \pm 3,4$	$8,1 \pm 1,3$
144	$18,4 \pm 2,6$	$1,5 \pm 0,8$	$20,7 \pm 1,1$	$2,2 \pm 0,2$

Taulukko 4 Asetaldehydi/etanoli $\times 10^3$ rottien keuhkorakkulailmassa kopriinin ja disulfiramin erilaisten annosten jälkeen kahtena määrättynä ajanjaksona 2 h ja 18 h esikäsitteilyn jälkeen. Etanolia annettiin 2 g/kg 0,5 h ennen mittausta. Tulokset ovat yleensä 4 kokeen keskiarvoja $\pm$ s.e.m. Tarkistusarvo perustuu 8 kokeeseen: $1,9 \pm 0,3$.

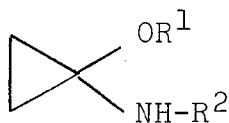
Lääke	Annos mg/kg					
		3	9	27	81	243
Kopriini, 2 h		$5,1 \pm 1,8$	$10,9 \pm 2,7$	$27,2 \pm 6,0$	$28,8 \pm 4,1$	$51,8 \pm 12$
" 18 h		$3,5 \pm 0,6$	$19,2 \pm 2,7$	$25,6 \pm 1,1$	$40,2 \pm 4,1$	$62,5 \pm 3,8$
Disulfiram, 2 h		$1,9 \pm 0,3$	$2,7 \pm 0,5$	$2,2 \pm 0,2$	$6,1 \pm 1,5$	$13,1 \pm 1,6$
" 18 h		$2,6 \pm 0,5$	$2,8 \pm 0,9$	$5,5 \pm 0,6$	$16,1 \pm 3,4$	$38,9 \pm 6,0$

Taulukko 5 Kopriinin ja disulfiramin vaikutus ^{14}C -oktopamiinin (^{14}C -OA) saantoon, joka on muodostunut ^{14}C -tyramiinista (^{14}C -TA) rottien sydämessä: annosherkkyyskäyrät otettu 2 h ja 18 h kuluttua. Koe on samanlainen kuin taulukossa 3. Taulukossa on esitetty yleensä 3 kokeen keskiarvot $\pm$ s.e.m. (ng/g kudosta). Tarkistusarvot ovat $23,8 \pm 1,0$ ja $3,5 \pm 0,5$ vastaavasti ^{14}C -OA:n ja ^{14}C -TA:n suhteen.

Aika h	Annos mg/kg	Kopriini		Disulfiram	
		^{14}C -OA	^{14}C -TA	^{14}C -OA	^{14}C -TA
2	3	$27,0 \pm 1,5$	$3,5 \pm 0,9$	$12,0 \pm 1,4$	$8,7 \pm 2,5$
	9	$20,3 \pm 2,7$	$3,3 \pm 0,4$	$8,9 \pm 1,3$	$8,7 \pm 1,6$
	27	$16,1 \pm 1,9$	$4,3 \pm 0,6$	$4,8 \pm 2,1$	$14,6 \pm 3,2$
	81	$19,1 \pm 2,5$	$8,4 \pm 2,3$	$2,1 \pm 0,4$	$12,0 \pm 0,5$
	243	$19,9 \pm 5,2$	$6,4 \pm 2,7$	$1,6 \pm 0,5$	$12,7 \pm 3,4$
18	3	$22,7 \pm 0,9$	$4,0 \pm 0,9$	$22,6 \pm 2,6$	$5,7 \pm 1,1$
	9	$20,8 \pm 2,4$	$4,0 \pm 0,8$	$20,3 \pm 2,0$	$8,1 \pm 1,3$
	27	$22,8 \pm 2,9$	$4,9 \pm 0,3$	$20,6 \pm 2,6$	$8,0 \pm 1,6$
	81	$19,8 \pm 3,2$	$5,1 \pm 2,1$	$10,1 \pm 1,7$	$6,6 \pm 1,7$
	243	$21,2 \pm 3,7$	$3,9 \pm 1,0$	$8,2 \pm 2,0$	$9,9 \pm 2,8$

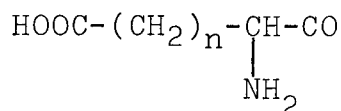
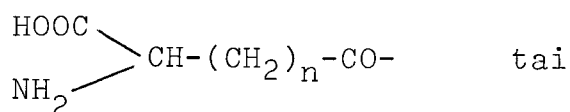
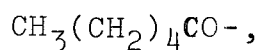
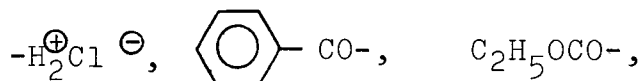
Patenttivaatimukset

1. Yhdiste, t u n n e t t u siitä, että sillä on yleinen kaava

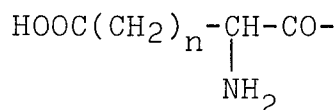
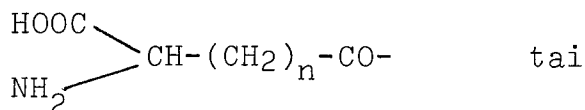


I

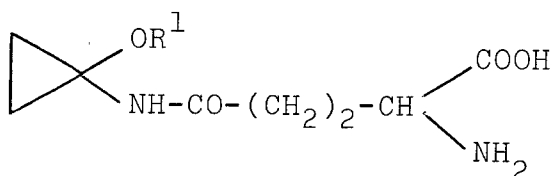
jossa kaavassa R¹ on vetyatomi, metyyli- tai etyyli-ryhmä, ja R² on vetyatomi



joissa kaavoissa n on 1 tai 2 edellyttäen, että R¹ on metyyli- tai etyyli-ryhmä kun R² on vetyatomi, tai kaavan I mukaisen yhdisteen farmaseuttisesti sopiva suola, jossa R¹ on vetyatomi, metyyli-ryhmä tai etyyli-ryhmä ja R² on vetyatomi,

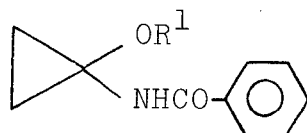


2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, t u n n e t t u siitä, että sillä on kaava



jossa R¹ on vetyatomi, metyyli- tai etyyli-ryhmä tai farmaseuttisesti sopivat suolat.

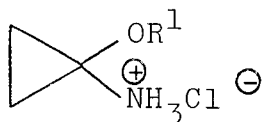
3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, t u n n e t t u siitä, että sillä on kaava



jossa kaavassa R^1 on vetyatomi, metyyli- tai etyyli-ryhmä.

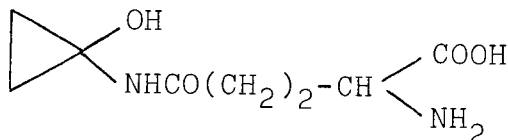
4. Patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, t u n n e t t u siitä, että se on oleellisesti puhtaan enantiomeerin muodossa.

5. Yhdiste, joka on käyttökelpoinen välituote valmistettaessa terapeuttisesti arvokkaita l-amino-l-syklopropanolijohdannaisia, t u n n e t t u siitä, että tällä välituotteella on kaava



jossa R^1 on vety, metyyli- tai etyyli-ryhmä.

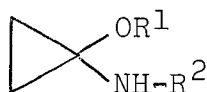
6. Menetelmä sellaisen yhdisteen erottamiseksi, jolla on kaava



t u n n e t t u seuraavista vaiheista:

- lajiin *Coprinus atramentarius* kuuluva sieni uutetaan etanolilla,
- etanoliuutteet uutetaan heksaanilla,
- jäljelle jäänyt vesiliukoinen materiaali dialysoidaan,
- dialysoitu materiaali käsitellään kromatograafisesti kationinvaihtopatsaassa,
- eluaattia käsitellään kromatograafisesti anioninvaihtopatsaassa,
- eluaatti kiteytetään, jolloin saadaan haluttu yhdiste.

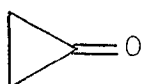
7. Menetelmä sellaisen yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava



IB

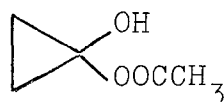
jossa kaavassa R^1 on vetyatomi, metyyli- tai etyyli-ryhmä ja R^2 on vetyatomi tai $-H_2^+Cl^-$, edellyttäen, että R^1 on metyyli- tai etyyli-ryhmä kun R^2 on vetyatomi, t u n n e t t u siitä, että se käsittää

a) yhdisteen, jolla on kaava



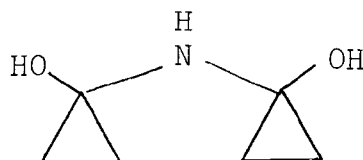
saattamisen reagoimaan nestemäisen ammoniakin kanssa ensimmäisessä vaiheessa ja HCl/H₂O:n kanssa toisessa vaiheessa, tai

b) yhdisteen, jolla on kaava



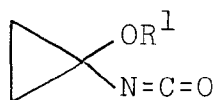
saattamisen reagoimaan NH₃/NH₄Cl:n ja H₂O:n kanssa ensimmäisessä vaiheessa, ja HCl:n kanssa toisessa vaiheessa, tai

c) sellaisen yhdisteen kuumentamisen, jolla on kaava

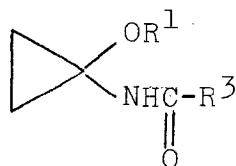


HCl/H₂O:n läsnäollessa, tai

d) sellaisen yhdisteen, jolla on kaava

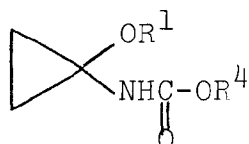


jossa kaavassa R¹ on metyyliryhmä tai etyyliryhmä, saattamisen reagoimaan kloorivetyhapon kanssa, tai sellaisen yhdisteen, jolla on kaava

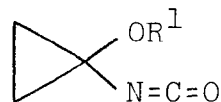


jossa R¹ on vetyatomi, metyyliryhmä tai etyyliryhmä ja R³ on alkyyli-ryhmä, jossa on 1-5 hiiliatomia, tai joka on helposti poistettavissa oleva alkoksiryhmä edellyttäen, että R³ on alkyyli-ryhmä kun R¹ on vety, saattamisen reagoimaan kloorivetyhapon kanssa, tai tämän yhdisteen valmistamisen

e) saattamalla yhdiste, jolla on jompi kumpi kaavoista



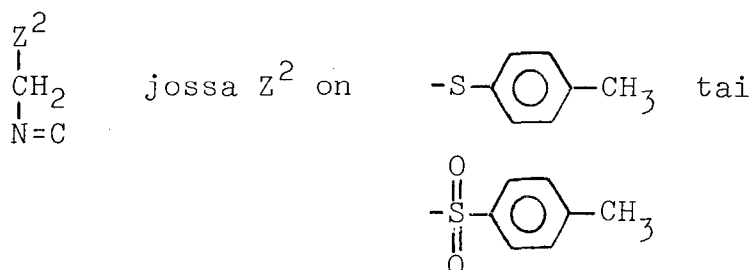
ja



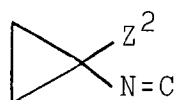
joissa kaavoissa R^1 on metyyli- tai etyyli-ryhmä ja R^4 on alkyyliryhmä, jossa on 1-5 hiiliatomia, alkaliseen hydrolyysikäsittelyyn ja hapottamalla tämän jälkeen kloorivetyhapolla, tai
f) saattamalla yhdiste, jolla on kaava



reagoimaan NH_3/NH_4Cl :n ja H_2O :n kanssa, tai
g) alkyloimalla yhdiste, jolla on kaava

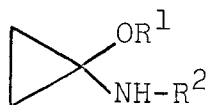


1,2-dibromietaanilla emäksen läsnäollessa sellaisen yhdisteen muodostamiseksi, jolla on kaava



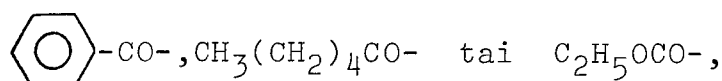
ja saattamalla tämä yhdiste reagoimaan kloorivetyhapon kanssa, jolloin menetelmällä a-g saadaan sellainen kaavan IB mukainen yhdiste, jossa R^1 on vetyatomi ja R^2 on $-H_2Cl^+$, ja jonka jälkeen täten saatu yhdiste haluttaessa muutetaan reaktion avulla sopivan alkoholin kanssa sellaiseksi kaavan IB mukaiseksi yhdisteeksi, jossa R^1 on metyyli- tai etyyli-ryhmä ja tämän jälkeen tavanomaisilla menetelmillä sellaiseksi kaavan IB mukaiseksi yhdisteeksi, jossa R^2 on vetyatomi.

8. Menetelmä sellaisen yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava



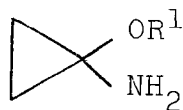
I

jossa kaavassa R^1 on vetyatomi, metyyli-ryhmä tai etyyli-ryhmä ja R^2 on ryhmä

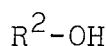


t u n n e t t u siitä, että se käsittää

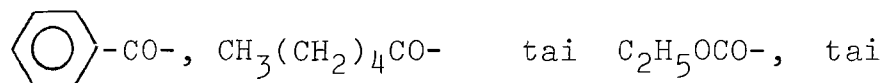
a) sellaisen yhdisteen, jolla on kaava



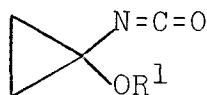
jossa R^1 on määritelty edellä ja joka voi olla esimuodostettu tai vapautettu vastaavasta suolasta in situ, saattamisen reagoimaan funktionaalisen ekvivalenttisen yhdisteen kanssa, jolla on kaava



sellaisen kaavan I mukaisen yhdisteen muodostamiseksi, jossa R^2 on ryhmä

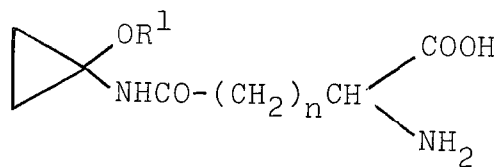


b) yhdisteen, jolla on kaava

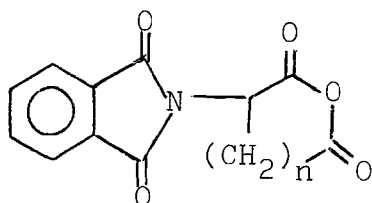


jossa R^1 on metyyli- tai etyyli-ryhmä, saattamisen reagoimaan etanolin kanssa sellaisen kaavan I mukaisen yhdisteen muodostamiseksi, jossa R^1 on metyyli- tai etyyli-ryhmä ja R^2 on ryhmä C_2H_5OCO- , ja haluttaessa suorittamalla tämän jälkeen osittainen happohydrolyysi, jolloin saadaan sellainen kaavan I mukainen yhdiste, jossa R^1 on vetyatomi ja R^2 on ryhmä C_2H_5OCO- .

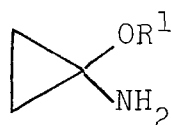
9. Menetelmä sellaisen yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava



tai sen farmaseuttisesti sopivan suolan valmistamiseksi, jossa kaavassa R^1 on vetyatomi, metyyli-ryhmä tai etyyli-ryhmä ja n on 1 tai 2, t u n n e t t u siitä, että se käsittää yhdisteen, jolla on kaava

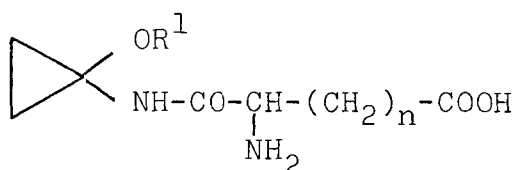


saattamisen reagoimaan sellaisen yhdisteen kanssa, jolla on kaava

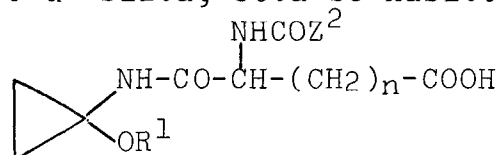


jossa kaavassa R^1 tarkoittaa samaa kuin edellä ja joka voidaan esimuodostaa tai vapauttaa in situ, jonka jälkeen täten saatu välituote käsitellään hydratsiinilla halutun tuotteen saamiseksi, joka muutetaan haluttaessa farmaseuttisesti sopivaksi suolaksi.

10. Menetelmä sellaisen yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava

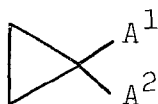


tai sen farmaseuttisesti sopivan suolan valmistamiseksi, jossa kaavassa R^1 on vetyatomi, metyyliryhmä tai etyyliryhmä, ja n on 1 tai 2, t u n n e t t u siitä, että se käsittää sellaisen yhdisteen, jolla on kaava



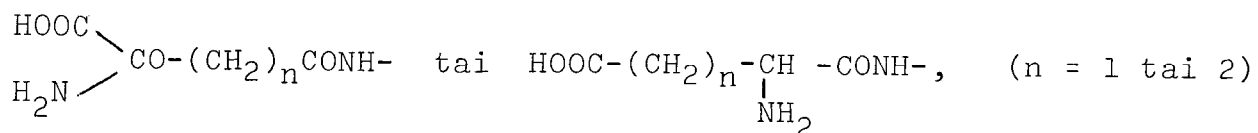
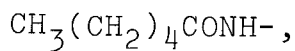
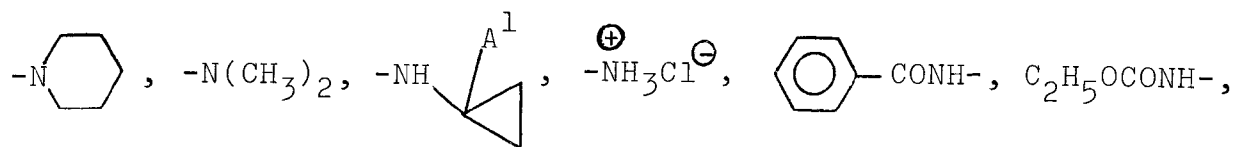
jossa R^1 tarkoittaa samaa kuin edellä ja Z^2 on tertiäärinen butoksi-ryhmä tai trifluorimetyyliryhmä, saattamisen reagoimaan hapon kanssa, jonka jälkeen täten saatu yhdiste muutetaan haluttaessa farmaseuttisesti sopivaksi suolaksi.

11. Farmaseuttinen preparaatti, t u n n e t t u siitä, että se sisältää aktiivisena aineosana terapeuttisesti tehokkaan määrän ainakin yhtä sellaista yhdistettä, jolla on kaava



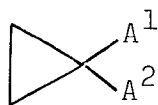
IA

tai tämän farmaseuttisesti sopivaa suolaa, jossa kaavassa A^1 on vetyatomi, hydroksiryhmä, metoksi-ryhmä, etoksi-ryhmä tai asetoksi-ryhmä, ja A^2 on hydroksiryhmä, aminoryhmä, asetoksi-ryhmä, ryhmä

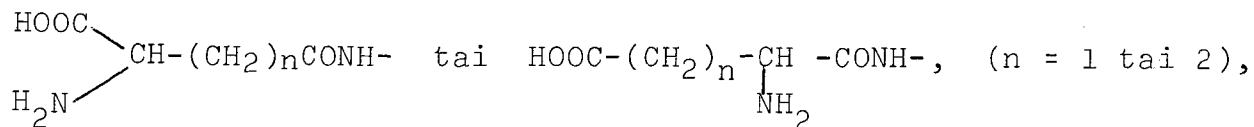
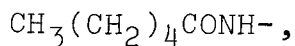
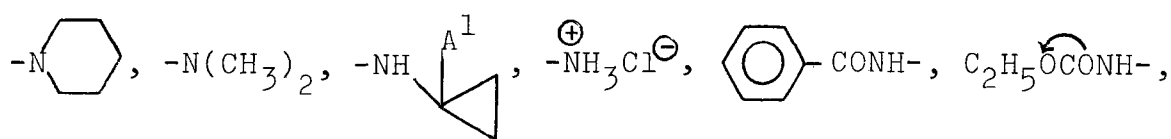


edellyttäen, että A^1 on vetyatomi, metoksiryhmä tai etoksiryhmä kun A^2 on aminoryhmä, että A^2 on hydroksiryhmä tai aminoryhmä kun A^1 on vetyatomi, ja että A^2 on hydroksiryhmä tai asetoksiryhmä kun A^1 on asetoksiryhmä, yhdessä farmaseuttisesti sopivan kantajan kanssa.

12. Menetelmä alkoholismiin käsittelemiseksi, t u n n e t t u siitä, että tätä sairautta kärsivälle potilaalle annetaan terapeuttisesti sopiva määrä yhdistettä, jolla on kaava



tai sen sopivaa farmaseuttista suolaa, jossa kaavassa A^1 on vetyatomi, hydroksiryhmä, metoksiryhmä, etoksiryhmä tai asetoksiryhmä, ja A^2 on hydroksiryhmä, aminoryhmä, asetoksiryhmä tai ryhmä



edellyttäen, että A^1 on vetyatomi, metoksiryhmä tai etoksiryhmä kun A^2 on aminoryhmä, että A^2 on hydroksiryhmä tai aminoryhmä kun A^1 on vetyatomi, ja että A^2 on hydroksiryhmä tai asetoksiryhmä kun A^1 on asetoksiryhmä.

13. Yhdisteet, menetelmät niiden valmistamiseksi ja erottamiseksi, välituotteet, farmaseuttiset preparaatit ja menetelmät alkoholismin käsittelemiseksi patenttivaatimusten 1-12 mukaisesti ja siten kuin edellä on esitetty.