



NORGE
[NO]

STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN

[B] (II) ÚTLEGNINGSSKRIFT

Nr. 154167

(51) Int. Cl.⁴ C 07 D 311/60

(21) Patentsøknad nr. 790871

(22) Inngitt 14.03.79

(24) Løpedag 14.03.79

(41) Alment tilgjengelig fra 18.09.79

(44) Søknaden utlagt, utlegningsskrift utgitt 21.04.86

(30) Prioritet begjært 15.03.78, Storbritannia, nr. 10251/78.

(54) Oppfinnelsens benevnelse **ANALOGIFREMGANGSMÅTE FOR FREMSTILLING AV ANTI-VIRALT VIRKSOMME FLAVANFORBINDELSER.**

(71)(73) Søker/Patenthaver **THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED,**
183-193 Euston Road,
London NW1,
England.

(72) Oppfinner **JOHN FREDERICK BATCHELOR, Beckenham, Kent,**
DENIS JOHN BAUER, Leatherhead, Surrey,
HAROLD FRANCIS HODSON, Beckenham, Kent,
JOHN WILLIAM TALBOT SELWAY, Cranbrook, Kent,
DAVID ALBERT BLAKER YOUNG, West Wickham, Kent,
England.

(74) Fullmektig **Bryns Patentkontor A/S, Oslo.**

(56) Anførte publikasjoner **BRD (DE) utl.skrift nr. 1493976.**

Foreliggende oppfinnelse angår fremstilling av antiviralt virksomme flavanforbindelser som har aktivitet mot rhinovirus.

Rhinovirale infeksjoner er ansvarlig for omkring 70 % av de sykdommer som vanligvis betegnes som forkjølelse, skjønt infeksjoner av andre typer virus, såsom entero- og coronavirus og allergiske reaksjoner også kan resultere i "forkjølelser". Alle mennesker er utsatt for rhinovirale infeksjoner, og forkjølelse er en hovedgrunn til fravær fra arbeid, og er følgelig av stor økonomisk betydning.

Vanlig forkjølelse overføres via små dråper som spres når en infisert person hoster eller nyser, og som deretter blir inhalert av en annen person og som derved starter en infeksjon et eller annet sted i luftveissystemet. Etter en inkubasjonsperiode på fra 48 timer til to uker vil den infiserte personen få en sår hals, hosting, snue, økende mengder sekreter fra slimhinnen samt feber som skyldes en sekundær bakterieinfeksjon.

En viss resistens til en rhinovirusserotype blir igjen etter infeksjon, men gir ikke immunitet overfor andre serotyper. En kontinuerlig reinfeksjon av de serotyper som foreligger i det miljø personen lever i, vil opprettholde et visst resistensnivå overfor disse virus hos de fleste personer. Man vil følgelig få en forkjølelse bare når en ny serotype kommer i kontakt med personen, i middel vil dette være i fra 2 til 3 ganger i året.

Ettersom det altså ikke foreligger noen tverr-immunitet og det foreligger minst 120 kjente immunologisk distinkte rhinovirus-serotyper, så er vaksinasjon ingen særlig god behandlingsmåte. For å redusere forekomsten av for-

154167

2

kjølelse, så er forskjellige typer av lufthygiene blitt forsøkt men uten særlig hell. Det synes som om den eneste praktiske metode ville være en forbindelse som egnet kunne tilføres mennesker og som vil være aktiv mot de fleste serotyper eller i det minste en rekke forskjellige typer rhinovirus. Til tross for betydelig forskning på dette området, så er ingen forbindelser hittil vært kjente, og det foreligger således ingen kjente kjemoterapeutiske midler mot forkjølelse.

Man har nå funnet at flavan og forskjellige derivater av denne forbindelse er aktiv mot visse typer virus, blant annet de som infiserer luftveissystemet, f.eks. picorna, menges-, arbo-, myxo-, corona-, herpes- og adenovirus. Spesielt har disse forbindelsene vist seg å være aktive mot rhinovirus, spesielt mot serotypene 1B, 2 og 9. Bortsett fra enkelte forbindelser som faller innenfor den ovennevnte definisjon, som er kjente, men som hittil ikke har vært angitt å ha noen relevant aktivitet i dette henseende, er også nye derivater blitt fremstilt og prøvet. Man har kunne observere at disse forbindelsene kan hemme rhinovirus under in vitro-prøver i kultur og at noen også viser aktivitet mot andre virustyper, såsom herpes, influensa og meslingvirus.

I tillegg til dette har de samme forbindelsene in vivo aktivitet mot rhinovirus, spesielt når de tilføres i passende doser til mennesker og andre pattedyr. Mens flavan i seg selv har relativt god aktivitet mot rhinovirus, så har substituerte derivater tilsvarende eller bedret aktivitet, avhengig av type og posisjon på substituenten.

Man har også funnet at forbindelsene har meget lav toksisitet, dvs. LD₅₀ på over 500 mg/kg kroppsvekt.

Aktiviteten kan påvises ved en platehemningsprøve og kan måles ved platereduksjonsprøven. Begge prøver innbefatter dannelsen av et encellet lag i en petriskål fulgt av en infeksjon med en virussuspensjon, hvoretter kulturen dekkes med en næringsrik agarose i form av en gel. Denne gelen sikrer at det ikke skjer noen spredning av virusen utover hele kulturen, og man får således dannet områder med lokal celledestruksjon eller små plater.

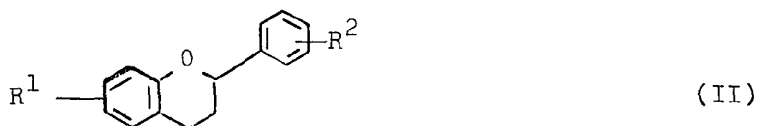
Ved platehemningsprøven blir en filterpapirskive

som holder ca. 0,01 ml når den er impregnert med en oppløsning av forbindelsen, plassert på toppen av agarosegelen. Forbindelsen kan så diffundere igjennom gelen slik at den største konsentrasjonen vil bli omkring skiven og den laveste konsentrasjonen mot periferien av petriskålen. Forbindelsens effektivitet kan så påvises ved å observere hemningssonen når det gjelder platedannelsen.

Påvisbar aktivitet kan måles ved platereduksjonsprøven. En rekke konsentrasjoner av forbindelsen med kjent molaritet kan så inkorporeres i den overliggende næringsagarosen. Plateundertrykningen vil være proporsjonal med forbindelsens konsentrasjon. Antall lokaliserte celledestruksjoner eller småplater uttrykkes som prosent av en kontroll, og man kan trekke opp en dosereaksjonskurve. Fra denne kurven kan man beregne 50 % av den effektive dose (ED50).

Noen flavaner er allerede kjente og angitt i kjemisk litteratur, men hittil har ingen foreslått at de kan brukes for behandling av forskjellige lidelser og tilstander hverken hos mennesker eller dyr, bortsett fra at 3,3',4,4',5,7-heksahydroksyflavan har vært brukt for å behandle forskjellige blodårelidelser, -3-hydroksyflavan som ble forsøkt uten hell mot viral hepatitis (Lancet, 2, 1153 (1977)), forskjellige 3,6-dialkyl eller dialkoksylflavaner (US patent 3.555.047), som kan senke nivået av kolesterol i blodet; 1-epi-3',4'-5',5,7-pentahydroksyflavan-3-ol (J.M. Gazave, Fruits, 32, 275-284 (1977)), et virksomt middel mot antiscorbutin, og 3,3',4',5,7-pentahydroksyflavan (franske patenter nr: 988332 og 988333) som kan ha en vitaminlignende effekt på blodkapillærene.

Ifølge foreliggende oppfinnelse fremstilles antiviralt virksomme flavanforbindelser med den generelle formel:



samt farmasøytisk akseptable salter derav, hvor R¹ representerer to substituenten valgt fra hydrogen, halogen, nitro, cyano, tri-fluormetyl, C₁-C₄ alkylamino og C₁-C₄ alkyl, og R² representerer to substituenten valgt fra hydrogenhalogen, nitro, cyano,

trifluormetyl, C_1-C_4 alkylamino, amino, C_1-C_4 alkyl, C_1-C_4 alkoksy unntatt 4'- C_1-C_4 alkoksy, hydroksyetoksy og hydroksyl unntatt 4'-hydroksyl, forutsatt at når R^2 representerer to hydrogenatomer, så er en av substituentene representert ved R^1 forskjellig fra hydrogen eller C_1-C_4 alkyl og også forutsatt at minst en av substituentene representert ved R^1 og R^2 er et hydrogenatom.

Fortrinnsvis har forbindelsene substituentene R^1 i 6- eller 7-stillingene og/eller R^2 i 2', 3', 4', 5' eller 6'-stillingene, og spesielt er 6- og 4'-stillingene spesielt foretrukket. Man har også funnet at størrelsen på substituenten kan være av betydning. Således kan man i 4'- og 6-stillingene få en bedret aktivitet med en substituent som har en $[R]_D$ -verdi under 15, fortrinnsvis under 10.

$[R]_D$ -verdien er et korrigert molart volum slik dette er beskrevet i S. Glasstone, Text-book of Physical Chemistry, 2. utgave, 1948, MacMillan, London, s. 528. Den kan beregnes ut fra den molare masse, M , tettheten p og brytningsindeksen, n , ved hjelp av følgende ligning:

$$[R]_D = \frac{M}{p} \times \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2}$$

Verdier for mange substituent er bestemt av Vogel og publisert i J. Chem. Soc. i år 1948.

Valg av antall, stilling og type av substituent kan hensiktsmessig kombineres slik at man øker sannsynligheten for forbedret aktivitet. Forbindelsenes endelige egenskaper er imidlertid også avhengig av andre fysikalske og biologiske egenskaper.

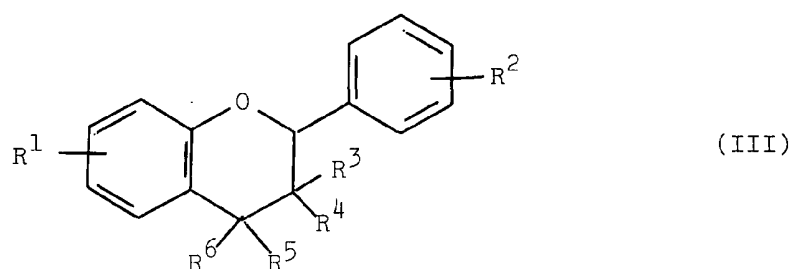
Farmasøytisk akseptable salter er de av mineral-syrer såsom saltsyre eller svovelsyre, organiske syrer såsom melkesyre og eddiksyre, og av baser såsom natrium eller kalium.

De ovenfor nevnte forbindelser kan bære substituent slik dette er angitt med preferanser ovenfor i forbindelse med formel I. De nye forbindelser som har den høyeste aktiviteten i prøver, er 4'-fluorflavan, 3'-4'-diklor-6-metylflavan, 4'-

klor-7-metylflavan, 6-klor-4'-metoksyflavan, 6-metoksyflavan, 4'-metylflavan, 6-klor-4'-metylflavan og 4',6-diklorflavan.

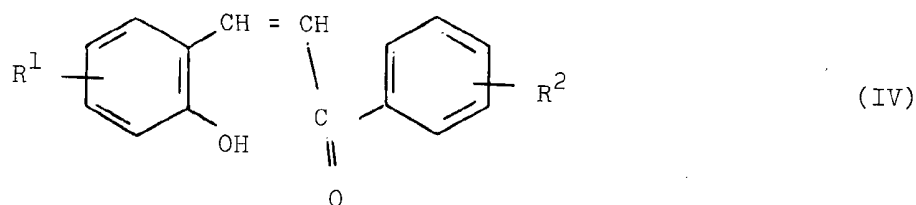
Ifølge foreliggende oppfinnelse fremstilles de ovenfor angitte forbindelser med formel II ved at man

a) reduserer en forbindelse med formelen:



hvor R^1 og R^2 har den ovenfor angitte betydning, hver av R^3 og R^6 er hydrogenatomer, og R^4 og R^5 er like eller forskjellige, og er hydrogen- eller halogenatomer eller hydroksylgrupper forutsatt at bare en av R^4 og R^5 er et hydrogenatom, eller R^4 og R^5 danner sammen en dobbeltbinding eller et av geminalparene R^3 og R^4 , eller R^5 og R^6 representerer en okso-, ketal-, tioketal- eller ditioketalgruppe, og det andre paret består av et hydrogenatom og et hydrogen- eller halogenatom eller en hydroksylgruppe, eller en tautomer eller et salt derav; eller

b) i rekkefølge reduserer og deretter ringslutter, eller ringslutter og deretter reduserer, med eller uten isolering av noen mellomprodukter, en forbindelse med formelen:

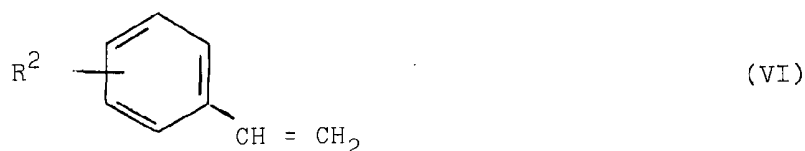


hvor R^1 og R^2 har de ovenfor angitte betydninger; eller

c) kondenserer en forbindelse med formelen:



hvor R^1 har den ovenfor angitte betydning, og X er en hydroksylgruppe eller et halogenatom, med en forbindelse med formelen:



hvor R^2 har den ovenfor angitte betydning,

og, om ønsket, danner farmasøytisk akseptable salter av forbindelser med formel II ved omsetning av den forbindelse som har en amino- eller hydroksylsubstituent, i et vandig medium med en passende mineral- eller organisk syre eller base.

Det finnes en rekke velkjente fremgangsmåter som er tilgjengelige for bruk i fremgangsmåte a), såsom Clemmensen- og Wolff Kischner-reduksjoner, eller katalytisk hydrogenering hvor man bruker katalysator såsom palladium på trekull, kopper-kromoksyd eller Raney-nikkel.

Clemmensen-reduksjonen (se f.eks. E.L. Martin, Organic Reactions, (1942) 1, 161) og variasjoner av denne teknikk (se f.eks. E. Vedej's, Organic Reactions (1974), 22, 412, B.L. Verma, et al., Indian J. Chem., (1962) 3 (12), 565, M.M. Bokadia & B.L. Verma, Chem. and Ind. (1964) 235) er spesielt hensiktsmessige for å redusere ketonderivater med formel III.

Wolff-Kischner-reduksjonen kan bare anvendes på forbindelser med formel III, hvor R^3 og R^4 tilsammen representerer en oksogruppe. Denne reaksjonen innbefatter dannelsen av hydrazon-

derivatet av ketonet, hvorefter mellomproduktet så reduseres.

Reduksjonen av ditioketaler kan f.eks. oppnås ved hjelp av Raney-nikkel i dioksan (E.J. Keogh, et al., Chem. and Ind. (1961) 2100).

Flavanon kan også reduseres ved å bruke litiumaluminiumhydrid blandet med aluminiumklorider (M.M. Bokadia et al., J. Chem. Soc. (1962) 1658, B.L. Verma et al., Indian J. Chem. (1965) 3(12) 565).

Flav-3-en-derivatene med formel III kan hensiktsmessig reduseres ved å bruke natriumborhydrid eller andre komplekse hydridreagenser (J.W. Clark-Lewis og R.W. Jemison, Austral. J. Chem. (1968) 21, 2247).

Katalytisk reduksjon av forbindelser med formel III, spesielt de halogenerte derivatene, kan utføres ved hjelp av tilsvarende teknikk til det som er beskrevet av J.W. Clark-Lewis (ovenfor), M. Suzuki et al., Nippon Kagaku Zasshi (1968) 89(9), 878-82 og (1969) 90(4), 397-400 og R. Mozingo og H. Adkins, J. Am. Chem. Soc., (1938) 60, 669.

I fremgangsmåte b) kan forbindelsene med formel IV ringsluttet ved en behandling med saltsyre, hvorved man får flavylliumsaltet, som så kan reduseres til et flavan ved katalytisk hydrogenering. Det forønskede flavan kan så oppnås ved å behandle nevnte dihydrochalcon med sinkklorid i benzen (se f.eks. Van Allan, Reynolds and Regan, J. Org. Chem., (1967) 32, 1897). Alternativt kan chalconet behandles med et komplekst hydridreduksjonsmiddel, såsom natriumborhydrid eller cyanoborhydrid, hvorved man får den tilsvarende (2-hydroksyfenyl)etylphenylkarbinol. Sistnevnte forbindelse kan så ringsluttet ved å bruke en syrekatalysator såsom eddiksyre eller p-toluensulfonsyre (se f.eks. L. Jurd, Chem. and Ind., (1967) 2175).

Kombinert reduksjon og ringslutning av chalconer med formel IV kan utføres når disse forbindelser behandles med en blanding av litiumaluminiumhydrid og aluminiumklorid (M.M. Bokadia et al., J. Chem. Soc. (1962), 1958).

I fremgangsmåte c) kan kondensasjonen utføres ved hjelp av varme eller i de tilfeller med forbindelser hvor X er et halogenatom, ved å bruke en Friedel Crafts katalysator i et egnet oppløsningsmiddel. I dette tilfelle er tinnklorid den foretrukne katalysator, og 1,2-diklorethan er det foretrukne oppløsningsmiddel. Produktene kan oppnås ved destillasjon når man har lavtkokende flavanderivater, spesielt etter varmekondensasjon, eller ved hjelp av kromatografi når dette er passende. Alternativt kan kondensasjonen skje i nærvær av en syre, spesielt svovelsyre (se f.eks. R.R. Schmidt, Tet. Letters, (1969), 60, 5279, K. Hultsch, J. prakt. Chem. (1941), 158, 275, M. Wakselman og M. Vilkas, C.R. hebdomadaire Séances, Acad. Sci. (1964) 258, 1526).

Man har funnet det spesielt hensiktsmessig å syntetisere flavan

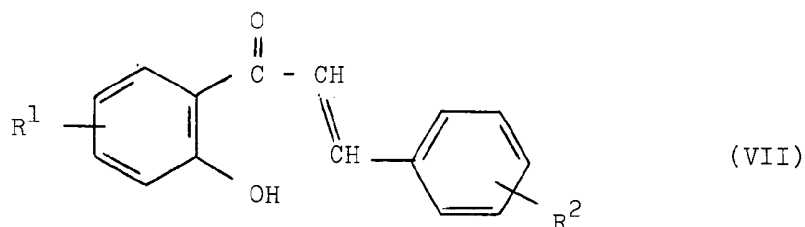
og derivater av dette ved Clemmensen-reduksjon av flavanoner med formel III hvor R^3 og R^4 er halogen, og R^5 og R^6 tilsammen representerer en oksogruppe, eller ved katalytisk reduksjon av flav-3-en med formel III hvor R^4 og R^5 tilsammen danner en dobbeltbinding, ved å bruke palladium på trækull i et egnet oppløsningsmiddel såsom alkohol, f.eks. etanol eller en lavere karboksylsyre, f.eks. eddiksyre eller et aromatisk oppløsningsmiddel såsom toluen.

Flav-3-ener kan fortrinnsvis oppnås ved å behandle det tilsvarende 2'-hydroksychalcon med et kompleks hydrid, fortrinnsvis natriumborhydrid.

Reduksjon og ringslutning ved hjelp av fremgangsmåte b) blir fortrinnsvis utført ved å behandle forbindelsen med formel IV med et natriumborhydrid i et eteroppløsningsmiddel, fortrinnsvis tetrahydrofuran, hvorefter man utfører en ringslutning ved hjelp av en egnet syre, fortrinnsvis eddiksyre.

Kondensering ifølge fremgangsmåte c) blir fortrinnsvis utført ved å oppvarme forbindelser med formel V og VI ved temperaturer mellom 150 og 250°C.

Forbindelser med formel III ovenfor kan fremstilles ved en syre- eller basekatalysert ringslutning av chalconer med formel VII:



hvor R^1 og R^2 er som definert ovenfor. Disse chalconer og de med formel VI ovenfor, kan fremstilles ved en Knoevenagel-kondensasjon av passende substituert acetofenon og benzaldehydderivater (Nielsen, Organic Reactions, (1968), 16, 44). Dette kan skje ved syre eller bare katalyse i vandig eller organiske media hvor man bruker enten organiske eller uorganiske syrer eller baser, såsom alkali-metallhydroksyder eller alkoksyder.

De utgangsforbindelser og mellomprodukter som er beskrevet ovenfor, og acetofenon og benzaldehydderivater som er nødvendig for å fremstille chalconene i formlene IV og VII, er kommersielt tilgjengelige eller kan fremstilles ved i seg selv kjente fremgangsmåter (se f.eks. de referanser som er sitert ovenfor).

Farmasøytiske preparater kan inneholde en forbindelse med formel II, en tautomerforbindelse av disse eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, sammen med en farmasøytisk akseptabel bærer. En effektiv enhetsdoseform er foretrukket.

Slik begrepet "effektiv enhetsdose" brukes her, forstås en forutbestemt antiviral mengde tilstrekkelig til at den er effektiv mot virale organismer in vivo. Farmasøytisk akseptable bærere er velkjente og vanlig akseptert for det formål å tilføre aktive ingredienser, og slike bærere kan være faste, flytende eller gassformede, og de er ellers inerte og medisinsk akseptable, og må være forenlige med de aktive ingredienser.

Nevnte farmasøytiske preparater kan gis parenteralt, oralt eller intranasalt eller kan brukes som suppositorier, som en inhaleringsoppløsning, som salver, kremer, aerosoler, pulvere eller damper eller gitt som nesedråper etc., når preparatet skal brukes for å behandle rhinovirale infeksjoner.

For slike infeksjoner kan preparatene tilføres oralt eller parenteralt i dosenivåer beregnet på basis av fritt flavan, i mengder på fra ca. 0,125 µg til 1,25 mg pr. kg kroppsvekt, fortrinnsvis 0,25 µg til 0,125 mg/kg, mest foretrukket 8 til 30 mg/kg kroppsvekt, og kan brukes i enhetsdoseform, og kan tilføres et par ganger daglig i mengde på fra 10 µg til 100 mg, hensiktsmessig 0,1 til 10 mg pr. enhetsdose.

For oral tilførsel kan fine pulvere eller granulater inneholdende fortynnende, dispergerende og/eller overflateaktive midler, og de kan være til stede i drikker, vann eller i en sirup, i kapsler eller små poser i tørr tilstand eller i en ikke-vandig oppløsning eller suspensjon, hvor suspenderende midler kan tilsettes, i tabletter hvor bindemidler og smøremidler kan være tilsatt, eller i en suspensjon i vann eller i en sirup. Hvor det er ønskelig eller nødvendig kan smaksmidler, konserverende midler, suspenderende, fortykkende eller emulgerende midler være tilsatt. Tabletter, kapsler og granulater er foretrukne, og disse kan være belagte. Alternativt kan sammensetningene tilføres som en oppløsning av forbindelsen med formel II i et passende oljebasert medium.

Preparatene kan også tilføres intranasalt ved å bruke inhalerende oppløsninger, aerosoler eller forstøvende oppløsninger eller ved å inhalere en damp inneholdende en forbindelse med formel II.

For parenteral tilførsel eller for tilførsel som aerosoler, forstøvet oppløsning eller dråper, kan forbindelsene være til stede i vandig oppløsning i en konsentrasjon på fra 0,1 til 10 %, mer foretrukket fra 0,1 til 1 %, mest foretrukket ca. 0,2 % vekt/volum. Oppløsningen kan inneholde antioksydasjonsmidler, buffere etc.

Følgende eksempler illustrerer forbindelsen.

EKSEMPEL 1 - 47

Fremstilling av chalcon-mellomprodukter

Substituerte benzaldehyder for bruk i de følgende eksempler ble oppnådd kommersielt.

O-hydroksyacetoferon som ble brukt i de følgende eksempler ble oppnådd kommersielt, substituerte derivater av nevnte forbindelser ble fremstilt ved Fries-omleiring av det tilsvarende fenylacetatderivat eller ved hjelp av andre kjente fremgangsmåter.

EKSEMPEL 1

Fremstilling av 2'-hydroksy-5'-metylchalcon

En oppløsning av 2-hydroksy-5-metylacetofenon (30,0 g) og benzaldehyd (21,2 g) i 250 ml etanol ble tilsatt en oppløsning av kaliumhydroksydpellets, 39,5 g, i 100 ml vann.

Den resulterende klare oppløsningen ble hensatt i 4 timer ved romtemperatur og ble i løpet av dette tidsrom rød. Den ble helt over i is og konsentrert saltsyre, 80 ml, og det utfelte gule chalcon ble frafiltrert, vasket med vann og omkrystallisert fra etanol til 2¹-hydroksy-5¹-metylchalcon (31 g) som oransje krystaller (smeltepunkt 107-108°C).

EKSEMPLENE 2 til 44

Forbindelsene i eksemplene 2 til 44 ble fremstilt ved en fremgangsmåte som er analog til den som er angitt i eksempel 1 ved å bruke passende substituerte utgangsforbindelser.

<u>Eksempel</u>	<u>Forbindelse</u>	<u>Smeltepunkt, °C</u>
2	2'-hydroksychalcon	89 - 90
3	2-klor-2'-hydroksychalcon	98 - 100
4	3-klor-2'-hydroksychalcon	105 - 106
5	4-klor-2'-hydroksychalcon	152 - 153
6	3,4-diklor-2'-hydroksychalcon	155 - 157
7	2,4-diklor-2'-hydroksychalcon	169 - 171
8	2,6-diklor-2'-hydroksychalcon	100 - 104
9	4-brom-2'-hydroksychalcon	144 - 146
10	4-fluor-2'-hydroksychalcon	110 - 113
11	2'-hydroksy-2-metylchalcon	77 - 79
12	2'-hydroksy-3-metylchalcon olje- ikke karakterisert	
13	2'-hydroksy-4-metylchalcon	119 - 120
14	2,2'-dihydroksychalcon	160 - 161
15	2',4'-dihydroksychalcon	160 - 161
16	2'-hydroksy-2-metoksy-chalcon	110 - 112
17	2'-hydroksy-3-metoksy-chalcon	94 - 96
18	2'-hydroksy-4-metoksy-chalcon	94 - 95
19	2'-hydroksy-4-(N,N-dimetyl- amino)chalcon	175 - 177
20	2'-hydroksy-4-acetylamino- chalcon	198 - 202
21	4'-klor-2'-hydroksychalcon	124 - 126
22	4,4'-diklor-2'-hydroksychalcon	160 - 162
23	4'-klor-2'-hydroksy-4-metoksy- chalcon	140 - 142
24	4'-klor-2'-hydroksy-4-metyl- chalcon	160 - 162
25	5'-klor-2'-hydroksychalcon	108 - 109
26	4,5'-diklor-2'-hydroksychalcon	190 - 193
27	5'-klor-2'-hydroksy-4-metyl- chalcon	131 - 133
28	5'-klor-2'-hydroksy-4-metoksy- chalcon	107 - 109

<u>Eksempel</u>	<u>Forbindelse</u>	<u>Smeltepunkt, °C</u>
29	5'-klor-2'-hydroksy-4-brom-chalcon	192 - 194
30	4-klor-2'-hydroksy-5'-metylchalcon	150
31	3,4-diklor-2'-hydroksy-5'-metylchalcon	ikke karakterisert
32	2'-hydroksy-4,5'-dimetylchalcon	104 - 109
33	2'-hydroksy-4-metoksy-5'-metylchalcon	96
34	5'-fluor-2'-hydroksychalcon	85 - 96
35	5'-brom-2'-hydroksychalcon	108 - 109
36	5'-brom-2'-hydroksy-4-metylchalcon	119 - 120
37	5'-brom-4-klor-2'-hydroksychalcon	188 - 190
38	3',4-diklor-2'-hydroksychalcon	108 - 109
39	2'-hydroksychalcon	86 - 88
40	2'-hydroksy-4-isopropylchalcon	93 - 95
41	5'-klor-2'-hydroksy-4-isopropylchalcon	93 - 95
42	5'-etyl-2'-hydroksychalcon	(ikke oppnådd rent)
43	4-klor-5'-etyl-2'-hydroksychalcon	89 - 90

EKSEMPEL 44Fremstilling av 5-brom-2-hydroksy-4'-metoksy-chalcon

20,1 g 5-bromsalicylaldehyd og 15,0 g p-metoksy-acetofenon ble oppløst i 80 ml etanol, og man tilsatte under avkjøling en oppløsning av 26,5 g kaliumhydroksyd i 40 ml vann. Reaksjonsblandingen ble hensatt over natten og ble så surgjort ved å tilsette saltsyre. Det utfelte 5-brom-2-hydroksy,4'-metoksy-chalcon ble frafiltrert, vasket med vann og omkrystallisert fra etanol. Utbyttet 27,5 g. Smeltepunkt 177 - 179°C.

EKSEMPLENE 45 til 47

Forbindelsene i eksemplene 45 til 47 ble fremstilt ved en analog fremgangsmåte som angitt i eksempel 44,

ved å bruke passende substituerte utgangsforbindelser.

<u>Eksempel</u>	<u>Forbindelse</u>	<u>Smeltepunkt, °C</u>
45	2-hydroksychalcon	153 - 154
46	2-hydroksy-4'-metoksy- chalcon	144 - 146
47	2,4'-dimetyl-2-hydroksy- chalcon	122 - 123

EKSEMPEL 48 til 98

Fremstilling av flavaner fra chalconene fra eksemplene 1 - 47

Eksempel 48

Fremstilling av 4'-metylflavan

2'-hydroksy-4-metylchalconet fra eksempel 13, 7,3 g, ble kokt under tilbakeløp med en oppløsning av 22 ml 85% fosforsyre i 219 ml 2-metoksyetanol i 8 timer. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med 1 liter vann, og det oljeaktige bunnfall ble ekstrahert over i 300 ml diklormetan. Det organiske ekstrakt ble utskilt og vasket med vann og med en mettett natriumbikarbonatoppløsning. Filtrering og fordampning ga et residuum av 4'-metylflavanon forurenset med utgangsforbindelsen.

Det intermediære flavanon kunne ikke isoleres i ren form, fordi chalcon-flavanon-omdannelsen er en likevektsreaksjon og sjelden går til fullstendighet eller tillater at flavanonet lett utskilles fra det vanligvis mindre oppløselige chalconet. Derfor ble Clemmensen-reduksjonen utført på den urene chalcon-flavanon-blandingen og resultatet ble plassert på aluminiumoksyd og kromatografert for å fjerne fenoliske urenheter.

Det urene flavanon ble oppløst i en blanding av 200 ml eddiksyre og 45 ml konsentrert saltsyre, deretter oppvarmet til 50°C og tilsatt våt sinkamalgam (fremstilt fra 60 g sinkpulver og 6 g kvikksølvacetat). Blandingen ble rørt i 15 minutter og så hensatt i 30 minutter og så oppvarmet på et dampbad i 15 minutter. Den gjenværende sinken ble frafiltrert og filtratet fortynnet med vann. Råproduktet ble ekstrahert over i toluen og ekstraktet vasket med vann og en mettett natriumbikarbonatoppløsning. Fordampning ga et residuum som

154167

14

ble kromatografert på alkalisk aluminiumoksyd og deretter eluert med toluen. Den første fraksjonen ga ved fordampning av oppløsningsmidlet et residuum som ble omkrystallisert fra etanol, hvorved man fikk 1,4 g 4'-metylflavan, smeltepunkt 94°C.

Eksemplene 49 - 64

Forbindelsene fra eksemplene 49 til 64 ble fremstilt ved en analog fremgangsmåte til det som er beskrevet i eksempel 48, ved å bruke et passende chalcon fra eksempel 1 til 47.

<u>Eksempel</u>	<u>Forbindelse</u>	<u>Smeltepunkt, °C</u>
49	7- klorflavan	37 - 40
50	6-klor-4'-metylflavan	132 - 134
51	4',6-diklorflavan	97 - 99
52	6-klor-4'-metoksyflavan	83 - 84
53	4',6-dimetylflavan	90 - 91
54	4'-metoksy-6-metylflavan	57
55	4',7-diklorflavan	62 - 65
56	7-klor-4'-metylflavan	77 - 78
57	4'-klor-6-metylflavan	89
58	3',4'-diklorflavan	76
59	7-klor-4'-metoksyflavan	84
60	2',4'-diklorflavan	kokep. 138-142 ⁺
61	2',6'-diklorflavan	87 - 89
62	4'-bromflavan	78 - 79
63	2'-metylflavan	73 - 75
64	3',4'-diklor-6-metylflavan	kokep. 170-180 ⁺⁺

⁺ved 0,05 mm Hg = 6,7 Pa

⁺⁺ved 0,15 mm Hg = 20 Pa

Eksempel 65Fremstilling av 4'-klorflavan

5,17 g 4-klor-2'-hydroksychalcon ble kokt under tilbaketilbake i en blanding av 250 ml etanol og en oppløsning av natriumacetat (vannfritt, 4,10 g) i 25 ml vann i 5 timer. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med vann og hensatt over natten. Det faste bunnfallet ble frafiltrert, vasket med vann og tørket. Omkrystallisering fra petroleter (kokepunkt 80-100°C) ga 1,50 g 4'-klorflavanon, smeltepunkt 96-98°C.

4,0 g 4'-klorflavanon ble oppløst i 150 ml eddiksyre og 20 ml konsentrert saltsyre, og deretter tilsatt våt sinkamalgam (fremstilt fra 80 g sinkpulver og 6,4 g kvikksølvklorid). Reaksjonsblandingen ble rørt i en time og så hensatt over natten. Den gjenværende sinken ble frafiltrert og vasket med vann, og filtratet og vaskeoppløsningen slått sammen og fortynnet med vann. Det oljeaktige produktet ble ekstrahert over i eter, og eterekstraktet ble så vasket med vann og en mettet natriumbikarbonatoppløsning. Det ble så tørket over magnesiumsulfat, filtrert og fordampet, og residuet kromatografert på alkalisk aluminiumoksyd og deretter eluert med toluen. Eluatet ble fordampet, og residuet omkrystallisert fra etanol, hvorved man fikk 4'-klorflavan, smeltepunkt 76-77°C.

Eksemlene 66 til 76

Forbindelsene fra eksemplene 66 til 76 ble fremstilt ved samme fremgangsmåte som beskrevet i eksempel 65, idet man brukte passende chalconer fra eksemplene 1 til 47 som utgangsf forbindelser.

<u>Eksempel</u>	<u>Forbindelse</u>	<u>Smeltepunkt, °C</u>
66	4'-metoksyflavanon	90 - 91
	4'-metoksyflavan	80 - 81
67	2'-klorflavanon	100 - 102
	2'-klorflavan	kokep. 130-135°C/+
68	3'-klorflavanon	100 - 102
	3'-klorflavan	kokep. 120-125°C/++
69	3'-metoksyflavanon=	75 - 76
	3'-metoksyflavan	53 - 55
70	4'-fluorflavanon	79 - 80
	4'-fluorflavan	66 - 67
71	4'-brom-6-klorflavanon	154 - 155
	4'-brom-6-klorflavan	105 - 107
72	6-fluorflavanon	72 - 74
	6-fluorflavan	66 - 68
73	6-bromflavanon	118 - 120
	6-bromflavan	58 - 59
74	6-brom-4'-metylflavanon	116 - 119
	6-brom-4'-metylflavan	129 - 130

154167

16

<u>Eksempel</u>	<u>Forbindelse</u>	<u>Smeltepunkt, °C</u>
75	6-brom-4'-klorflavanon	155 - 157
	6-brom-4'-klorflavan	78 - 81
76	Flavanon	75 - 76
	Flavan	43 - 44

⁺ved 0,1 mm Hg = 13,3 Pa

⁺⁺ved 0,07 mm Hg = 9,3 Pa

Ekseemplene 77 til 80

Forbindelsene fra ekseemplene 77 til 80 ble fremstilt ved samme fremgangsmåte som angitt i eksempel 65, idet man brukte passende chalconer fra ekseemplene 1 til 47 bortsett fra at de intermediære flavanoner ikke ble renset.

<u>Eksempel</u>	<u>Forbindelse</u>	<u>Smeltepunkt, °C</u>
77	2'-metoksyflavan	80 - 81
78	3'-trifluormetylflavan	64 - 65
79	6-metoksyflavan	85 - 86
80	4',8-diklorflavan	kokep. 137-142 ⁺

⁺ved 0,06 mm Hg = 8 Pa

Ekseemplene 81 og 82

Forbindelsene fra ekseemplene 81 og 82 ble fremstilt ved samme fremgangsmåte som angitt i eksempel 77, bortsett fra at rensing ble utført ved kromatografi på silisiumdioksydgel og eluert med et angitt oppløsningsmiddel i motsetning til aluminiumoksyd.

<u>Eksempel</u>	<u>Forbindelse</u>	<u>Smeltepunkt, °C</u>
81	4'-hydroksyflavan (diklormetan)	97 - 98
82	2'-hydroksyflavan (1:1 toluen : diklormetan)	kokep. 130-135 ⁺

⁺ved 0,45 mm Hg = 60 Pa

Eksempel 83

Fremstilling av 6-klorflavan

25,0 g 5'-klor-2'-hydroksychalcon ble oppløst i 125 ml etanol og man tilsatte så en vandig oppløsning av 375 ml

1,5 % natriumhydroksyd. Blandingen ble rørt ved romtemperatur i 4 timer, det faste produkt frafiltrert og vasket med vann og tørket, hvorved man fikk 16,65 g 6-klorflavanon, smeltepunkt 90-93°C. En prøve som var omkrystallisert fra 60-80°C petroleter hadde et smeltepunkt på 95-96°C. 4,0 g av flavanonet ble oppløst i 160 ml eddiksyre og 20 ml konsentrert saltsyre, og tilsatt amalgert sink (fremstilt av 40 g sinkstøv og 0,5 g kvikksølvklorid). Blandingen ble rørt i en time og hensatt over natten. Sinken ble frafiltrert og filtratet fortynnet med vann. Det oljeaktige bunnfallet ble ekstrahert over i eter og ekstraktet ble vasket med vann og en mettet natriumbikarbonatoppløsning, deretter tørket over magnesiumsulfat, filtrert og fordampet. Residuet ble kromatografert på alkalisk aluminiumoksyd, eluert med 60-80°C petroleter og man fikk 0,52 g 6-klorflavan, smeltepunkt 71-72°C.

Eksemlene 84 til 85

Forbindelsene i eksemplene 84 og 85 ble fremstilt ved samme fremgangsmåte som angitt i eksempel 83, bortsett fra at man i eksempel 85 ikke karakteriserte det intermediære flavanon.

<u>Eksempel</u>	<u>Forbindelse</u>	<u>Kokepunkt, °C</u>
84	6-metylflavan	138 - 148 ⁺
	6-metylflavanon	smeltep. 107
85	3'-metylflavan	114 - 120 ⁺⁺

+ ved 0,5 mm Hg = 67 Pa

++ ved 0,1 mm Hg = 13 Pa

Eksempel 86

Fremstilling av 4'-(N,N-dimetylamino)flavan

6,6 g 4-(N,N-dimetylamino)-2'-hydroksychalcon ble kokt under tilbakebøp med 100 ml 2N saltsyre i 3 timer. Den resulterende oppløsningen av 4'-(N,N-dimetylamino)flavanonhydroklorid ble tilsatt en suspensjon av amalgert sink (fremstilt fra 40 g sinkpulver og 0,8 g kvikksølvklorid) i 30 ml vann, og blandingen ble rørt ved 45°C i 45 minutter. Sinken ble utskilt ved avhelling fra den vandige væsken, utrørt med 150 ml eddiksyre og så filtrert. Sinken ble ytterligere vasket

med eddiksyre, og de samlede vaskeoppløsninger og filtratet ble fortynnet med vann og ekstrahert med toluen. Ekstraktet ble vasket med vann, tørket over magnesiumsulfat, filtrert og fordampet. Residuet ble kromatografert på nøytral aluminiumoksyd, og den første fraksjonen ble fordampet og man fikk et krystallinsk 4'-(N,N-dimetylamino)flavan som ble omkrystallisert fra metanol og deretter fra petroleter (60-80°C), og man fikk 0,7 g av produktet med et smeltepunkt på 77-78°C.

Eksempel 87

Fremstilling av 4'-aminoflavan

7,20 g 4-acetylamino-2'-hydroksychalcon ble kokt under tilbakeløp med 100 ml eddiksyre og 25 ml konsentrert saltsyre i 7 timer. Den klare oppløsningen av 4'-aminoflavanonhydroklorid ble under en nitrogenatmosfære behandlet med amalgert sink (fremstilt fra 40 g sinkpulver og 0,8 g kvikksølvklorid), og deretter rørt ved romtemperatur i 4 timer. Sinken ble frafiltrert og vasket med eddiksyre. De samlede vaskeoppløsninger og filtratet ble nøytralisert med bikarbonatoppløsning, og det oljeaktige produktet ekstrahert over i diklormetan. Oppløsningen ble kromatografert på nøytral aluminiumoksyd, eluert med diklormetan og den første fraksjonen ble fordampet, hvorved man fikk fast 4'-aminoflavan, som ble omkrystallisert fra kokende 60-80°C petroleter, avkjølt til -10°C hvorved man fikk 180 mg, kokepunkt 85-87°C.

Eksempel 88

Fremstilling av flavan

9,0 g 2'-hydroksychalcon ble utrørt i 100 ml etanol ved romtemperatur, mens 3,05 g natriumborhydrid ble tilsatt i små porsjoner. Etter 2 timers røring ble den fargeløse oppløsningen fordampet til tørrhet og man tilsatte 100 ml eddiksyre. 1,0 g toluensulfonsyre ble tilsatt, og oppløsningen oppvarmet på et dampbad i 30 minutter. Oppløsningen ble fortynnet med vann og ekstrahert med toluen. Ekstraktet ble vasket med en mettet natriumbikarbonatoppløsning, tørket over magnesiumsulfat og fordampet. Residuet ble kromatografert på nøytral aluminiumoksyd og man fikk flav-3-en (6,3 g) som en olje, og forbindelsen ble identifisert ved sitt kjernemagnetiske resonansspektrum. Multipletten ved 5,8 ppm er karakteristisk for flav-3-ener.

Flav-3-ener ble katalytisk hydrogenert i 60 ml eddiksyre idet man brukte 150 g 10 % palladium på karbon ved romtemperatur og atmosfærisk trykk. 750 ml hydrogen ble absorbert i løpet av 3 timer. Reaksjonsblandingen ble filtrert, fortynnet med vann, ekstrahert med toluen, og det fordampede ekstrakt kromatografert på nøytral aluminiumoksyd ved å eluere med toluen. Produktet ble omkrystallisert fra etanol, hvorved man fikk 2,75 g flavan, smeltepunkt 43-44°C.

Eksempel 89

Fremstilling av 4',6-diklorflavan

7,32 g 4,5'-diklor-2'-hydroksychalcon ble oppløst i 100 ml etanol og 1,89 g natriumborhydrid ble tilsatt i små porsjoner. Reaksjonsblandingen ble rørt i en time ved romtemperatur, fordampet til tørrhet og fortynnet med vann. Det utfelte faste stoff ble frafiltrert, vasket med vann og oppvarmet i 100 ml eddiksyre på et dampbad i 2 timer. Eddiksyren ble fordampet, og residuet oppløst i diklormetan og oppløsningen vasket først med vann, så med en mettet natriumbikarbonatoppløsning og deretter med vann og så tørket og fordampet. Residuet ble kromatografert på aluminiumoksyd og eluert med toluen, hvorved man fikk 3,84 g 4',6-diklorflav-3-en som en fargeløs olje, og denne ble identifisert ved sitt kjernemagnetiske resonansspektrum.

3,7 g av flavenet ble oppløst i 100 ml eddiksyre, hvorefter man tilsatte 100 mg 10% palladium på karbon-aktalysator, og oppløsningen ble så hydrogenert ved romtemperatur og atmosfærisk trykk. Etter en time var 400 ml hydrogen absorbert. Oppløsningen ble filtrert, fortynnet med vann og ekstrahert med toluen. Ekstraktet ble vasket med vann og en mettet natriumbikarbonatoppløsning, deretter tørket og fordampet. Omkrystallisering av residuet ga 4',6-diklorflavan (2,70 g), smeltepunkt 99 - 100°C.

Eksemplene 90 til 93

Forbindelsene fra eksemplene 90 til 93 ble fremstilt ved samme fremgangsmåte som i eksempel 80 fra passende forbindelser fra eksemplene 44 til 47.

154167

20

<u>Eksempel</u>	<u>Forbindelse</u>	<u>Smeltepunkt, °C</u>
90	4'-isopropylflavan	46 - 47
91	6-klor-4'-isopropylflavan	117 - 119
92	6-etylflavan	kokep. 130-140 ⁺
93	4'-klor-6-etylflavan	61 - 63

⁺ ved 0,15 mm Hg = 20 Pa

Eksempel 94

Fremstilling av flavan

28,5 g 2-hydroksy-chalcon ble utrørt i 500 ml etanol, mens 9,45 g natriumborhydrid ble tilsatt i små porsjoner. Oppløsningen som forandret seg fra rød til blekt gul ble hensatt over natten ved romtemperatur, hvorefter oppløsningsmidlet ble avdampet og residuet ekstrahert med diklor-metan og vasket med vann. Fordampning av oppløsningsmidlet ga 24,4 g 3-(o-hydroksyfenyl)-1-fenylpropan-1-ol. 1,0 g av denne forbindelsen ble oppløst i konsentrert svovelsyre, og oppløsningen hensatt ved romtemperatur i 2 timer. Den ble så helt over i isvann, og et klebrig oransje produkt ble frafiltrert, vasket med vann, tørket og kromatografert på aluminiumoksyd og eluert med toluen. Fordampning av eluatet ga 0,20 g flavan som ble omkrystallisert fra petroleter, kokepunkt 40-60°C, hvorved man fikk et produkt med smeltepunkt 42-43°C.

Eksempel 95

Fremstilling av 4'-metoksyflavan

12,7 g 2-hydroksy-4'-metoksy-chalcon ble utrørt i 200 ml etanol og 3,8 g natriumborhydrid tilsatt i porsjoner. Oppløsningen ble rørt ved romtemperatur, oppløsningsmidlet fordampet og residuet vasket med vann og omkrystallisert fra vandig etanol, hvorved man fikk 8,60 g 3-(o-hydroksyfenyl)-1-(p-metoksyfenyl)-propan-1-ol, smeltepunkt 114-116°C. Produktet ble kokt under tilbakeløp med 100 ml eddiksyre i 2 timer, hvorefter oppløsningen ble fordampet og residuet kromatografert på aluminiumoksyd. Det forønskede produkt ble eluert med toluen, hvorved man fikk 8,0 g 4'-metoksyflavan, smeltepunkt 82-83°C.

Eksempel 96Fremstilling av 6-brom-4'-metoksyflavan

16,7 g 5-brom-2-hydroksy-4'-metoksyhcalcon ble suspendert i 200 ml etanol, og 3,78 g natriumborhydrid ble tilsatt i porsjoner. Den resulterende oppløsning ble rørt i 30 minutter og så hensatt over natten. Oppløsningsmidlet ble fordampet, og residuet oppløst i kloroform og vasket med vann. Fordampning av oppløsningsmidlet ga et urent karbinolmellomprodukt som ble kokt under tilbaketilgang med eddiksyre i 2 timer. Ved avkjøling fikk man utkrystallisert 6-brom-4'-metoksyflavan som ble frafiltrert og tørket. Utbyttet 10,2 g. Smeltepunkt 121-123°C.

Eksempel 97Fremstilling av 2',4'-dimetylflavan

8,2 g 2-hydroksy-2',4'-dimetylchalcon ble suspendert i 150 ml etanol, hvorefter 2,5 g natriumborhydrid ble tilsatt i porsjoner.

Blandingen ble rørt i 30 minutter, og oppløsningen hensatt over natten. Oppløsningsmidlet ble avdestillert, og residuet oppløst i kloroform og vasket med vann. Fordampning av kloroformen ga det urene intermediære karbinol som ble kokt under tilbaketilgang med eddiksyre (100 ml) i 2 timer. Fordampning ga et oljeaktig residuum som ble kromatografert på aluminiumoksid og eluert med toluen. Hovedfraksjonen ble etter fordampning av oppløsningsmidlet destillert i vakuum og ga 4,80 g 2',4'-dimetylflavan, kokepunkt 135-145°C/0,8 mm Hg = 107 Pa.

Eksempel 98Fremstilling av 4',5,7-trihydroksyflavan

10,5 g 4',5,7-trihydroksyflavanon ble utrørt i 50 ml eddiksyreanhydrid og 5 dråper svovelsyre i 2 timer ved romtemperatur og deretter helt over i isvann. Produktet ble ekstrahert over i eter og ekstraktet vasket med vann og deretter med en natriumbikarbonatoppløsning. 4',5,7-triacetoksyflavanon ble oppnådd ved fordampning av eteren, og produktet ble oppløst i en blanding av 250 ml tetrahydrofuran og 250 ml etanol. 1,2 g natriumborhydrid ble tilsatt i løpet av 5 minutter, og oppløsningen ble rørt i 30 minutter. Videre ble 1,8 g borhydrid tilsatt og røring fortsatt i ytterligere 30

minutter. Oppløsningen ble så surgjort ved hjelp av 8 ml iseddik. Oppløsningsmidlet ble avdampet, og den gjenværende olje ble ekstrahert over kloroform, vasket med vann, tørket og fordampet.

Residuet ble kokt under tilbakesløp med en blanding av 360 ml etanol, 240 ml vann og 3,0 imidazol i 12 timer under nitrogen, hvorefter oppløsningen ble surgjort med 4,0 ml eddiksyre og så fordampet til tørrhet. Residuet ble ekstrahert over i 2 x 250 ml kloroform, kloroformen ble avdampet og residuet kromatografert på silisiumdioksydgel idet man foretok eluering med kloroform-metanol 95:5. Utbytte ble 0,9 g 4',5,7-trihydroksyflavan, smeltepunkt 212-215°C (215-217°C etter omkrystallisering fra eddiksyre).

Eksempel 99

Fremstilling av 4'-(2-hydroksyetoksy)flavan

2,26 g 4'-hydroksyflavan, 8,8 g etylenkarbonat og 0,3 g tetrametylammoniumjodid ble holdt på 140°C i 4 timer. 6,5 g natriumhydroksyd i 20 ml samt 250 ml etanol ble tilsatt, og oppløsningen kokt under tilbakesløp i 5 timer. Den ble så filtrert, fortynnet med vann og ekstrahert tre ganger med eter. De samlede eterekstrakter ble tørket og fordampet, og residuet kromatografert på nøytralt aluminiumoksyd. Produktet ble eluert med kloroform, og etter fordampning av oppløsningsmidlet ble det omkrystallisert fra 60-80°C petroleter, hvorved man fikk 1,2 g 4'-(2-hydroksyetoksy)flavan. Smeltepunkt 84-85°C.

Eksempel 100

Fremstilling av 6,8-diklorflavan

15,3 g 2,4-diklorfenol, 100 ml 10 % natriumhydroksydoopløsning og 37,5 ml 40 % vandig formaldehydopløsning ble holdt på en temperatur mellom 95 og 100°C i 4 timer, deretter avkjølt og surgjort ved tilsetning av 70 ml 2N svovelsyre. Den utfelte olje ble ekstrahert over i toluen, toluenekstraktet ble så vasket med natriumbikarbonatopløsning, tørket og fordampet. Residuet ble omkrystallisert fra kokende vann, hvorved man fikk 4,0 g 3,5-diklor-2-hydroksybenzylalkohol, smeltepunkt 81-82°C ved tørking ved 56°C/20 mm Hg = 2660 Pa.

4,0 g 3,5-diklor-2-hydroksybenzylalkohol og 2,19 g styren ble holdt på 190°C i 3 timer. Det forønskede 6,8-diklorflavan ble oppnådd ved kromatografi av reaksjonsblandingen på aluminiumoksyd og eluere denne med toluen-petroleter (kokepunkt 60-80°C) 1:1. Produktet ble så omkrystallisert fra petroleter (kokepunkt 60-80°C), hvorved man fikk 2,60 g, smeltepunkt 74-76°C.

Eksempel 101

Fremstilling av 8-klorflavan

3-klor-2-hydroksybenzylalkohol ble fremstilt som beskrevet av Zinat et al, J. Prakt. Chem. (2) (152) (1939) 126. 3,96 g av alkoholen ble oppvarmet sammen med 2,6 g styren ved 180°C i 2 timer, hvorefter blandingen ble kromatografert på aluminiumoksyd og eluert med toluen. Den fremstillede oljen ble avdestillert under vakuum og man fikk 0,12 g 8-klorflavan, kokepunkt 155-160°C/0,08 mm Hg = 10,7 Pa.

Eksempel 102

Fremstilling av flavan

15 g 2-hydroksybenzylalkohol og 75 g styren ble kokt under tilbaketilbake ved 230°C i 1½ time. Destillasjon ga først et overløp av styren fulgt av 13,9 g flavan som ble omkrystallisert fra etanol, hvorved man fikk 10,3 g, smeltepunkt 44-46°C.

Biologiske forsøk

A. In vivo-prøving

Forbindelsen 4',6-diklorflavan ble oppløst i olivenolje B.P. ved konsentrasjoner på 3 mg/ml og 1 mg/ml, og 0,1 ml porsjoner av disse oppløsninger ble tilført mus oralt.

Retro-orbitale blødninger ble utført en halv time og en time etter tilførselen av dosen, og deretter hver time til 7 timer og så igjen ved 24 timer. Plasma som ble oppnådd fra disse blødninger ble prøvet for antiviral aktivitet ved å bruke den hemningsprøve som er beskrevet ovenfor. Total faeces fra hver mus ble oppsamlet etter 24 timer og ble maserert med en mindre mengde absolutt alkohol, og væsken ble så prøvet for antiviral aktivitet som beskrevet ovenfor. Galleblæren hos musene ble fjernet og hver ekstrahert med

10 µl absolutt alkohol, og ekstraktet ble igjen prøvet ved platehemningsprøven.

Antiviral aktivitet kunne observeres i plasma-prøver inntil 2 timer etter tilførselen, i galleblæren og i faeces-ekstrakter. Ved kalibrering mot en standard kurve kunne man bedømme plasmakonsentrasjonen etter en time til 2 til 4 µM for mus som fikk den lavere dose, og ved 10 µM for mus som fikk den høyere dose (dosene var ca. 30 mg/kg og 100 mg/kg kroppsvekt henholdsvis).

B. Intranasal tilførsel - simulering in vitro

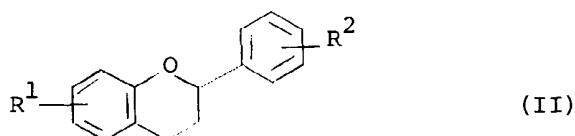
Det ble fremstilt petriskåler som for platehemningsprøven og sammenhengende flak av celler ble dekket med et lag av agarosegel. Forbindelsen, 4',6-diklorflavan (1 µg) ble oppløst i etanol og påført undersiden av lokkene på Petri-skålene. Da etanolen hadde fordampet, hvorved man fikk forbindelsen spredt utover undersiden av lokkene, ble disse re-plassert på Petri-skålene. Tilstrekkelig forbindelse trengte igjennom agaroselaget til at man fikk en total hemning av platedannelsen.

C. Forskjellige flavanderivater ble prøvet ved den reduksjonsprøve som er beskrevet ovenfor, og deres ED₅₀-verdi mot rhinovirus serotype 1B ble bestemt.

<u>Flavanderivat</u>	<u>ED₅₀ (μM)</u>
4',6-diklor-	0,0014
4'-metyl-6-klor-	0,0023
4'-metyl-	0,0125
6-metoksyl-	0,0125
4'-metoksyl-6-klor-	0,013
2'-metyl-	0,015
4'-klor-7-metyl-	0,0155
3',4'-diklor-6-metyl-	0,017
4'-fluor-	0,0175
4'-brom-6-klor	0,021
4'-brom-	0,036
4'-klor-	0,04
3',4'-diklor-	0,04
4',6-dimetyl-	0,042
flavan	0,046
2',6'-diklor-	0,048
4',7-diklor-	0,048
4'-amino-	0,05
6-klor-	0,05
4'-hydroksy-	0,06
2',4'-diklor-	0,064
4'-acetoksyl-	0,067
4'-metoksyl-	0,07
7-klor-	0,07
4'-metyl-7-klor-	0,083
4'-metoksyl-6-metyl-	0,1
2'-klor-	0,112
3'-metoksyl-	0,125
6-metyl-	0,15
4'-NN-dimetyl-amino-	0,265
3'-klor-	0,27

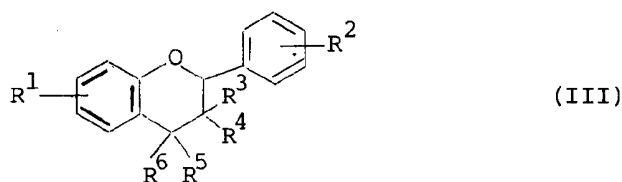
P a t e n t k r a v

1. Analogifremgangsmåte for fremstilling av
antiviralt virksomme flavanforbindelser med den generelle
formel:



samt farmasøytisk akseptable salter derav, hvor R^1 representerer to substituenten valgt fra hydrogen, halogen, nitro, cyano, trifluormetyl, C_1 - C_4 alkylamino og C_1 - C_4 alkyl, og R^2 representerer to substituenten valgt fra hydrogen, halogen, nitro, cyano, trifluormetyl, C_1 - C_4 alkylamino, amino, C_1 - C_4 alkyl, C_1 - C_4 alkoksyl unntatt 4'- C_1 - C_4 alkoksyl, hydroksyetoksy og hydroksyl, unntatt 4'-hydroksyl, forutsatt at når R^2 representerer to hydrogenatomer, så er en av substituentene representert ved R^1 forskjellig fra hydrogen eller C_1 - C_4 alkyl og også forutsatt at minst en av substituentene representert ved R^1 og R^2 er et hydrogenatom, k a r a k t e r i s e r t v e d a t m a n

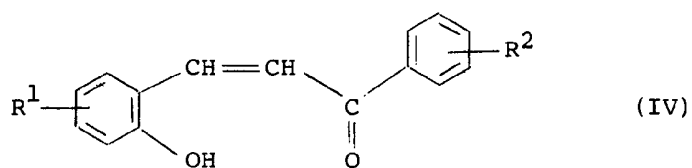
a) reduserer en forbindelse med formelen



hvor R^1 og R^2 har den ovenfor angitte betydning, hver av R^3 og R^6 er hydrogenatomer, og R^4 og R^5 er like eller forskjellige, og er hydrogen- eller halogenatomer eller hydroksylgrupper forutsatt at bare en av R^4 og R^5 er et hydrogenatom, eller R^4 og R^5 danner sammen en dobbeltbinding eller et av geminalparene R^3 og R^4 eller R^5 og R^6 representerer en okso-, ketal-, tioketal- eller ditioketalgruppe, og det andre paret består av et hydrogenatom og et hydrogen- eller

halogenatom eller en hydroksylgruppe, eller en tautomer
eller et salt derav; eller

b) i rekkefølge reduserer og deretter ringslutter,
eller ringslutter og deretter reduserer, med eller uten
isolering av noen mellomprodukter, en forbindelse med
formelen:



hvor R^1 og R^2 har de ovenfor angitte betydninger; eller

c) kondenserer en forbindelse med formelen:



hvor R^1 har den ovenfor angitte betydning, og X er en
hydroksylgruppe eller et halogenatom, med en forbindelse
med formelen:



hvor R^2 har den ovenfor angitte betydning,

og, om ønsket, danner farmasøytisk akseptable salter av forbindelser
med formel II ved omsetning av den forbindelse som har en
amino- eller hydroksylsubstituent, i et vandig medium med
en passende mineral- eller organisk syre eller base.

154167

28

2. Analogifremgangsmåte ifølge krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d at man fremstiller
4'-fluorflavan, 3',4'-diklor-6-metylflavan, 4'-klor-
7-metylflavan, 6-klor-4'-metoksyflavan, 4'-metylflavan
og 6-klor-4'-metylflavan.

5

3. Analogifremgangsmåte ifølge krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d at man fremstiller
4',6-diklorflavan.

10

15

20

25

30

35