[B] (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLÄGGNINGSSKRIFT 78677

C (45) Patentti myönnetty
Patent meddelat 11.09.1989

(51) Kv.lk.⁴/Int.Cl.⁴ C 07 C 50/32

SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(21) Patenttihakemus – Patentansökning 823531

(22) Hakemispäivä – Ansökningsdag 15.10.82

(24) Alkupäivä – Giltighetsdag 15.10.82

(41) Tullut julkiseksi – Blivit offentlig 17.04.83

(44) Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. – Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad 31.05.89

(86) Kv. hakemus – Int. ansökan

(32) (33) (31) Pyydetty etuoikeus – Begärd prioritet 16.10.81

16.07.82 Iso-Britannia-Storbritannien(GB)
8131206, 8220680 Toteennäytetty-Styrkt

(71) The Wellcome Foundation Limited, 183-193 Euston Road, London, Iso-Britannia-Storbritannien(GB)

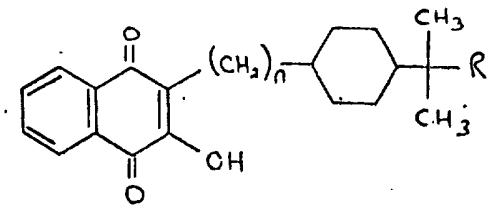
(72) Alan Thomas Hudson, Sevenoaks, Kent,
Anthony Winchester Randall, Hayes, Kent, Iso-Britannia-Storbritannien(GB)

(74) Oy Kolster Ab

(54) Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten naftokinonien valmistamiseksi, ja menetelmässä käyttökelpoisia välituotteita - Förfarande för framställning av terapeutiskt användbara naftokinoner, och vid förfarandet användbara mellanprodukter

(57) Tiivistelmä

Keksintö koskee kaavan I mukaisten 2-substituoitujen 3-hydroksi-1,4-naftokinonien valmistusta,



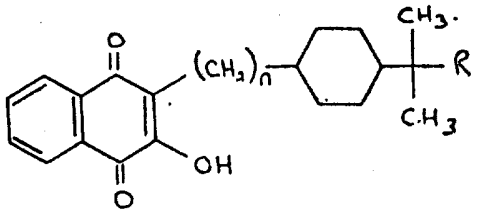
(I)

niistä valmistettuja farmaseuttisia tai eläinlääkevalmisteita, sekä niiden käyttöä ihmisten ja eläinten hoidossa. Kaavassa I R on C_{1-10}-alkyyliryhmä ja n on 0 tai 1.

Erityisen edullisia kaavan (I) mukaisia yhdisteitä ovat 2-(4'-t-butyylisykloheksyyli)-3-hydroksi-1,4-naftokinoni, 2-hydroksi-3-(4'-t-pentyylisykloheksyyli)-1,4-naftokinoni, 2-[trans-(4-t-butyylisykloheksyyli)metyyli]-3-hydroksi-1,4-naftokinoni ja 2-[trans-(4-t-pentyylisykloheksyyli)metyyli]-3-hydroksi-1,4-naftokinoni. Yhdisteet ovat arvokkaita alkueläinten vastaisina aineina, erityisesti malariaa, kokkidioosia ja Theileria-loisien aiheuttamia infektioita hoidettaessa.

(57) Sammandrag

Uppfinningen hänför sig till framställningen av 2-substituerade 3-hydroxi-1,4-naftokinoner med formeln I



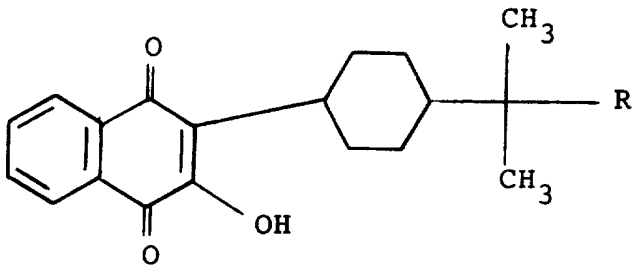
(I)

och farmaceutiska och veterinärmedicinska preparat därav, samt till användningen av dessa vid behandling av människor och djur. I formeln I är R en C_{1-10}-alkylgrupp och n är 0 eller 1.

Särskilt prefererade föreningar med formeln (I) är 2-(4'-t-butylcyklohexyl)-3-hydroxi-1,4-naftokinon, 2-hydroxi-3-(4'-t-pentylcyklohexyl)-1,4-naftokinon, 2-/trans-(4-t-butylcyklohexyl)metyl/-3-hydroxi-1,4-naftokinon och 2-/trans-(4-t-pentyl-cyklohexyl)metyl/-3-hydroxi-1,4-naftokinon. Föreningarna är värdefulla som antiprotozoala medel, i synnerhet vid behandlingen av malaria, kockidios och Theileria-parasiter förorsakade infektioner.

Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten naftokinonien valmistamiseksi, ja menetelmässä käyttökelpoisia välituotteita

Keksinnön kohteena on menetelmä kaavan (I) mukaisten terapeuttisesti käyttökelpoisten naftokinonijohdannaisten ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi,



(I)

jossa R on suoraketjuinen C_{1-4}-alkyyli. Kaavan (I) mukaiset yhdisteet ovat käyttökelpoisia alkueläimien aiheuttamien, ihmisten ja eläinten infektioiden kemoterapiassa.

2-substituoiduilla 3-hydroksi-1,4-naftokinoneilla on viime aikoina kuvattu olevan alkueläinten vastainen vaikutus, erityisesti malarian vastainen vaikutus, ja pienemmässä määrin, itiöloisten vastainen vaikutus. Siten Fieser et al. (J. Amer. Chem. Soc. 70 (1948) 3156) ovat kuvanneet muutamia satoja tällaisia yhdisteitä malarian vastaisesti vaikuttavina. Sellaisia näistä yhdisteistä, joissa sykloalkyyliryhmä oli kiinnittynyt kinonirenkaaseen, pidettiin erityisen aktiivisina, ja niitä on kuvattu US-patenttijulkaisussa nro 2 553 648. Joitakin näistä yhdisteistä annettiin ihmisille, mutta annetuilla yhdisteillä oli se heikkous, että tarvittiin suuria annoksia terapeuttisen vaikutuksen aikaan saamiseksi ihmisellä. Sen jälkeen huomio siirtyi yhdisteisiin, joissa oli w-sykloheksyylialkyylisivuketju, erityisesti menoktoniin, 2-(8-sykloheksyylioktyyli)-3-hydroksi-1,4-naftokinoniin (esimerkiksi Fieser et al., J. Med. Chem. 10 (1967) 513), mut-

ta mielenkiinto sammui jälleen, koska vaikutus ihmisellä oli heikko.

US-patenttijulkaisussa nro 3 357 742 kuvataan 2-(4'-sykloheksyylisykloheksyyli)-1,4-naftokinoni itiöloisten vastaisena aineena, mutta tätä yhdistettä ei ole milloinkaan valmistettu kaupallisesti.

GB-patenttijulkaisussa nro 1 553 424 kuvataan 2-hydroksi-3-sykloheksyylialkyyli- ja 2-hydroksi-3-sykloheksyyli-1,4-naftokinonijohdannaisia tehokkaina teilerioosin ehkäisyssä ja hoidossa. EP-hakemusjulkaisu nro 78 101 426 sisältää mm. 3-hydroksi-1,4-naftokinoneja, joissa substituenttina 2-asemassa on C_{3-12}-sykloalkyylirengas, joka on mahdollisesti substituoitu C_{1-4}-alkyylillä, erityisesti metyylillä. Hakemuksessa ei kuitenkaan mainita mitään erityisiä substituoituja yhdisteitä, ei myöskään mainita, mihin kohtiin sykloalkyylirenkaan substituentit tulisi liittää.

Kaavan (I) mukaisilla naftokinoneilla on havaittu olevan hyvin voimakas yhden tai useamman alkueläinlajin vastainen vaikutus. Siten tietyillä näistä yhdisteistä on paljon voimakkaampi aktiivisuus ihmisen loista Plasmodium falciparum vastaan kuin sukulaisyhdisteillä, joita aiemmin pidettiin mahdollisina malarian vastaisina aineina. Lisäksi näillä yhdisteillä on voimakas, laajaspektrinen vaikutus kaupallisesti tärkeitä Eimeria-lajeja, kokkidioosin aiheuttajia vastaan.

On huomattava, että substituoimattoman 1,4-naftokinonin 2- ja 3-asemat ovat identtiset, ja siten nimettäessä yhdisteitä ilmoitetaan sopimuksen mukaan, onko sykloheksyylisubstituentti vai hydroksyyliryhmä 2-asemassa. Mukavuuden vuoksi tässä hakemuksessa jätetään tarkemmin määrittelemättä yhdisteet, joissa substituentti on 2-asemassa.

Kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä metyyli ja etyyli ovat edullisia symbolin R merkityksiä.

On huomattava, että kaavan (I) mukaiset yhdisteet voivat esiintyä cis- ja trans-isomeereina, so. syklohek-syylirengas voi olla cis- tai trans-substituoitu naftokinonirenkaalla ja 4-t-alkyylillä. Keksintö sisältää sekä cis- että trans-isomeerit sekä niiden seokset kaikissa suhteissa. Yleensä silloin, kun yhdiste on isomeeriseoksena, trans-isomeeria on noin 50 %, tai se on hallitseva, mutta myös seokset, joissa cis-isomeeri on hallitseva, kuuluvat keksinnön piiriin. Isomeerien tarkka suhde voi vaihdella tarpeen mukaan; tyypillisissä seoksissa cis/trans-isomeerisuhde on noin 1:1, 40:60 tai 5:95.

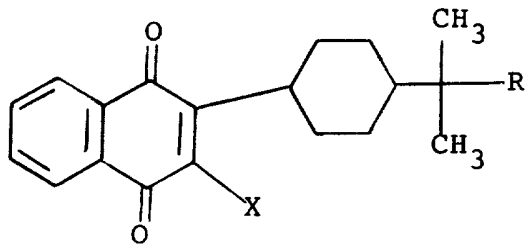
Erityisiä kaavan (I) mukaisia yhdisteitä ovat: 2-(4'-butyylisykloheksyyli)-3-hydroksi-1,4-naftokinoni, 2-hydroksi-3-(4'-t-pentyylisykloheksyyli)-1,4-naftokinoni, niiden puhtaat cis- ja trans-isomeerit sekä isomeeriseokset mukaan luettuna.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet voivat esiintyä tautomeerisessa muodossa, jossa hydroksyyliryhmä luovuttaa protonin jollekin oksoryhmistä, ja tällaiset tautomeeriset muodot sisältyvät keksintöön. Uskotaan kuitenkin, että kaavan (I) mukainen muoto on pysyvä.

Koska kaavan (I) mukaisten yhdisteiden hydroksyyliryhmä voi muodostaa suoloja emästen kanssa, farmaseuttisesti hyväksyttäviin suoloihin kuuluvat alkalimetallikationin, kuten natriumin tai kaliumin, ja orgaanisten emästen, kuten etanoliamiinin, dietanoliamiinin ja N-metyyliglukamiinin kanssa muodostetut suolat.

Kaavan (I) mukaisia yhdisteitä valmistetaan keksinnön mukaisesti siten, että

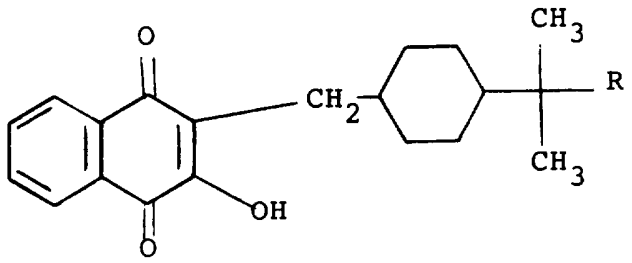
a) hydrolysoidaan yhdiste, jonka on kaava (II)



(II)

jossa R on suoraketjuinen C_{1-4}-alkyyli ja X on halogeeni; tai

b) suoritetaan kaavan (IB) mukaiselle yhdisteelle Hooker-hapetus



(IB)

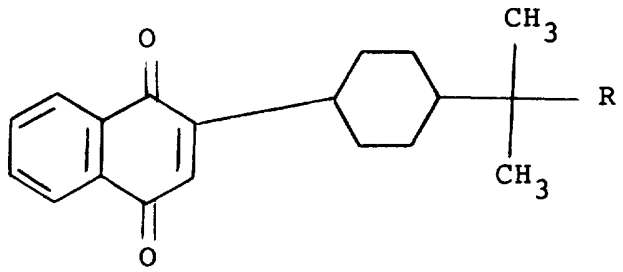
minkä jälkeen haluttaessa valmistetaan vaiheesta a) tai b) saadun kaavan (I) mukaisen yhdisteen trans-isomeeri epimeroimalla vastaava cis-isomeeri väkevöidyllä rikkihapolla.

Menetelmässä (a) muutetaan analoginen 3-halogeeni-, esimerkiksi 3-kloori- tai 3-bromiyhdiste, jolla on kaava (II), jossa X on halogeeni, vastaavaksi 3-hydroksiyhdisteeksi emäshydrolyysillä, esimerkiksi alkalimetallihydroksidilla sopivassa väliaineessa; esimerkiksi kaliumhydroksidi vesipitoisessa metanolissa on todettu sopivaksi.

Kaavan (II) mukaiset yhdisteet ovat uusia yhdisteitä. Niitä voidaan valmistaa alalla tunnetuilla menetelmillä rakenteeltaan analogisten yhdisteiden valmistamiseksi, esimerkiksi L. Fieserin (J. Am. Chem. Soc. (1948) 3165) menetelmällä.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa myös vastaavista kaavan (IB) mukaisista yhdisteistä Hookerin hapetuksella (kts. esimerkiksi J. Am. Chem. Soc. (1948) 3174 tai 3215) (menetelmä b).

Kaavan (II) mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa esim. halogenoimalla alalla tunnetuilla menetelmillä yhdiste, jonka kaava on (III),

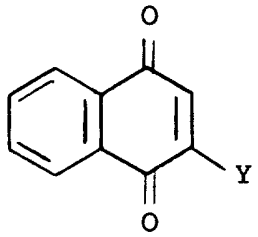


(III)

jossa n ja R ovat edellä määritellyt.

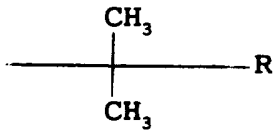
Alan asiantuntijoille on selvää, että yllä kuvatut valmistusmenetelmät voivat johtaa joko kaavan (I) mukaisten yhdisteiden isomeeriseoksiin (cis ja trans) tai, kun käytetään lähtöaineena puhdasta isomeeria, puhtaisiin kaavan (I) mukaisiin cis- tai trans-yhdisteisiin.

Kaavan (III) mukaisia yhdisteitä voidaan lisäksi valmistaa antamalla yhdisteen, jonka kaava on (VI),



(VI)

jossa Y on halogeeni (esimerkiksi kloori tai bromi), reagoida sykloheksyyli- tai sykloheksyylimetyyliryhmän luovuttajan kanssa, joka sisältää ryhmän



ja joka on sellaisessa muodossa, että se luovuttaa substituoidun sykloheksyyli- tai sykloheksyylimetyyliryhmän vapaana radikaalina, jossa elektroni on oikeassa asemassa vastapäätä alkyylisubstituenttia, joko spontaanisti tai hapettavissa olosuhteissa.

Soveltuva luovuttaja on vastaava sykloalkaanikarboksyylihappo, jolle voidaan tehdä hapettava dekarboksylaatio. Esimerkiksi persulfaatti katalysaattorin, kuten

hopeaionien, kanssa on hyvä tähän tarkoitukseen (kts. Jacobson N. et al. Annalen (1972) 763, 135 ja Acta Chem. Scand. 27 (1973) 3211). Hapettavana aineena käytetään sopivasti ammoniumpersulfaattia hopeanitraatilla katalysoiden.

Esimerkki luovuttajasta, jossa itsessään on peroksidiryhmä, on menetelmä, jossa käytetään asianmukaisesti substituoitua sykloalkanoyyliperoksidia (US-patenttijulkaisu nro 2 553 647).

Vapaan sykloalkyyliradikaalin aikaan saaminen spontaanilla irtoamisella luovuttajasta voidaan saada aikaan esimerkiksi käyttämällä trisykloalkyyliboraania. Tällainen reagenssi on helppo valmistaa antamalla sykloalkeenin reagoida boraanidimetyylisulfidin kanssa. Reaktio on hyvä suorittaa liuottimessa, esimerkiksi tetrahydrofuraanissa.

Muita mahdollisia sykloheksyylin tai sykloheksyylimetyylin luovuttajia ovat t-alkyylisubstituoidut sykloheksyyli- tai sykloheksyylimetyylikarboksyylihapot.

Alan asiantuntijoille on selvää, että yllä mainitut menetelmät johtavat cis- ja trans-isomeerien seokseen.

On havaittu, että ei-stereospesifiset menetelmät johtavat yleensä cis- ja trans-isomeerien suhteeseen noin 1:1, trans-isomeerin määrää saatavassa tuotteessa voidaan lisätä säätämällä reaktio-olosuhteita, erityisesti valitsemalla liuotinsysteemi, johon trans-isomeeri on heikommin liukeneva. Tällaiset liuotinsysteemit on helppo määrittää kokeilemalla, mutta erityisen tehokkaaksi havaittu liuotinsysteemi on veden ja asetonitriilin seos. Käyttämällä tällaisia systeemejä voidaan saada cis/trans-suhteeksi noin 2:3-1:4.

Kun halutaan saadan puhdas cis- tai trans-isomeeri, käytetään stereospesifistä synteesiä, esimerkiksi edellä kuvattua Hooker-hapetusta, tai erotetaan isomeerit fysikaalisin menetelmin. Tällaiset menetelmät ovat alalla hyvin tunnettuja, ja niihin kuuluvat esimerkiksi fraktioiva

kiteytys tai kromatografinen erotus.

On havaittu lisäksi, että kaavan (I) mukaisten yhdisteiden cis-isomeeri voidaan epimeroida trans-isomeeriksi. Tällainen kaavan (I) mukaisten yhdisteiden cis-isomeerin epimeroiminen trans-isomeeriksi on keksinnön lisäkohteena.

Tämä voidaan saada aikaan erityisesti käsittelemällä tietyillä mineraalihapoilla, erityisesti väkevöidyllä rikkihapolla. Cis-isomeerin muuttumisaste trans-isomeeriksi tällaisissa epimeroinneissa voidaan säätää valitsemalla asianmukaiset reaktio-olosuhteet, erityisesti lämpötila ja reaktion kesto. Asianmukaisissa olosuhteissa voidaan valmistaa suurinpiirtein puhdasta trans-isomeeria. Sopiva lämpötila on 50-70°C tai korkeampi, ja sopivat reaktioajat ovat 6-24 h tai jopa 4-6 vrk tai pidempiä.

Yllä kuvattuja epimerointireaktioita voidaan tehdä puhtaille cis-isomeereille, mutta niitä käytetään mukavimmin isomeeriseoksille, jotka on valmistettu ei-stereospesifisillä synteesimenetelmillä. Reaktioita voidaan käyttää joko valmistettaessa kaavan (I) mukaisten yhdisteiden trans-isomeereja, jotka ovat suurinpiirtein vapaita cis-isomeerista, tai valmistettaessa seoksia, joissa cis- ja trans-isomeerien suhde on toivottu, esimerkiksi 5:95, 3:97 tai jokin muu haluttu suhde.

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden on havaittu olevan hyvin aktiivisia ihmisen malarialoista Plasmodium falciparumia vastaan, ja niillä on siten käyttöä malarian hoidossa ja/tai ehkäisyssä ihmisellä. Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden on havaittu olevan hyvin aktiivisia myös alkueläimiä vastaan, jotka aiheuttavat kaupallisesti tärkeitä kokkidioosimuotoja, erityisesti Eimeria tenellaa ja E. acervulinaa vastaan, ja ne ovat siten käyttökelpoisia hoidettaessa tai ehkäistäessä kokkidioosia eläimissä, erityisesti linnuissa.

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden on havaittu olevan

myös sekä syklo-oksygenaasi- että lipo-oksygenaasientsyymien inhibiittoreita kaniinin liuskatumaisissa leukosyyteissä in vitro. On myös havaittu, että kaavan (I) mukaiset yhdisteet estävät leukosyyttien akkumuloitumista rotan tulehtuneen silmän kammioveteen sekä suun kautta että paikallisesti annettuina.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet ovat siten arvokkaita hoidettaessa sairaustiloja, jotka voivat helpottua estettäessä arakidonihapon (A.A.:n) metabolian lipo-oksygenaasi- ja syklo-oksygenaasireitit, esimerkiksi hoidettaessa niveltulehduksia, tulehtunutta ihoa (ihottumia) tai silmätulehdusta (esimerkiksi sidekalvontulehdusta).

On huomattava, että se määrä kaavan (I) mukaista yhdistettä, joka tarvitaan hoidossa tai ehkäisyssä, ei vaihtele vain aktiivisen yhdisteen mukaan, vaan myös antotavan ja infektion tai tilan luonteen mukaan. Yleensä imettäväisille (ihminen mukaan luettuna) hoitotarkoituksessa soveltuva annos, esimerkiksi malariaa hoidettaessa, on 0,1-200 mg/kg vrk, edullisesti 1-100 mg, erityisesti 10-40 mg. Hoidettaessa tai ehkäistäessä kokkidioosia yhdistettä yleensä annetaan rajoittamattomina annoksina juomavedessä tai ruuassa, ja soveltuvat lääkepitoisuudet ovat 1-500 ppm, edullisesti 10-400 ppm, edullisimmin noin 200 ppm.

Vaikka on mahdollista antaa kaavan (I) mukaisia yhdisteitä sellaisenaan silloin, kun niitä käytetään alkueläinten vastaisina aineina, on edullista antaa aktiivinen aineosa farmaseuttisena tai eläinlääkevalmisteena.

Lääkevalmisteet sisältävät aktiivista aineosaa yhdessä yhden tai useamman farmaseuttisesti hyväksyttävän kantoaineen, ja mahdollisesti muiden terapeuttisten ja/tai ehkäisevien aineosien kanssa. Kantoaineen tai -aineiden tulee olla "hyväksyttäviä" siinä mielessä, että niiden tulee soveltua yhteen valmisteen muiden aineosien kanssa, eivätkä ne saa olla haitallisia potilaalle.

Aktiivisten yhdisteiden on hyvä olla (lääkevalmisteina) yksikköannosmuodossa. Soveltuva yksikköannosmuoto sisältää aktiivista yhdistettä tai aktiivisia yhdisteitä 10 mg-1 g.

Terapeuttisiin valmisteisiin kuuluvat suun kautta, peräsuolen kautta tai parenteraalisesti (sisältäen lihakseen ja laskimoon antamisen) annettavat valmisteet, vaikka suun kautta antaminen on edullinen antotapa. Valmisteet voivat, silloin kun se on tarkoituksenmukaista, olla erillisinä annosyksikköinä, ja ne voidaan valmistaa millä tahansa farmasiassa hyvin tunnetulla menetelmällä. Kaikkiin menetelmiin kuuluu vaihe, jossa aktiivinen aine sekoitetaan nestemäisiin tai hienojakoisiin kiinteisiin kantoaineisiin tai molempiin, ja muodostetaan sitten, mikäli välttämätöntä, tuotteesta haluttu formula.

Eläinlääketieteessä käytettävät lääkevalmisteet, erityisesti kokkidioosin hoitoon tarkoitetut valmisteet, ovat edullisesti joko jauheena tai nestemäisenä tiivisteenä. Tavanomaisen eläinlääkevalmistekäytännön mukaisesti jauheisiin voidaan lisätä tavallisia vesiliukoisia lisäaineita, kuten laktoosia tai sakkaroosia, valmisteiden fysikaalisten ominaisuuksien parantamiseksi. Erityisen edulliset keksinnön mukaiset jauheet sisältävät 50-100 paino-%, edullisesti 60-80 paino-%, yhtä tai useampaa aktivista aineosaa, ja 0-50 paino-%, edullisesti 20-40 paino-% tavanomaisia eläinten lääkkeissä käytettäviä lisäaineita. Nämä jauheet voidaan joko lisätä eläinten ruokaan, esimerkiksi tekemällä välivaiheena esisekoitus, tai laimentaa eläinten juomaveteen.

Keksinnön mukaiset nestetiivisteet sisältävät sopivasti kaavan (I) mukaista vesiliukoista yhdistettä tai sen suolaa, ja ne saattavat mahdollisesti sisältää eläinlääketieteessä hyväksyttävää veteen sekoittuvaa liuotinta, esimerkiksi polyetyleeniglykolia, propyleeniglykolia, glyserolia, glyseroliformaldehydiä tai jotain tämänkaltaista

liuotinta sekoitettuna etanoliin, jota on korkeintaan 30 tilavuus-%. Nestemäiset tiivisteet voidaan annostella eläinten, erityisesti siipikarjan juomaveteen.

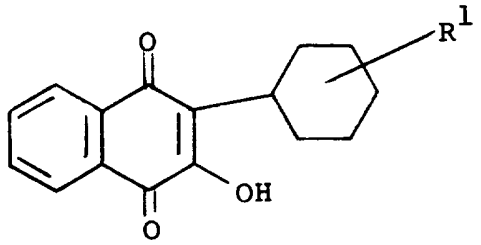
Keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää myös yhdessä muiden terapeuttisten aineiden, esimerkiksi muiden alkueläinten vastaisten aineiden kanssa. Keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää erityisesti yhdessä tunnettujen malarian vastaisten ja/tai kokkidioosin vastaisten aineiden kanssa.

Kun kaavan (I) mukaisia yhdisteitä käytetään yhdessä toisen saman loisen vastaisen terapeuttisen aineen kanssa, kunkin yhdisteen annos on erilainen kuin käytettäessä yhdistettä yksinään. Alan asiantuntijoiden on helppo määrittää soveltuvat annokset.

<u>Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden biologinen vaikutus</u>

I. 2-(substituoitu sykloheksyyli)-3-hydroksinaftokinonien vaikutus Plasmodium falciparumia vastaan

Alla olevan kaavan mukaisten yhdisteiden, kaavan (I) mukaiset yhdisteet mukaan luettuina, Plasmodium falciparumia estävä vaikutus tutkittiin.



Koemenetelmä oli muunnos Desjardins'in et al. (Antimicrob. Agents and Chemotherapy 16 (1979) 710-718) menetelmästä. Yhdisteet liuotettiin etanoliin pitoisuudeksi 1000 mg/l, ja tehtiin laimennokset pitoisuuteen 1 mg/l asti.

Lääkeliuokset laimennettiin sarjassa käyttäen RPMI 1640 väliainetta + 10 % ihmisen plasmaa mikrotitrausmal-

joissa. Lisättiin loisten saastuttamia ja tuoreita veren punasoluja yhdessä G^3H-hypoksantiinin kanssa RPMI 1640 väliaine + 10 % ihmisen plasmaan, ja viljelmiä inkuboitiin 36 h. Viljelmät kerättiin, hiukkasmainen sisältö kerättiin lasikuitu-suodatinpaperille ja pestiin runsaalla vesimäärällä. Suodatinpaperit kuivattiin, ja radioaktiivisuus mitattiin käyttäen tuikelaskuria. Infektoituja käsittelemättömiä ja infektoimattomia käsittelemättömiä viljelmiä käytettiin vertailunäytteinä. Prosentuaalinen inhibitio korreloitiin annoksen kanssa ED_{50}-arvon saamiseksi. Tulokset ovat taulukossa 1.

Taulukko 1

R^A	ED_{50} (M)
4'-sykloheksyyli (100 % trans)	$4,05 \times 10^{-9}$
4'-metyyli (100 % trans)	$9,2 \times 10^{-9}$
3'-t-butyyli (80 % trans)	$3,0 \times 10^{-7}$
4'-t-butyyli (50 % trans)	$5,99 \times 10^{-10}$
(4'-t-butyyli (75 % trans)	$5,63 \times 10^{-11}$
4'-t-butyyli (80 % trans)	$3,75 \times 10^{-11}$
4'-t-butyyli (100 % trans)	$5,71 \times 10^{-11}$
4'-t-butyyli (100 % cis)	$1,08 \times 10^{-9}$
4'-t-pentyyli (60 % trans)	$6,0 \times 10^{-11}$
4'-t-butyyli (100 % cis)	$1,08 \times 10^{-9}$

Menoktonin /2-(8-sykloheksyylioktyyli)-3-hydroksi-1,4-naftokinoni/ ED_{50}-arvon havaittiin olevan $2,55 \times 10^{-7}$.

Tulokset osoittavat, että kaavan (I) mukaiset yhdisteet olivat merkittävästi aktiivisempia kuin muut yhdisteet, joiden aktiivisuutta ihmisen loista, P. falciparumia vastaan tutkittiin.

II. 2-(substituoitu sykloheksyyli)-3-hydroksinaftokinonien Eimeria-lajien vastainen vaikutus

a) Vaikutus in vitro E. tenellaa vastaan

Kohdassa I tutkittujen yhdisteiden aktiivisuus E. tenellaa vastaan tutkittiin. Kokeessa käytetyt viljelmät infektoitiin kypsiä itiöitä sisältävillä E. tenella-sus-

pensioilla välittömästi yhdisteiden lisäämisen jälkeen. Yhdisteistä tehtiin laimennussarjat esimerkin 8 mukaisesti pitoisuusalueella 19 µg/l-20 mg/l pienemmän inhiboivan pitoisuuden (MIC) määrittämiseksi. Kun viljelmiä oli inkuboitu 96 h, ne kiinnitettiin ja solut värjättiin 0,1 % toluidiinisinisellä. Värjätyistä viljelmistä tutkittiin mikroskooppisesti loisten läsnäolo. Tulokset ovat taulukossa 2.

Taulukko 2

R^A	MIC(M)
4'-sykloheksyyli (100 % trans)	$9,2 \times 10^{-8}$
4'-metyyli (100 % trans)	$4,6 \times 10^{-7}$
3'-t-butyyli (80 % trans)	$4,0 \times 10^{-6}$
4'-t-butyyli (80 % trans)	$1,0 \times 10^{-8}$
4'-t-butyyli (100 % trans)	$2,5 \times 4,0 \times 10^{-9}$
4'-t-butyyli (100 % cis)	$2,5 \times 10^{-8}$
4'-t-pentyyli (50 % trans)	$9,6 \times 10^{-9}$
4'-t-pentyyli (60 % trans)	$9,6 \times 10^{-9}$
4'-t-pentyyli (96 % trans)	$9,6 \times 10^{-9}$

b) Vaikutus in vivo E. tenellaa ja E. arveculinaa vastaan

Esimerkissä 9 (a) tutkitut yhdisteet tutkittiin antikokkidioosikokeella in vivo. Yhdisteitä annettiin ryhmille, joissa oli kussakin 5 urospuolista Ross Ranger-kananpoikaa (7 vrk:n ikäisiä), erilaisina annoksina ruuan mukana 6 vrk:n ajan. Jokainen kananpoika infektoitiin Eimeria tenellalla ja E. arveculinalla päivän kuluttua lääkityksen aloittamisesta E. tenellan aiheuttamilta vauri-oilta välttyneiden lintujen lukumäärä laskettiin 5 vrk:n kuluttua infektoinnista, samoin tutkittiin E. arveculina-itiörakkuloiden läsnä- tai poissaolo ulosteissa. Tulokset ovat taulukossa 3, jossa luvut ilmoittavat E. tenellasta selvinneiden lintujen lukumäärän, ja kirjaimet osoittavat E. arveculinan läsnä- tai poissaolon /A = poissa; P = läsnä; M = 95 % puhtaus käsittelemättömiin vertailunäytteisiin verrattuna/.

Taulukko 3

R^A	Annostus (ppm)		
	50	100	200
4'-sykloheksyyli (100 % trans)	1/5 (P)	5/5 (P)	5/5 (A)
4'-t-butyyli (80 % trans)	0,5 (P)	5/5 (A)	(ei tutkittu
4'-t-pentyyli (60 % trans)	4,5 (M)	5/5 (A)	5/5 A

Myrkyllisyys

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden akuutit LD_{50}-arvot suun kautta annettuina rotilla määritettiin standardimenetelmin. Tulokset ovat seuraavat:

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet	LD_{50}
R = CH_3	yli 1000 mg/kg
R = Et	2000 mg/kg

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden tulehdusten vastainen vaikutus

a) Vaikutus in vitro

Entsyymikokeessa, joka oli G. Blackwellin ja R.J. Flowerin (Br. J. Pharmac. 63 (1978) 360P) menetelmän mukainen, kaavan (I) mukaisilla yhdisteillä havaittiin olevan IC_{50} (µm) lipo-oksygenaasin ja syklo-oksygenaasin inhibitiolle seuraavasti:

Kaavan (I) mukainen yhdiste	IC_{50} (µm)	
	syklo-oksygenaasi	Lipo-oksygenaasi
R = CH_3	58	23
R = Et	63	29

b) Vaikutus in vivo

Määritettiin tulehduksen vastainen vaikutus rotan silmässä sekä suun kautta että paikallisesti annettuna 2-(4-t-butyylisykloheksyyli)-3-hydroksi-1,4-naftokinonille. Inflammatorinen vaste tehdylle kokeelle kehittyi, kun rotan polkuanturaan oli ruiskutettu gram-negatiivistä bakteeriendotoksiinia (Rosenbaum et al. Nature 286 (1980) 611-613).

Verisuonten laajenemiskasvu 24 ja 48 h:n kuluttua tutkittiin rakolamppua käyttäen, sitten rotat tapettiin ja silmän kammiovesi poistettiin proteiinipitoisuuksien ja leukosyyttien kokonaismäärien mittaamiseksi. Tulokset annetaan seuraavassa ED_{50}-arvoina:

Antotapa	ED_{50}
Suun kautta	5-25 mg/kg
Paikallisesti	10-20 µg/silmä

Seuraavat esimerkit kuvaavat keksintöä:

Esimerkki A

4-tert-alkyylisykloheksaanikarboksyylihappojen valmistus

Esimerkeissä lähtöaineina käytetyt karboksyylihapot valmistettiin seuraavasti:

i) 4-tert-butyylisykloheksaani-1-karboksyylihappo, 4-tert-butyylisykloheksyylietikkahappo ja niiden puhtaat cis- ja trans-isomeerit saatiin kaupallisina tuotteina tai valmistettiin kirjallisuudessa (J. Amer. Chem. Soc. 1970), 92, 2800 ja siinä esitetyt viitteet) kuvatulla tavalla.

ii) 4-tert-pentyylisykloheksyyli-1-karboksyylihappo (cis/trans-seos) ja puhdas trans-4-tert-pentyylisykloheksyyli-1-karboksyylihappo valmistettiin seuraavasti:

a) Cis/trans-4-tert-pentyylisykloheksyyli-1-karboksyylihapon valmistus

4-tert-pentyylisykloheksaani (49,2 g) liuotettiin eetteriin (200 ml), ja liuokseen lisättiin natriumsyanidia (24,46 g) ja vettä (30 ml). Seos jäähdytettiin 0°C:seen ja siihen lisättiin tipoittain väkevää kloorivetyhappoa 1 tunnin kuluessa samalla sekoittaen voimakkaasti. Sekoittamista jatkettiin vielä 3 tuntia, sitten seoksen annettiin seistä yli yön. Reaktioseos pestiin kyllästetyllä natriummetabisulfiittiliuoksella (2 x 200 ml), eetterikerros kuivattiin natriumsulfaatilla ja haihdutettiin vakuumissa, jolloin saatiin 54,0 g syaanihydriiniä vaaleankeltaisena öljynä.

Syaanihydriini (54,0 g) liuotettiin vedettömän pyridiinin (70 ml) ja vedettömän bentseenin (70 ml) seokseen, liuosta sekoitettiin ja liuos jäähdytettiin 0°C:seen. Siihen lisättiin 0°C:ssa tipoittain 45 minuutin kuluessa fosforyylikloridia (90 ml) pyridiinissä (83 ml). Reaktioseosta kuumennettiin palautusjäähdytyslämpötilassa 30 minuuttia, sitten seos jäähdytettiin, kaadettiin jäille, ja seosta sekoitettiin 30 minuuttia. Seos uutettiin eetterillä, uute pestiin vedellä, kuivattiin (natriumsulfaatti) ja haihdutettiin kuiviin vakuumissa, jolloin saatiin 48,4 g 1-4-tert-pentyylisykloheks-1-eeni-1-nitriiliä, öljy. 1-4-tert-pentyylisykloheks-1-eeni-1-nitriili (48,0 g) lisättiin kaliumhydroksidin (23,3 g) veden (34 ml) ja etanolin (150 ml) seokseen. Seosta kuumennettiin palautusjäähdyttäen 72 tuntia, seos jäähdytettiin jäillä, laimennettiin vedellä (175 ml) ja tehtiin happameksi väkevällä kloorivetyhapolla. Saostunut väritön kiinteä sakka suodatettiin, pestiin vedellä ja kuivattiin. Sakkaa käsiteltiin etyyliasetaatilla ja 2-n natriumhydroksidiliuoksella, emäksinen kerros erotettiin, tehtiin happameksi väkevällä kloorivetyhapolla, ja erottunut kiinteä aine suodatettiin, pestiin vedellä ja kuivattiin, jolloin saatiin 33,65 g 4-tert-pentyylisykloheks-1-eeni-1-karboksyylihappoa, sp. 123-125°C.

4-tert-pentyylisykloheks-1-eeni-1-karboksyylihappo (33,5 g) liuotettiin etanoliin (275 ml), ja liuokseen lisättiin 10-%:ista Pd/C-katalysaattoria (1,0 g). Seosta hydrattiin 10 atm paineessa, kunnes teoreettinen vetymäärä oli sitoutunut. Katalysaattori suodatettiin ja väritön suodos haihdutettiin kuiviin vakuumissa, jolloin saatiin 27,0 g 4-tert-pentyylisykloheksyyli-1-karboksyylihappoa öljynä (cis/trans-seos).

b) Puhtaan trans-4-tert-pentyylisykloheksyyli-1-karboksyylihapon valmistus

Happojen cis-trans-seosta (12 g, valmistettu a)-

kohdassa) kuumennettiin höyryhauteella väkevän rikkihapon (60 ml) kanssa 16 tuntia. Reaktioseos jäähdytettiin ja kaadettiin jäille, jolloin saostui musta kiinteä aine. Se suodatettiin ja kuivattiin, sitten sitä hierrettiin petrolieetterissä (kp. 40-60°C), kunnes suurin osa kiinteästä aineesta oli liuennut. Petrolieetteriuutetta käsiteltiin hiilellä, hiili suodatettiin, ja suodos haihdutettiin vakuumissa, jolloin saatiin 5,7 g trans-1-4-tert-pentyylisykloheksyyli-1-karboksyylihappoa, sp. 92-100°C. NMR-spektri osoitti sen olevan 95-97 %:sesti puhdasta trans-isomeeria.

Esimerkki 1

2-(4'-t-butyylisykloheksyyli)-3-hydroksi-1,4-naftokinonin valmistus

2-kloori-1,4-naftokinonin (21 g), 4-t-butyylisykloheksaani-1-karboksyylihapon (19,8 g) ja hopeanitraatin (3,6 g) seosta pidettiin lämpötilassa 70-75°C sekoittaen voimakkaasti liuotinseoksessa, jossa oli 30 ml asetonitriiliä, 90 ml sulfolaania ja 210 vettä, ja lisättiin veteen (60 ml) liuotettu ammoniumpersulfaatti (34,2 g) pisaroittain 30 min aikana. Sekoitetusta ja lämmitystä jatkettiin vielä 1 h, seos jäähdytettiin jäähauteessa ja uutettiin dietyylieetterillä. Uutteet pestiin natriumbikarbonaatin vesiliuoksella, kuivattiin ja haihdutettiin alipaineessa puolikiinteäksi aineeksi, joka kiteytettiin kahdesti asetonitriilistä, jolloin saatiin 2-(4'-butyylisykloheksyyli)-3-kloori-1,4-naftokinoni, sp. 107-110°C. Siten saatu kloorikinoni (12,1 g) suspendoitiin kiehuvaan metanoliin (300 ml) ja lisättiin veteen (120 ml) liuotettu kaliumhydroksidi (12,1 g) pisaroittain 15 min. aikana. Seosta refluksoitiin vielä 1 h, ja se käsiteltiin sitten väkevöidyllä suolahapolla (60 ml). Seos jäähdytettiin jäähauteella, kiteinen aine kerättiin ja pestiin vedellä. Kiteyttämällä uudelleen asetonitriilistä saatiin 2-(4'-t-butyylisykloheksyyli)-3-hydroksi-1,4-naftokinonia (sp.

123-126°C). Tuotteen cis/trans-suhde oli noin 1:1.

Kun ensimmäisessä vaiheessa käytetty liuotinseos vaihdettiin asetonitriili-vesi-seokseen, saatiin lopputuote, jonka cis/trans-suhde oli 2:8 (sp. 126-128°C).

Esimerkki 2

2-(trans-4'-t-butyylisykloheksyyli)-3-hydroksi-1,4-naftokinonin valmistus

A. 1-trans-(4-t-butyylisykloheksyyli)-etikkahapon valmistus

4-t-butyylisykloheksaani-1-karboksyylihappoa (50 g, cis- ja trans-isomeerien seos), kaliumhydroksidia (150 g) ja etyleeniglykolia (500 ml) refluksoitiin yön yli. Sitten reaktioseos kaadettiin murskattuihin jäihin (2000 g), tehtiin happamaksi väkevöidyllä suolahapolla, ja syntynyt valkea sakka erotettiin suodattamalla. Märkä kiinteä aine liuotettiin etyyliasetaattiin, vesikerros poistettiin, ja orgaaninen kerros kuivattiin magnesiumsulfaatilla. Poistettaessa liuotin alipaineessa saatiin valkea kiinteä aine, joka kiteytettiin uudelleen tolueenista, jolloin saatiin 1-trans-(4-t-butyylisykloheksyyli)-karboksyylihappo (30,9 g sp. 172-174°C).

1-trans-(4-t-butyylisykloheksyyli)-karboksyylihappo (35 g) liuotettiin vedettömään eetteriin (250 ml), ja liuos lisättiin hitaasti vedettömään eetteriin (200 ml), johon oli liuotettu 7,3 g litiumalumiinihydridiä, siten että seos kiehui hieman koko ajan. Kun lisäys oli saatu loppuun, seosta refluksoitiin sekoittaen vielä 1,5 h. Reaktioseos jäähdytettiin jäähauteella, ja lisättiin 200 ml jääkylmää 2N suolahappoa. Vesikerros erotettiin, pestiin eetterillä (100 ml), yhdistetyt orgaaniset uutteet pestiin laimealla natriumhydroksidiliuoksella, sitten vedellä, kuivattiin ($MgSO_4$), ja liuotin poistettiin alipaineessa, jolloin saatiin väritön öljy (28 g). Edellä valmistettu 1-trans-(4-t-butyylisykloheksyyli)-metanoli (28 g) liuotettiin kuivaan asetonitriiliin (330 ml), li-

sättiin 28,7 g vedetöntä litiumbromidia ja 44,5 g kloori-trimetyylisilaania, ja seosta refluksoitiin 60 h. Sitten reaktioseoksen annettiin jäähtyä, ja liuotin poistettiin alipaineessa. Jäännös liuotettiin eetteriin, pestiin vedellä (100 ml), 10 % natriumbikarbonaattiliuoksella (100 ml), vedellä (100 ml), kuivattiin ($MgSO_4$), ja liuotin poistettiin alipaineessa. Puhdistettaessa raakatuote pylväskromatograafisesti saatiin öljymäinen 1-trans-(4-t-butyylisykloheksyyli)-metaanibromidi (15,5 g).

Yllä mainittu bromidi (15 g) lisättiin heksametyylifosforihappotriamidiin liuotettuun natriumsyanidiin (4,83 g), ja seosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa yön yli. Epäpuhdas reaktioseos laimennettiin vedellä (250 ml), ja uutettiin eetterillä (2 x 200 ml). Yhdistetyt orgaaniset kerrokset pestiin vedellä (3 x 100 ml), kuivattiin ($MgSO_4$), ja liuotin poistettiin alipaineessa, jolloin saatiin 1-trans-(4-t-butyylisykloheksyyli)-metaanitriili värittömänä nesteenä (10,5 g).

1-trans-(4-t-butyylisykloheksyyli)-metaanitriiliä (10 g), kaliumhydroksidia (20 g), etanolia (200 ml) ja vettä (50 ml) refluksoitiin 65 h. Suurin osa liuottimesta poistettiin alipaineessa, ja jäännös liuotettiin veteen (300 ml), ja uutettiin etyyliasetaatilla (100 ml). Vesikerros tehtiin happamaksi suolahapolla ja uutettiin etyyliasetaatilla (2 x 100 ml). Yhdistetyt orgaaniset kerrokset pestiin vedellä (200 ml), kuivattiin ($MgSO_4$), ja ylimääräinen liuotin poistettiin alipaineessa, ja kiinteä jäännös trituroitiin kylmällä vedellä, jolloin saatiin 1-trans-(4-t-butyylisykloheksyyli)-etikkahappo (9,5 g, sp. 93-95°C).

B. 2-[trans-(4-t-butyylisykloheksyyli)metyyli]-3-hydroksi-1,4-naftokinonin valmistus

Seosta, joka sisälsi 960 mg 2-kloori-1,4-naftokinonia, 990 mg 1-trans-(4-t-butyylisykloheksyyli)-etikkahappoa (valmistettu julkaisun J. Amer. Chem. Soc. 92 (1970)

2800 mukaan) ja 250 mg hopeanitraattia asetonitriilissä (9 ml), refluksoitiin voimakkaasti sekoittaen, ja lisättiin veteen (12 ml) liuotettu ammoniumpersulfaatti (3,0 g) samanaikaisesti pisaroittain 1 h:n aikana. Seosta refluksoitiin vielä 1 h, se jäähdytettiin jäähauteella, ja siten saatu keltainen kiinteä aine kerättiin ja pestiin vedellä. Kiinteä aine uutettiin kuumalla etyyliasetaatilla, josta saatiin jäähdytettäessä 2-[trans-(4-t-butyylisykloheksyyli)metyyli]-3-kloori-1,4-naftokinoni, sp. 154-156°C. NMR-spektroskopialla varmistettiin, että tuote oli 100 %:sesti trans-isomeeria.

Yllä kuvatulla tavalla valmistettua kloorikinonia (6 g) refluksoitiin dimetoksietaanissa (60 ml) ja vedessä (60 ml) lisäten samalla pisaroittain veteen (60 ml) liuotettu kaliumhydroksidi (6,0 g) 10 min:n aikana. Refluksointia jatkettiin vielä 15 min, seos jäähdytettiin nopeasti ympäristön lämpötilaan ja tehtiin happamaksi väkevöidyllä suolahapolla. Siten saatu kirkkaan keltainen kiinteä aine kerättiin, pestiin vedellä ja kuivattiin, jolloin saatiin 2-[trans-(4-t-butyylisykloheksyyli)-metyyli]-3-hydroksi-1,4-naftokinonia, sp. 180-182°C.

C. 2-(trans-4'-butyylisykloheksyyli)-3-hydroksi-1,4-naftokinonin valmistus

2-(trans-4'-butyylisykloheksyylimetyyli)-3-hydroksi-1,4-naftokinoni (4,36 g) liuotettiin dioksaaniin (32 ml) ja lisättiin 1,6 g natriumkarbonaattia vedessä (32 ml) sekoittaen. Seos lämmitettiin 70°C:seen, lisättiin 3,0 ml 30 % vetyperoksidia ja jatkettiin lämmitystä. 30 min:n kuluttua lisättiin toinen annos (0,5 ml) 30 % vetyperoksidia ja jatkettiin lämmitystä, kunnes saatiin vaalean keltainen liuos. Sitten seos jäähdytettiin jäissä ja käsiteltiin väkevöidyllä suolahapolla (3,0 ml) ja sen jälkeen rikkidioksidilla kyllästetyllä vedellä (20 ml), ja pitäen lämpötila 0°C:ssa puhallettiin typpeä seoksen läpi voimakkaasti sekoittaen 2 h. Lisättiin 28 ml natriumhydroksidin

25 % vesiliuosta ja sen jälkeen veteen (68 ml) liuotettu kuparisulfaattipentahydraatti (13,2 g).

Seosta lämmitettiin välillä sekoittaen höyryhauteella 10 min, minkä jälkeen sitä sekoitettiin huoneen lämpötilassa 10 min. Seos suodatettiin, ja kiinteä aine pestiin dioksaanilla (2 x 10 ml), vedellä (2 x 10 min) ja dioksaanilla (10 ml), ja yhdistetyt suodokset tehtiin happamiksi väkevöidyllä suolahapolla. Sakka kerättiin, pestiin vedellä, kuivattiin ja kiteytettiin uudelleen petrolieetteristä (30 ml), jolloin saatiin 2-(trans-4'-t-butyylisykloheksyyli)-3-hydroksi-1,4-naftokinonia, sp. 134-136°C, jonka osoitettiin olevan puhdasta isomeeriä NMR-spektroskopian avulla.

Esimerkki 3

2-(cis-4'-t-butyylisykloheksyyli)-3-hydroksi-1,4-naftokinoni

Esimerkin 2 mukaisesti, mutta korvaamalla trans-karboksyylihappo cis-karboksyylihapolla, valmistettiin 2-(cis-4'-t-butyylisykloheksametyyli)-3-hydroksi-1,4-naftokinoni (sp. 124-125°C) (välituote) ja 2-(cis-4'-t-butyylisykloheksyyli)-3-hydroksi-1,4-naftokinoni (sp. 113-115°C), joiden osoitettiin olevan puhtaita isomeerejä NMR-spektroskopian avulla. Välituotteena olevan 3-kloorijohdannaisen, 2-(cis-4'-t-butyylisykloheksyylimetyyli)-3-kloori-1,4-naftokinonin sp. oli 111-113°C.

Esimerkki 4

2-hydroksi-3-(4'-t-pentyylisykloheksyyli)-1,4-naftokinoni

Valmistettiin esimerkin 1 mukaisesti 2-hydroksi-3-(4'-t-pentyylisykloheksyyli)-1,4-naftokinoni, sp. 79-81°C. Cis/trans-isomeerien suhteen havaittiin olevan 2:3 NMR-spektroskopian avulla. Välituote, 2-kloori-3-(4'-t-pentyylisykloheksyyli)-1,4-naftokinoni oli jäykkäliikkeinen öljy.

Esimerkki 5

Cis-2-(4'-t-butyylisykloheksyyli)-3-hydroksi-1,4-

naftokinonin epimerointi

2-(4'-t-butyylisykloheksyyli)-3-hydroksi-1,4-naftokinonin cis- ja trans-isomeerien seos (noin 1:1, katso esimerkki 1) (10 g) liuotettiin väkevöityyn rikkihappoon (100 ml), ja liuosta pidettiin vaihtelevissa lämpötiloissa vaihtelevia aikoja alla olevan taulukon mukaisesti. Reaktion lopussa seos jäähdytettiin ja kaadettiin pisaroittain jää/vesi-seokseen, jolloin saatiin epäpuhdas tuote, joka puhdistettiin kiteyttämällä uudelleen edellä kuvatulla tavalla ja/tai pylväskromatografialla. Tuotteen isomeerisuhde määritettiin NMR:lla ja GLC:lla; tulokset ovat seuraavat:

Lämpötila °C	Aika	Isomeerisuhde trans/cis
50	4 vrk	93:7
56	24 h	96,5:3,5
56	24 h	97,7:2,3 (uudelleen kiteytetty)
70	4 h	92,0:8,0
70	6 h	97,8:2,2
70	6 h	99,2:0,8 (uudelleen kiteytetty)
70	21 h	99,4:0,6
70	21 h	99,9:0, (uudelleen kiteytetty)

Esimerkkejä farmaseuttisista preparaateista

"Päälle kaadettava" valmiste

"Päälle kaadettava" valmiste karjaa varten voidaan valmistaa seuraavasti:

Kaavan (I) mukaista yhdistettä	4 paino-osaa
Dimetyylisulfoksidia	10 "
Risiiniöljyä, täytetään 100 paino-osaan	

Vesisuspensio

Vesisuspensio voidaan valmistaa seuraavasti:

Kaavan (I) mukaista yhdistettä	1,00 paino-osaa
Neosyl	16,00 "
Bentoiittia	3,20 "
Glyseriiniä	15,00 "
Natriumbentsoaattia	1,00 "
Bevaloid 35/2	1,00 "

Tymolia	0,04	"
Vettä	62,76	"
	100,00	paino-osaa

Nuolukivi

Nuolukivi voidaan valmistaa sekoittamalla hienojakoinen kaavan (I) mukainen yhdiste (0,5 paino-osaa) natriumkloridiin (99,5 paino-osaa) ja puristamalla seos möhkäleiksi.

Tahna

Voidaan valmistaa seuraava tahna:

Kaavan (I) mukaista yhdistettä	3,0	paino-osaa
Traganttikumia	4,0	"
Bevaloid 35/3	1,0	"
Nipagin "M"	0,1	"
Glyseriiniä	19,0	"
Vettä	72,9	
	100,0	paino-osaa

Injektioliuos

Ihon alle ruiskutettava liuos voidaan valmistaa sekoittamalla:

Kaavan (I) mukaista yhdistettä	4,5	paino-osaa
Methocel	2,0	"
Nipagin "M"	0,1	"
Vettä	93,4	"
	100	paino-osaa

Injektioliuos

Lihakseen ruiskutettava liuos voidaan valmistaa sekoittamalla:

Kaavan (I) mukaista yhdistettä	9,5	paino-osaa
Dimetyylisulfoksidia	19,0	"
Sorbitaanimono-oleaattia	4,5	"
Maissiöljyä	67,0	
	100,0	paino-osaa

Injektioliuos

Valmistettiin seuraava injektioliuos:

Kaavan (I) mukaista yhdistettä	5	paino-osaa
N-metyylipyrrolidonia	48,3	"

Tween 80	2	"
Span 80	4,7	"
Miclyol 812	40	"
	100,0	paino-osaa

Tablettivalmiste

Kaavan (I) mukaista yhdistettä	100 mg
Laktoosia	100 mg
Maissitärkkelystä	30 mg
Magnesiumstearaattia	2 mg
	232 mg

Suun kautta annettava suspensio

Kaavan (I) mukaista yhdistettä	50 mg
Avicel RC 591	75 mg
Sakkaroosisiirappia	3,5 ml
Metyylihydroksibentsoaattia	5 mg
Väriainetta	0,01 g/100 ml
Kirsikka-aromia	0,1 g/100 ml
Tween 80	0,2 tilavuus-%
Vettä, täytetään 5 ml:ksi	

Injektiosuspensio

Kaavan (I) mukaista yhdistettä	100 mg
Polyvinyylipyrrolidiiniä (RVP)	170 mg
Tween 80	0,2 tilavuus-%
Metyylihydroksibentsoaattia	0,1 mg/100 ml
Injektioon soveltuvaa vettä, täytetään 3 ml:ksi	

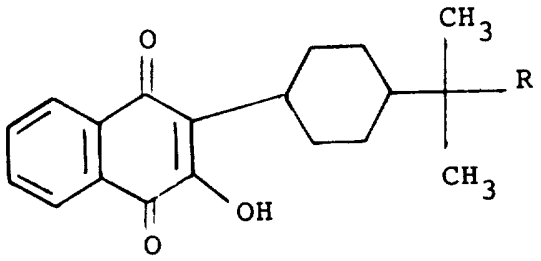
Kapseli

Kaavan (I) mukaista yhdistettä	100 mg
Tärkkelys 1500	150 mg
Magnesiumstearaatti	2,5 mg

pakataan pehmeään gelatiinikapseliin.

Patenttivaatimukset

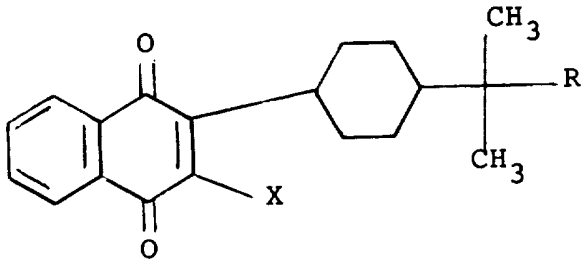
1. Menetelmä kaavan (I) mukaisten terapeuttisesti käyttökelpoisten naftokinonijohdannaisten ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi,



(I)

jossa R on suoraketjuinen C_{1-4}-alkyyli, t u n n e t t u siitä, että

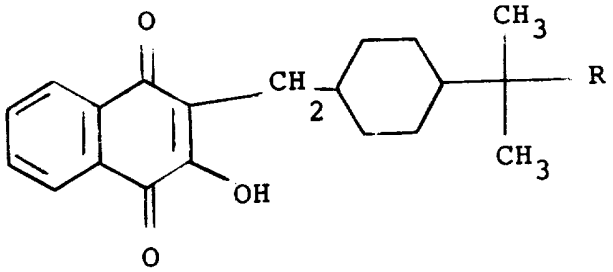
a) hydrolysoidaan yhdiste, jonka kaava on (II)



(II)

jossa R on suoraketjuinen C_{1-4}-alkyyli ja X on halogeeni; tai

b) suoritetaan kaavan (IB) mukaiselle yhdisteelle Hooker-hapetus



(IB)

minkä jälkeen haluttaessa valmistetaan vaiheesta a) tai b) saadun kaavan (I) mukaisen yhdisteen trans-isomeeri epimeroimalla vastaava cis-isomeeri väkevöidyllä rikkiha-

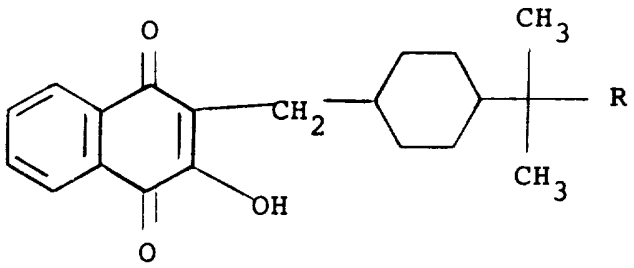
polla.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R on metyyli.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R on etyyli.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että kaavan (I) mukainen yhdiste valmistetaan trans-isomeerinä.

5. Kaavan (IB) mukaiset 2-substituoidut 3-hydroksi-1,4-naftokinonit,

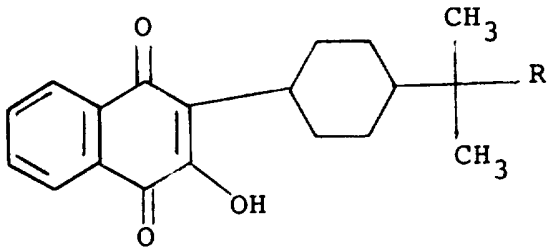


(IB)

jossa kaavassa R merkitsee suoraketjuista C_{1-4}-alkyyliä.

Patentkrav

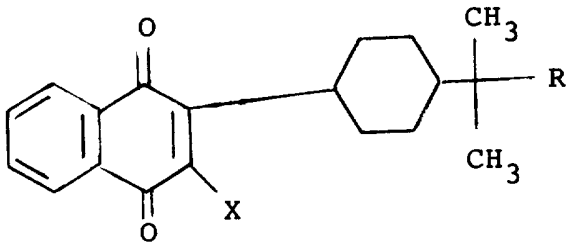
1. Förfarande för framställning av terapeutiskt användbara naftokinonderivat med formeln (I) och farmaceutiskt godtagbara salter därav,



(I)

vari R är en rakkedjad C_{1-4}-alkyl, k ä n n e t e c k n a t därav, att man

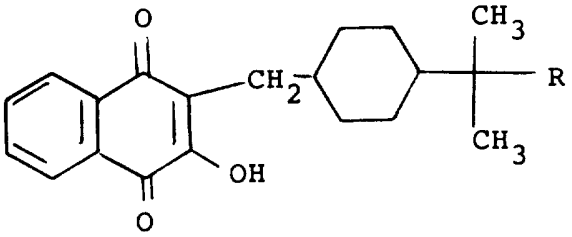
a) hydrolyserar en förening med formeln (II)



(II)

vari R är en rakkedjad C_{1-4}-alkyl och X är halogen; eller

b) Hooker-oxiderar en förening med formeln (IB)



(IB)

varefter, ifall önskvärt, framställs trans-isomeren av föreningen med formeln (I), som erhållits i steget a) eller b), genom epimeriserande av den motsvarande cis-isomeren med koncentrerad svavelsyra.

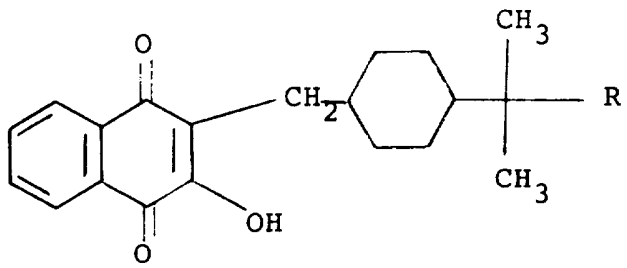
2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e-

t e c k n a t därav, att man framställer en förening med formeln (I) där R är metyl.

3. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e - t e c k n a t därav, att man framställer en förening med formeln (I) där R är etyl.

4. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e - t e c k n a t därav, att man framställer föreningen med formeln (I) som trans-isomer.

5. 2-substituerade 3-hydroxi-1,4-naftokinoner med formeln (IB),



(IB)

i vilken formeln R betecknar en rakkedjad C_{1-4}-alkyl.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

Hakemusjulkaisuja:-Ansökningspublikationer: EP 2228 (C 07 C 49/74).
Patenttijulkaisuja:-Patentskrifter: USA(US) 3 578 686 (C 07 C 49/00), 2 553 647, 2 553 648 (260-396).