

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

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

(10) FI 944678 A7

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **944678**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07D311/66
C07D311/58

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **12.03.1993**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **06.10.1994**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **06.10.1994**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

(86) Kansainvälinen hakemus - **12.03.1993 PCT/US1993/002311**
Internationell ansökan - International
application

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

07.04.1992 EP 92400972

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Merrell Dow Pharmaceuticals Inc., 2110 East Galbraith Road, Cincinnati, OH 45215-6300, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Grisar, J. Martin, France, RANSKA, (FR)
2 • Petty, Margaret A., Strasbourg, RANSKA, (FR)
3 • Bolkenius, Frank, 7640 Kehl, SAKSA, (DE)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

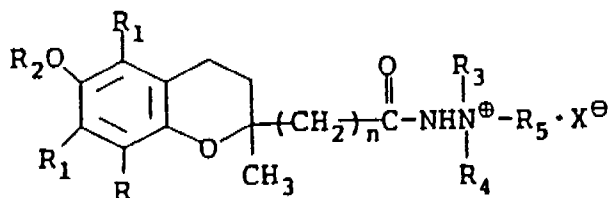
(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

3,4-dihydro-2H-1-bentsopyraanien hydratsidjohdannaisia
Hydrazidderivat av 3,4-dihydro-2H-1-bensopyraner

3,4-dihydro-2H-1-bentsopyraanien hydratsidijohdannaisia

Tämä keksintö koskee uusia tiettyjen 3,4-dihydro-2H-1-bentsopyraanien hydratsidiasyylhydratsiniumjohdannaisia, välituotteita, menetelmiä ja tekniikoita niiden valmistamiseksi, niiden kykyä osoittaa ominaisuus, että ne ovat vapaan radikaalin sitojia, ja niiden loppukäyttösovellusta sairauttilojen hoidossa, joita voidaan parantaa vapaan radikaalin sitojilla.

Spesifisemmin tämä keksintö koskee yhdisteitä, joilla on kaava



(1)

niiden stereoisomeerejä ja seoksia, niiden sisäisiä suoloja, ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja, joissa

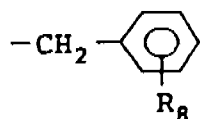
R on vety tai C_{1-6} -alkyyli,

R_1 on C_{1-6} -alkyyli,

R_2 on vety tai $-C(O)R$,

R_3 ja R_4 merkitsevät toisistaan riippumatta C_{1-6} -alkyyliä;

R_5 on C_{1-6} -alkyyli, tai



R_8 :n ollessa vety tai halogeeni,

n on nolla, 1, 2 tai 3, ja

X on halogenidi, $-S(O)_3R_6$, tai ei mikään, kun muodostetaan sisäinen suola

R_6 on vety, C_{1-6} -alkyyli, fenyyli tai 4-metyylifenyyli.

Kuten tässä on käytetty, termi alkyyli käsittää haarautumattomat tai haarautuneet tyydyttyneet alifaattiset hydrokarbyyliryhmät, joissa on ilmoitettu määrä hiiliatomeja, edullisesti metyyli tai etyyli, mutta mukaan lukien propyylin, isopropyylin, n-butyylin, t-butyylin, heksyylin ja niiden kaltaiset. Termi $-C(O)R$ käsittää ne asyyli-
 5 liryhmät, joissa R käsittää vedyn ja C_{1-6} -alkyylin, sisältäen formyylin ja metyylikarbonyylin edullisina ryhminä, mutta mukaan lukien etyylikarbonyylin ja sen kaltaiset. Asyylihydratsiniumryhmässä (so. $-C(O)NHN^{\oplus}(R_3)(R_4)(R_5).X^{\ominus}$) R_3 , R_4 ja R_5 ovat edullisesti samoja alkyylejä metyylin ja etyylin ollessa edullisia, ja kun R_5 ei ole alkyyli, edullisia radikaaleja ovat bentsyyli tai R_6 -substituoidut bentsyyli-
 10 liryhmät, jossa R_6 on edullisesti kloori tai bromi. $X^{\ominus}$ -ryhmä käsittää halogeenin, edullisesti kloorin tai bromin, tai $-S(O)_2R_6$ -ryhmän, jossa R_6 on vety, C_{1-6} -alkyyli, fenyyli tai edullisesti 4-metyylifenyyli.

Sisäisiin suoloihin kuuluvat ne yhdisteet, joissa asyylihydratsiniumryhmällä olisi rakennekonfiguraatio

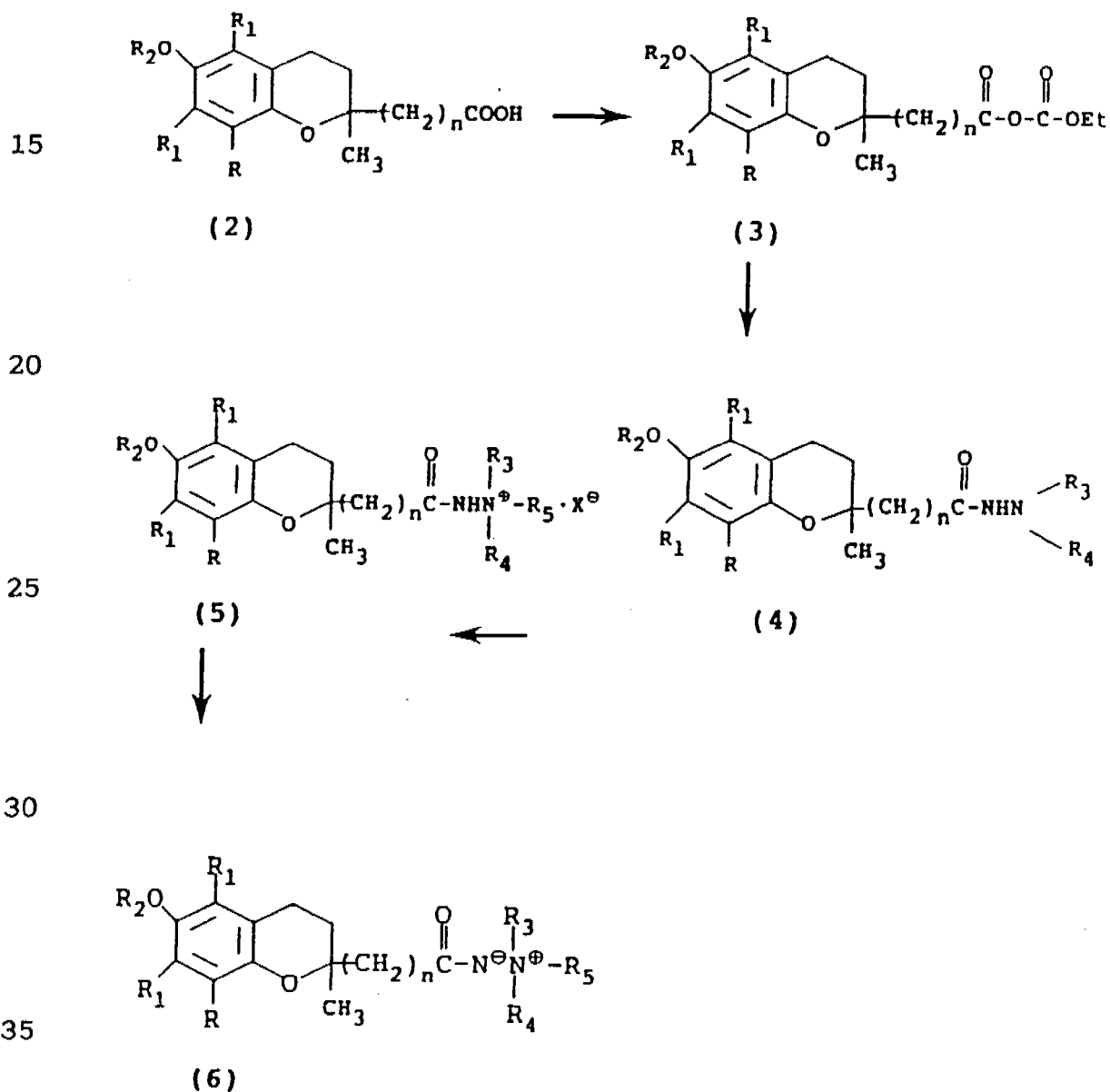


pääteryhmänään.

Tämän keksinnön yhdisteisiin kuuluvat stereoisomeerit; termi "stereoisomeeri" on yleinen termi kaikille yksittäisten molekyylien isomeereille, jotka eroavat vain niiden atomien orientoitumisessa avaruudessa. Se käsittää peillikuvaismeerit (enantiomeerit), geometriset isomeerit (cis/trans) ja yhdisteiden, joissa on useampi kuin yksi kiraalinen keskus, isomeerit, jotka eivät ole toistensa
 30 peillikuvia (diastereoisomeerit).

Yleensä tämän keksinnön yhdisteet voidaan valmistaa standardi kemiallisilla menetelmillä ja alalla tunnetuilla tekniikoilla analogisesti materiaaleista, jotka joko tunnetaan sinänsä tai jotka voidaan valmistaa analogisella tavalla. Edullisesti lähtöaineet ovat halutussa enantio-
 5 meerisessä muodossa. Kokonaismenetelmä tämän keksinnön yhdisteiden valmistamiseksi voidaan kuvata seuraavalla reaktiokaaviolla kemiallisen menetelmän ja tekniikoiden ollessa opetetut tässä kuvatuilla spesifisillä esimerkeillä.
 10 lä.

Reaktiokaavio A



jossa R , R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , n ja X ovat aikaisemmin määritettyjä.

Varsinaisesti reaktiokaavio tuo mukanaan happojen (2) muuttamisen seka-anhydridiksi (3) reaktiolla etyyliklooriformaatin kanssa alhaisissa lämpötiloissa (alle 0 °C) vedettömissä olosuhteissa. Saatuja seka-anhydridejä käsitellään epäsymmetrisellä dialkyylihydratsiinilla, edullisesti noin huoneenlämpötilassa, jolloin valmistetaan kaavan (4) mukaiset hydratsidit. Reaktiossa sopivan alkyylihalogenidin tai alkyylisulfonaattien kanssa (esim. R_5X , jossa X on halogenidi tai SO_3R_5) hydratsidi muutetaan vastaavaksi asyylihydratsiniumsuolakseen (5), ja käsittelemällä emäksellä, edullisesti natriumhydroksidilla, sisäiseksi suolaksi (6). Tietysti 3,4-dihydrobentsopyraanin 6-asemassa olevan hydroksi funktionaalisen ryhmän asylointi voidaan suorittaa reaktiolla happoanhydridin tai happo-
 10 halogenidin kanssa, jolloin valmistetaan halutut formyyli- tai alkyylikarbonyylioksi-ryhmät. Muuttaminen takaisin 6-OH-ryhmäksi voidaan suorittaa hydrolyysillä, mainittujen asylointi- ja hydrolyysireaktion ollessa alalla hyvin tunnettuja.

Seuraavat esimerkit havainnollistavat menetelmää, jolla tämän keksinnön yhdisteet voidaan valmistaa.

Esimerkki 1

25 2-[(3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-2-yyli)karbonyyli]-1,1,1-trimetyylihydratsinium-4-metyyllibentseenisulfonaatti

Vaihe A:

30 Liuos, jonka muodostavat 10,0 g (0,04 m) 3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karboksylihappoa ja 4,05 g (0,04 m) trietyyliamiinia 100 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania, jäädytetään -10 °C:seen olosuhteissa, joista suljetaan pois kosteus (kuivausputki), ja liuos, jonka muodostaa 4,34 g (0,04 m)
 35 etyyliklooriformaattia 50 ml:ssa tetrahydrofuraania, lisä-

tään sellaisella nopeudella, että sisäinen lämpötila ei kohoa yli 0 °C:n. Kun lisäys on suoritettu (noin 15 minuuttia), seosta sekoitetaan 0 °C:ssa 35 minuuttia. Sitten lisätään liuos, jonka muodostaa 2,40 g (0,04 m) epäsymmetristä dimetyylihydratsiinia 30 ml:ssa tetrahydrofuraania, seoksen annetaan lämmitä huoneenlämpötilaan ja sitä sekoitetaan yön yli. Liuotin haihdutetaan alennetussa paineessa, vesi lisätään ja tuotetta uutetaan etyyliasetaatilla. Uute pestään vedellä ja natriumbikarbonaattiliuoksella, kuivataan natriumsulfaattilla, suodatetaan ja haihdutetaan, jolloin saadaan 9,24 g öljyä. Tämä kiteytetään ja uudelleenkiteytetään etyyliasetaatti/heptaanista, jolloin saadaan 6,13 g 3,4-dihydro-6-hydroksi-N',N',2,5,7,8-heksametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-karbokshydratsidia, sp. 145 - 146 °C.

Vaihe B:

Liuosta, jonka muodostavat 5,58 g (0,01922 m) edellä saatua dimetyylihydratsidia ja 3,94 g (0,02114 m) metyyli-p-tolueenisulfonaattia 60 ml:ssa asetonitriiliä, palautusjäähdytetään 6 tuntia. Seoksen annetaan jäähtyä yön yli, ja muodostunut kiteinen materiaali otetaan talteen ja uudelleenkiteytetään asetonitriili/vedestä, jolloin saadaan 6,52 g otsikon yhdistettä, sp. 244 °C (hajotaminen). Alkuaineanalyysi, UV, IR ja ¹H-NMR spektrit vahvistavat rakenteen.

Esimerkki 2

2-[(3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-2-yyli)karbonyyli]-1,1,1-trimetyylihydratsinium, sisäinen suola

Liuokseen, jonka muodostavat 3,0 g (0,00627 m) esimerkissä 1 kuvattua yhdistettä 10 ml:ssa vettä ja 10 ml:ssa etanolia, lisätään 3,2 ml 2 N NaOH:a. Liuos haihdutetaan kuiviin, ja jäännös lietetään 15 ml:aan vettä. Kiinteä aine otetaan talteen ja uudelleenkiteytetään kah-

desti vedestä, jolloin saadaan otsikon yhdiste, sp. 187 °C (hajoaminen).

Esimerkki 3

2-(3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-2-asetyyli)-1,1,1-trimetyylihydratsinium-4-metyyllibentseenisulfonaatti

Käyttäen esimerkissä 1 kuvattua menetelmää, mutta lähtien 3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-etikkahaposta, saadaan tämän hapon dime-tyylihydratsidijohdannainen, sp. 151 - 152 °C.

Käsittelystä 10-%:n ylimäärällä metyyli-p-tolueeni-sulfonaattia palautusjäähdyvässä asetonitriilissä, kuten on kuvattu esimerkissä 1, saadaan otsikon yhdiste, sp. 182 - 183 °C.

Esimerkki 4

2-(3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-2-asetyyli)-1,1,1-trimetyylihydratsinium, sisäinen suola

Edellisessä esimerkissä kuvatun tosylaatin käsitte-lystä emäsekvivalentilla, kuten on kuvattu esimerkissä 2, saadaan sisäinen suola, sp. 219 °C (hajoaminen). Alkuaine-analyysi, UV, IR ja ¹H-NMR spektrit vahvistavat rakenteen.

Esimerkki 5

2S(-)- ja 2R(+)-2-(3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-2-asetyyli)-1,1,1-trimetyylihydratsinium-4-metyyllibentseenisulfonaatin ja sisäisen suolan erottaminen

Vaihe A:

3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-etikkahapon erottaminen

Kuumaan liuokseen, jonka muodostaa 132,16 g otsikon yhdistettä 700 ml:ssa isopropanolia, lisätään 60,59 g S(-)-α-metyyllibentsyyliamiinia ja 100 ml etyyliasetaat-tia. Hitaasta kiteytymisestä yön yli jääkaapissa saadaan jonkin verran yli puolet teoreettisesta määrästä kiteistä

ainetta (tarkistettu haihduttamalla suodos kuiviin). Tämä aine uudelleenkiteytetään samanlaisella tavalla kolme kertaa, ja saatu puhdas diastereomeerinen suola muutetaan vapaaksi hapoksi ravistelemalla 200 ml:ssa 2 N kloorivetyhappoa ja 400 ml:ssa etyyliasetaattia. Vesifaasi erotetaan ja uutetaan etyyliasetaatilla. Yhdistetty orgaaninen faasi pestään 2 N kloorivetyhapolla, vedellä ja kylläisellä natriumkloridiliuoksella, kuivataan vedettömällä natriumsulfaattilla, suodatetaan ja haihdutetaan kuiviin. Saatu kiinteä aine uudelleenkiteytetään etyyliasetaatti/heptaanista, jolloin saadaan 40,85 g (62 %) otsikon yhdisteen S-(-)-enantiomeeria, $[\alpha]_D^{25} = -9,61^\circ$ (0,95 % MeOH:ssa). Enantiomeerinen puhtaus, määritettynä HPLC:llä, on ee = 99,9 %. Alkuaineanalyysi oli 0,3-%:n sisällä teoriasta.

Edellä olevan diastereomeerisen suolan kiteytysten yhdistetyt suodokset haihdutetaan ja muutetaan vapaaksi hapoksi, kuten on kuvattu, jolloin saadaan 92,02 g ainetta. Se liuotetaan 600 ml:aan isopropanolia, ja 42,19 g R-(+)- α -metyylilibentsyyliamiinia lisätään samoin kuin 200 ml etyyliasetaattia. Hitaasta kiteytyksestä ja kahdesta uudelleenkiteytyksestä saadaan vapaaksi hapoksi muuttamisen ja yhden lopullisen uudelleenkiteytyksen jälkeen 41,50 g (63 %) otsikon yhdisteen R-(+)-enantiomeeria, $[\alpha]_D^{25} = +9,35^\circ$ (0,96 % MeOH:ssa) ee = 99,9 %. Anal. C, H.

On mahdollista ottaa talteen suodoksista saadun aineen erottumaton jäännös samoin kuin enantiomeeriset amiinit käytettäväksi myöhäisemmässä erotuksessa.

Vaihe B:

Käyttäen esimerkeissä 1 ja 3 kuvattua menetelmää, mutta lähtien esimerkissä 5 vaiheessa A kuvatun hapon 2S-(-)- ja 2R-(+)-enantiomeereistä, saadaan otsikon yhdisteen kahden enantiomeerin 4-metyylilibentseenisulfonaatit.

Nämä 4-metyylilibentseenisulfonaattisuolat muutetaan sisäisiksi suoloiksi esimerkeissä 2 ja 4 kuvatuilla mene-

telmillä, jolloin saadaan otsikon yhdisteen kaksi enantio-
meeria $[\alpha]_D^{25} = +2,30^\circ$ ja vastaavasti $-3,07^\circ$ (1 % MeOH:ssa).

Tämän keksinnön yhdisteet ovat vapaan radikaalin
sitojia. Vapaan radikaalin reaktiot ovat sekoittuneet
5 useamman kuin 50 ihmissairauden patologiaan. Radikaaleja
ja muita reaktiivisia happiryhmiä muodostuu jatkuvasti
ihmiskehossa sekä tarkoituksenmukaisella synteisillä
(esim. aktivoituneet fagosyytit) että kemiallisilla sivureak-
tioilla. Ne poistetaan entsyymaattisilla ja ei-entsyymaat-
10 tisilla antioksidanttipuolustussysteemeillä. Oksidatiivi-
nen stressi, joka tapahtuu kun antioksidanttipuolustukset
ovat riittämättömiä, voi vahingoittaa lipidejä, proteiine-
ja, hiilihydraatteja ja DNA:ta. Oksidatiivinen stressi
aiheuttaa muutamia kliinisiä tiloja, mutta useammin stres-
15 si johtuu sairaudesta, ja se voi edistää merkittävästi
sairauden patologiaa. Yksityiskohtaisempaa selitystä var-
ten katso B. Halliwell, *Drugs*, 1991, 42, 569 - 605.

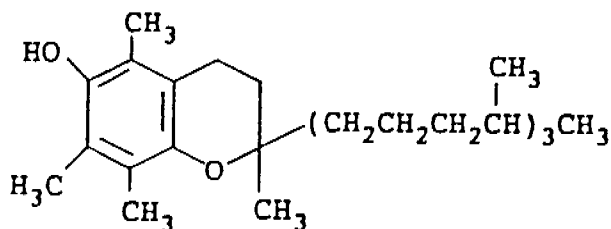
Kun veren toimitus sydänlihaksen osiin on estetty,
on tuloksena sydänlihaskudosvaurio (sydänkohtaus), ja osatto-
20 maksi jäänyt lihaskudos kuolee tuloksenaan pysyvä sydän-
vaurio. Jos veren toimitus voidaan saada uudelleen aikaan
tuntien kuluessa iskemian jälkeen, sydänlihaskudos säilyy
elinkelpoisena ja pysyvää vauriota voidaan pienentää. Tämä
voidaan saavuttaa kirurgisilla samoin kuin farmakologisil-
25 la (trombolyyysi) menetelmillä, ja nämä menetelmät tunne-
taan reperfuusiona.

Iskemian, jota seuraa reperfuusio, aiheuttaa hapestä
johdettujen vapaiden radikaalien muodostumisen ja kohon-
neen lipidiperoksidaation ja tuloksena on kudosaivaurio.
30 Vapaan radikaalin sitojien antaminen sepelvaltimoinfark-
ti/reperfuusiolle tai iskemia/reperfuusiolle tai kirurgi-
sille hoidoille/reperfuusiolle altistuneille eläimille
vähentää näiden vaikutuksia sydämeen, keuhkoon, munuai-
seen, haimaan, aivoihin ja muihin kudoksiin.

Reperfuusiota käytetään nykyään laajalti ja menestys-
 tyksekkäästi, ja on väitetty, että sydänlihaseinfarktista
 johtuvia kuolemantapauksia voidaan vähentää 20 - 30-%:lla.
 Reperfuusiossa on kuitenkin myös ongelmia. Hapesta osatto-
 maksi jäänyt (iskeeminen) kudosis on epänormaalissa tilassa,
 ja se on haavoittuva, kun se yhtäkkiä altistetaan hapek-
 kaalle verelle. Tätä kutsutaan "happiparadoksiksi", ja se
 johtaa reperfuusiovaurioon solukuoleman muodossa. On ole-
 tettu, että tämä vaurio johtuu hapesta johdetuista vapais-
 ta radikaaleista. Todisteita tälle hypoteesille on saatu
 eläinkokeista. B.R. Lucchesi ja avustajat osoittivat, että
 entsyymi superoksididismutaasi, samoin kuin vapaan radi-
 kaalin sijoja N-(merkaptopropionyyli)glysiini, pienentää
 koiran sydänlihaseperfuusiovauriota (Cir. Res., 1984, 54,
 277 - 285; J. Cardiovasc. Pharmacol., 1986, 8, 978 - 88;
 Fed. Proc., 1987, 46, 2413 - 21).

Vitamiini E, so. α -tokoferoli, hyvin tunnettu yh-
 diste, jolla on kaava

20



on luonnollinen antioksidantti, joka reagoi hapesta joh-
 dettujen vapaiden radikaalien samoin kuin vetyperoksidin
 kanssa. On osoitettu, että se sovitetaan lipidimembraanien
 väliin ja että sen biologinen funktio on suojata biomem-
 braaneja oksidatiivista hyökkäystä vastaan. Antioksidantti
 α -tokoferolin 3,4-dihydro-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-2-bent-
 sopyran-6-oliryhmää regeneroidaan jatkuvasti kaikkialla
 läsnä olevilla redox-systeemeillä.

Tämän keksinnön yhdisteet ovat käyttökelpoisia myös
 hoidettaessa tulehdusprosessia, jonka tiedetään käsittävän
 superoksidiradikaalien vapautumisen fagosyyttisistä so-

luista, jotka aiheuttavat joitakin nivelreuman ja muiden tulehdussairauksien, kuten haavaisen paksunsuolentulehduksen, ja tulehduksellisten dermatologisten sairauksien, kuten psoriasiksen, oireita. Erityisen käyttökelpoinen tämän keksinnön yhdisteiden tämä tulehduksen vastainen vaikutus on hoidettaessa tulehduksellista alempaa suolisairautta.

Keuhkojen inhalaatiovamma aiheutuu tyyppillisesti lämmöstä ja kemiallisesta ärsytyksestä, ja kemiallinen vamma on johtava savun sisäänhengitysvaurion letaalisyy. Savun inhalaatio johtaa keuhkovaurioon, joka johtuu keuhkomikroverisuonien ja keuhkoturvotuksen kasvusta. Tätä prosessia seuraa lisääntynyt lipidiperoksidaatio keuhkokuksessa. Lipidiperoksidaation inhibiittorin osoitettiin vähentävän näitä oireita eläimissä, jotka ovat altistuneet kuumalle sahanpurusavulle, julkaisussa Z. Min et al., (J. Med. Cell. PLA, 1990, 5, 176 - 180). He ehdottavat antioksidanttien käyttöä hoidettaessa savuinhalaation keuhkovauriota, aikuisen hengenahdistusoireyhtymää ja keuhkolaajentumaa.

Reaktiivisilla happiryhmillä on myös osa vaahtosolujen muodostumisessa ateroskleroottisiin täplisiin (selitetty julkaisussa D. Steinberg et al., New Engl. J. Med., 1989, 320, 915 - 924) ja vapaan radikaalin sitojalla probukolilla on osoitettu antiateroskleroottinen vaikutus hyperlipideemisissä kaneissa (Carew et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1987, 84, 7725 - 7729). Rappeutuva verkkokalvovaurio ja diabetogeeninen retinopatia on myös listattu kohteiksi käsittelylle vapaan radikaalin sitojilla (vrt. J. W. Baynes, Diabetes, 1991, 40, 405 - 412; S. P. Wolff et al., Free Rad. Biol. Med., 1991, 10, 339 - 352).

Yhdisteet voivat olla käyttökelpoisia myös hoidettaessa syöpiä, ja ikääntymiseen liittyviä degeneratiivisia sairauksia, sydänkohtausta, ja päävammaa, koska hapesta johdettujen vapaiden radikaalien on identifioitu olevan

kausatiivisten tekijöiden joukossa. Tarkastelua varten katso B. Halliwell ja C. Gutteridge, *Biochem. J.*, 1984, 219, 1 - 14; *TINS* 1985, 22 - 6. Antioksidanttien on osoitettu olevan käyttökelpoisia myös hoidettaessa harmaakaihia, *Free Rad. Biol. Med.*, 12:251 - 261 (1992).

In vitro ja in vivo aktiivisuus tämän keksinnön yhdisteille voidaan määrittää käyttämällä standardianalyysijä, jotka osoittavat vapaan radikaalin sitomisominaisuuden, affiniteetin sydänkudokselle ja sydäntäsuojaavat ominaisuudet, samoin kuin vertaamalla aineiden kanssa, jotka tunnetaan tehokkaina tällaisia tarkoituksia varten.

Tyypillinen analyysi, joka on käyttökelpoinen tämän keksinnön yhdisteiden vapaan radikaalin sitomisominaisuuden määrittämiseksi, on in vitro lipidiperoksidaation inhibointi rotan aivohomogenaateissa.

Yhdisteiden vapaan radikaalin sitomisominaisuudet voidaan arvioida helposti missä suhteessa superoksidiradikaalit syntyvät 4 mU ksantiinioksideasilla 0,1 mM ksantiinin ollessa läsnä ja ilmaista 40 µM nitrosinisen tetratsoliumin (NBT) pelkistyksellä diformatsaaniväriaineeksi spektrofotometrisessä analyysissä, kuten on kuvattu julkaisussa C. Beauchamp ja I. Fridovick, (*Analyt. Biochem.* 1987, 161, 276 - 287). 30 U superoksididismutaasia inhiboi tämän pelkistyksen 90-%:isesti, mikä johtuu superoksidiradikaaleista. Superoksidisitojan (koeyhdiste) ollessa läsnä superoksidiradikaalista on kilpailu ja siten pelkistys NBT:n värinmuodostuksessa osoittaa koeyhdisteen superoksidiradikaalin sitomisominaisuuden.

Lipidiperoksidaatiomenetelmän inhibointi voidaan analysoida käyttäen kudoshomogenaatteja biologisten nesteiden antioksidanttiaktiivisuuden mittaamiseksi metodologialla, joka on kuvattu julkaisussa J. Stocks et al., (*Clin. Sci. Mol. Med.*, 1974, 47, 215 - 222), jossa käytetään hoidettujen aikuisten Sprague Dawley -rottien aivokudoshomogenaattia. Inkuboidaan näytteet, joissa on koko-

naistilavuudeltaan 1 ml laimennettua aivohomogenaattia ja sitojaa sopivassa laimennoksessa. Inkuboimattomat näytteet otetaan taustaksi. Kontrollit suoritetaan ilman sitojaa, ja näyte, joka sisältää vain puskuria, otetaan nollako-
 5 keeksi. 30 minuutin inkuboinnin 37 °C:ssa jälkeen 200 µl 35-%:ista perkloorihappoa lisätään, näytteet sentrifugoidaan ja 800 µl supernatantteja sekoitetaan 200 µl:n kanssa 1-%:ista tiobarbituurihappoa. Vaaleanpunainen tiobarbituurihapon reaktiivisen materiaalin kondensaatiotuote kehitetään 100 °C:ssa kiehuva-
 10 vesihauteessa 15 minuutin ajan, ja absorbanssi luetaan 532 nm:ssä.

Kudoksen, mukaan lukien sydänkudoksen, ex vivo inhibointia varten lipidiperoksidaatiota hiirissä voidaan käyttää osoittamaan yhdisteiden kykyä läpäistä ja toimia
 15 vapaan radikaalin sitojina näissä kudoksissa. Tämä analyysi käsittää koiras CD1 hiirien esihoitamisen antamalla ihonalaisesti koeyhdistettä. Yksi tunti myöhemmin kudokset leikataan, homogenisoidaan 1+9 (paino/tilavuus) 20 mM kalliumposfaattipuskurissa pH-arvossa 7,3 (0,14 M KCl) ja
 20 inkuboidaan 1/100 pitoisuudessa 1 ml:ssa puskuria 37 °C:ssa 30 - 120 minuutin ajan. Inkuboinnin lopuksi lisätään 200 µl 35-%:ista perkloorihappoa ja proteiinit poistetaan sentrifugoimalla. 800 µl:aan supernatanttia lisätään 200 µl 1-%:ista TBA:ta, ja näytteitä käsitellään
 25 100 °C:seen 15 minuutin ajan. TBA-addukti uutetaan 2 kertaa 1 ml:aan n-butanolia. Fluoresenssi mitataan viritysaallonpituudella 515 nm ja emissioaallonpituudella 553 nm standardia vastaan, joka on valmistettu malonidialdehydidimetyyliasetaalista.

30 Stimuloidut ihmisen leukosyytit vapauttavat radikaaleja ja muita happimetaboliitteja, jotka tulehduksen aikana toimivat mikrobiaineina. Samanaikaisesti ne vapauttavat proteolyyttisiä entsyymejä, kuten elastaasia, jotka ovat myös mikrobisidisiä, mutta uhkaavat voimakkaasti
 35 isännän sidekudosta. Endogeeninen α_1 -proteinaasi-inhibiit-

tori (α_1 Pi) suojaa normaalisti isäntäkudosta proteolyyttiseltä digestoinnilta. α_1 Pi on kuitenkin inaktivoitu leukosyytistä johdetuilla oksidanteilla. α_1 Pi:n inaktivoinnin antagonismi on osoitus paljastuneista radikaalisitojista.

5 Pitoisuus, joka tarvitaan suojaamaan 50 % α_1 Pi:n elastaasi-inhibiittikapasiteetista (PC_{50}), riippuu läsnä olevien stimuloitujen leukosyyttien määrästä.

Menetelmä: Seurattiin menetelmää, jonka Skosey ja Chow ovat kuvanneet (katso J. L. Skosey ja D. C. Chow, 10 Handbook of Methods for Oksygen Radical Research (Greenwald, R. A., toim.) 1985, ss. 413 - 416, CRC Press, Boca raton). Lyhyesti, ihmisen α_1 Pi inkuboitiin zymosaani-stimuloidun ihmisen perifeeristen veren leukosyyttien kanssa sitojien ollessa poissa tai läsnä. Oksidatiiviselta inaktiivoinnilta α_1 Pi-suojattu määrä määritettiin sen jäljelle 15 jääneellä elastaasi-inhibiittikapasiteetilla.

Weiss on tarkastellut relevanssia tulehdusasiaan (katso S. J. Weiss, N. England J. Med., 1989, 320, 365 - 376). Keuhkolaajentuma liittyy geneettiseen vajavuuteen 20 α_1 Pi:ssä; sairautta lisää edelleen tupakoinnin aikana sisäänhengitetyt oksidantit, mikä johtaa α_1 Pi:n oksidatiiviseen inaktivointiin keuhkokudoksessa (katso J. Travis ja G. S. Salvesen, Annu. Rev. Biochem., 1983, 52, 655 - 709). Hapetettu α_1 Pi on eristetty reumankaltaisesta nivelvoide- 25 nesteestä (katso P. S. Wong ja J. Travis, Biochem. Biophys. Roc. Commun., 1980, 06, 1440 - 1454). Hyaluronihapon, makromolekyyli, joka vastaa nivelvoidenesteen viskositeetista, hajoaminen pannaan alkuun superoksyyliradikaaleilla, jotka vapautuvat ihmisen leukosyyteistä in vitro (katso R. A. Greenwald ja S. A. Moak, Inflammation, 30 1986, 10, 15 - 30). Lisäksi ei-steroidaalisten tulehduksen vastaisten lääkkeiden osoitettiin inhiboivan superoksyyliradikaalien vapautumista leukosyyteistä (katso H. Strom ja I. Ahnfelt-Ronne, Agents and Actions, 1989, 26, 235 - 237 35 ja M. Roch-Arveiller, V. Revelant, D. Pharm Huy, L. Maman,

J. Fontagne, J. R. J. Sorenson ja J. P. Giroud, Agents and Actions, 1990, 31, 65 - 71), ja 5-aminosalisyylihappo voi käyttää terapeuttista aktiivisuuttaan tulehduksellisessa suolisairaudessa radikaalisitojamekanismilla (katso I. Ahnfelt-Ronne, O. H. Nielsen, A. Christensen, E. Langholz, V. Binder ja P. Riis, Gastroenterology, 1990, 98, 1162 - 1169). Siksi uskotaan, että tämän keksinnön yhdisteet voivat olla käyttökelpoisia mainituissa patologisissa tilanteissa, ja että tulehduksellinen suolisairaus voi olla erityinen kohde. Antioksidanttien immuuni stimulatorinen vaikutus on myös raportoitu siten, että ne lisäsivät lymfosyyttiaktiivisuutta (R. Anderson ja P.T. Lukey, Ann. N. Y. Acad. Sci., 1987, 498, 229 - 247) in vitro alkuun syötettyjen leukosyyttien ollessa läsnä, ja ex vivo ihmisvapaaehtoisten esihoidon jälkeen.

Siten käyttäen standardi ja hyvin tunnettua metodologiaa, samoin kuin vertailulla tunnettujen yhdisteiden kanssa, jotka on todettu käyttökelpoisiksi, on todettava, että yhdisteet ovat vapaan radikaalin sitojia, jotka ovat käyttökelpoisia sellaisten sairaustilojen ehkäisyssä ja hoidossa, jotka ovat neurotoksisuuden kaltaisia johtuen liiallisesta glutaamihapon vapautumisesta, Huntingtonin sairauden, Alzheimerin taudin ja muiden kognitiivisten häiriöiden (esim. muistin, oppimisen ja tarkkaavaisuuden puute), amnesian ja Parkinsonin taudin kaltaisia, samoin kuin hoidettaessa ja ehkäistäessä kudოსvauriota sydän-, keuhko-, munuais-, haima- ja aivokudoksessa, minkä aiheuttaa iskemia/reperfuusio, kirurginen hoito ja infarkti/reperfuusio, ja lievittämään akuuttia verenhukkaa, joka johtuu verenvuotoshokista.

Tämän keksinnön yhdisteet ovat α - tokoferolin kaltaisia ja ne omaavat myös 3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetra-alkyyli-2H-1-bentsopyran-2-yyli-ryhmän, mutta α -tokoferolimolekyylin 2-aseman lipofyylinen ryhmä, jonka ajatellaan olevan vastuussa kaikkialla läsnä olevalla liitty-

misellään biomembraaneihin, korvataan hydrofiilisellä ryhmällä, jolloin suodaan suurempi affiniteetti sydänkudokselle. Siten tämän keksinnön yhdisteet ovat käyttökelpoisia myös farmakologisina antioksidanteina ja vapaan radikaalin sitojina, erityisesti superoksidianioniradikaalin O_2^- sitojina. Niitä voidaan käyttää terapeuttisesti silloin, kun reperfuusiovaurio, joka johtuu hapestajohdetuista vapaista radikaaleista ja vetyperoksidista, aiheuttaa solukuoleman kudoksissa. Tämä tilanne syntyy, kun veren toimituksen kudoksiin täydellinen tai osittainen este poistetaan, joko spontaanisti (lyhytaikainen iskemia) tai farmakologisella tai kirurgisella hoidolla (trombolyysi, angioplastia, ohitus, elimensiirto ja niiden kaltaiset). Kudokset, jotka ovat lyhytaikaisen iskemian tai reperfuusion kohteina erilaisissa sairauden tiloissa, tai niiden lääkehoidossa, ovat sydän-, keuhko-, munuais-, haima- ja aivokudokset. Erityisesti nykyään nopeasti kasvava farmakologisen trombolyysin harjoittaminen, joka tunnetaan myös reperfuusiona, sepelvaltimoinfarktin ja -kohtauksen jälkeen, hyötyy vapaan radikaalin sitojan, kuten tämän keksinnön yhdisteet, antamisesta ennen tai samanaikaisesti. Samalla tavalla kirurgiset hoidot, kuten ihon läpi tapahtuva sepelvaltimon muovaus sisäkautta, jossa laajentavaa ilmapalloa käytetään suurentamaan luminaalia halkaisijaa vaikeasti tukkeutuneissa ateroskleroottisissa suonissa, sepelvaltimon ohitusleikkaukset ja elinsiirtoleikkaus luovat olosuhteet, joissa hapestajohdetuista radikaaleista johtuva reperfuusiovaurio tapahtuu ja joissa niitä voidaan vähentää sitojilla. Lyhytaikainen iskemia on yksi kausatiivisista tekijöistä, joka johtaa angina pectorikseen, ja siten tämän keksinnön yhdisteet ovat käyttökelpoisia myös antianginaalisina aineina.

Tämän keksinnön yhdisteet voidaan arvioida seuraavasti myös rotissa, joissa on sidonnan aiheuttama infarkti ja reperfuusio. Toiselle kahdesta rottaryhmästä annetaan

infuusiolla laskimonsisäisesti koeyhdisteen liuos suolaliuoksessa nopeudella 2,3 ml/h (10 mg/kg/h). Kontrolliryhmälle annetaan infuusiolla suolaliuosta samalla nopeudella. 10 minuutin kuluttua lääkkeen infuusiosta, sepelvaltimot sidotaan kirurgisesti 60 minuutiksi, sidonta irrotaan, jolloin sallitaan reperfuusio 30 minuutin ajan. Sidonta tehdään uudelleen, ja väriaine (Evans Blue) injektoidaan. Eläimet tapetaan, ja sydänkammiot poistetaan ja punnitaan. Värjäytymätön kudosa leikataan ja punnitaan; tämä edustaa "riskialuetta", so. aluetta, joka jää osattomaksi veren toimituksesta sidonnassa. Infarktoituneen alueen määrittämiseksi kudosta inkuboidaan 2,3,5-trifenyyllitetratsoliumkloridin kanssa. Infarktoituneesta kudoksesta tulee vaaleasti värittyä, ja se voidaan leikata ja punnita. Siten kullekin rotalle, joka selviytyy sidonnasta, saadaan mittaus "riskialue" (RA) ja "infarktoitunut alue" (IA), ja IA/RA-suhde lasketaan.

Tämän keksinnön yhdisteitä voidaan käyttää sekä ehkäisevästi että terapeutisesti. Aktiivisen ainesosan määrä terapeutista antamista varten voi vaihdella laajalla alueella, ja se riippuu sellaisista tekijöistä, kuten hoidettavan potilaan lajista, iästä, terveydestä, sukupuolesta, painosta, hoidettavan tilan luonteesta ja vakavuudesta. Termi "potilas" viittaa lämminveriseen eläimeen, kuten esimerkiksi rottiin, hiiriin, koiriin, kissoihin, marsuihin, kädellisiin ja ihmisiin. Yleensä terapeutisesti vaikuttava määrä annettavaa aktiivista ainesosaa vaihtelee noin 0,1 - 30 mg/kg kehon painoa vuorokautta kohti. Ehkäisevää antamista varten voidaan käyttää vastaavia alempia annoksia. Edullisesti tämän keksinnön yhdisteitä annetaan potilaalle yhdistelmässä farmaseuttisesti hyväksyttävän kantajan kanssa, joka on mikä tahansa aine, joka auttaa yhdisteen antamisessa vaikuttamatta oleellisesti sen terapeutisiin ominaisuuksiin.

Edullisimmin yhdisteet annetaan laskimonsisäisesti, erityisesti kriisitilanteissa, joissa on oleellista, että terapeutin aine annetaan sen toimintakohtaan niin nopeasti kuin mahdollista, kuten niissä hätäolosuhteissa, jonka aiheuttavat sepelvaltimoinfarkti, -kohtaus ja kirurgiset hoidot, olosuhteissa, jotka voivat aiheuttaa vaikean reperfuusioaurion.

Tämän keksinnön yhdisteet voidaan antaa myös oraalisesti, edullisesti käyttäen aktiivisempaa ainesosaa vuorokaudessa kuin parenteraalisesti annettuna, edullisesti ottaen jaettuja annoksia 3 - 4 kertaa vuorokaudessa. Edullisesti enteraalinen antaminen kriisin jälkeisissä tilanteissa, erityisesti sairaalahoito-olosuhteista vapautumisen jälkeen. Yhdisteitä voidaan käyttää standardiannosyksikkömuodoissa, kuten tabletteina, kapseleina, rakeina, pastilleina, eliksiireinä, emulsioina, suspensioina, ja tapauksissa, joissa paikallinen antaminen on edullista peräpuikolla tai kielen alle antamisella. Tabletit ja kapselit, jotka sisältävät 100 - 400 mg aktiivista ainesosaa, ovat edullisia malleja enteraalista antamista varten. Tietenkin tulehduksen hoidossa edullinen antamismenetelmä on varastoinjektiolla suoraan tulehdusalueen kohtaan, seurannan ollessa enteraalisen antamisen keinoin.

Valmistettaessa kiinteitä annosmuotoja, kuten tabletteja, aktiivinen ainesosa sekoitetaan yleensä tavanomaisten farmaseuttisten kantajien tai täyteaineiden kanssa, kuten gelatiinin, erilaisten tärkkelysten, laktoosin, kalsiumfosfaatin tai jauhetun sokerin kanssa. Termi farmaseuttinen kantaja, kuten tässä on käytetty, käsittää myös voiteluaineet, joita käytetään parantamaan tabletti-granulaattien valumista ja joka estää tablettimateriaalin adheesion tablettimuottien ja -lävistimien pintaan. Sopiviin voiteluaineisiin kuuluvat esimerkiksi talkkisteariinihappo, kalsiumstearaatti ja sinkkistearaatti. Tässä käytettyyn farmaseuttisen kantajan määritelmään kuuluvat myös

hajotusaineet, jotka lisätään auttamaan tablettien hajoamista ja liukenemista antamisen jälkeen, samoin kuin väri- ja/tai makuaineet lisäämään tablettien esteettistä laatua ja tekemään ne hyväksyttävämmäksi potilaalle. Omien vaikutuksiensa takia antioksidanttina, askorbiinihappoa
 5 käytetään myös edullisesti formulaatioissa kaavan (1) mukaisten aktiivisten ainesosien kanssa.

Sopiviin nestemäisiin täyteaineisiin nestemäisten annosyksikkömuotojen valmistamiseksi kuuluvat vesi ja alkoholit, kuten etanoli, bentsyylialkoholi ja polyetyleeniglykolit, joko pinta-aktiivisen aineen lisäyksen kanssa tai ilman. Yleensä edulliset nestemäisiin täyteaineisiin, erityisesti injektoitavia valmisteita varten, kuuluvat vesi, fysiologinen liuos ja suolaliuos, dekstroosi- ja
 10 glykoliliuokset, kuten vesipitoinen propyleeniglykoli- tai polyetyleeniglykoliliuos. Ärsytyksen minimoimiseksi tai eliminoimiseksi injektiokohdassa tällaiset koostumukset voivat sisältää ei-ionisen pinta-aktiivisen aineen, jolla on hydrofiili-lipofiili-tasapaino (HLB) noin 12 - 17. Pinta-aktiivisen aineen määrä tällaisissa formulaatioissa vaihtelee noin 5 - 15 paino-%:iin. Pinta-aktiivinen aine voi olla yksittäinen komponentti, jolla on edellä identifioitu HLB, tai kahden tai useamman komponentin seos, jolla on haluttu HLB. Havainnollisia esimerkkejä pinta-aktiivisista aineista, jotka ovat käyttökelpoisia parenteraalisissa formulaatioissa, ovat polyoksietyleeninsorbitaanirasvahappoesterien luokka, esimerkiksi sorbitaanimonooleaatti, ja suuren molekyyllipainon etyleenioksidin adduktit hydrofobisen emäksen kanssa, joka on muodostunut propyleenioksidin kondensaatiolla propyleeniglykolin kanssa. Tietyissä paikallisissa ja parenteraalisissa valmisteissa voidaan käyttää erilaisia öljyjä kantajina tai täyteaineina. Havainnollisia esimerkkejä tällaisista öljyistä ovat mineraaliöljyt, glyseridiöljyt, kuten laardiöljy, turskanmaksaöljy, maapähkinäöljy, seesamiöljy, maissiöljy ja soi-
 15
 20
 25
 30
 35

japapuöljy. Liukenemattomia yhdisteitä varten voidaan lisätä suspendointiaineita, samoin kuin aineita kontrolloimaan viskositeettia, esimerkiksi magnesiumalumiinisiliikaattia tai karboksimeytyyliselluloosaa. Näiden täyteaineiden lisäksi voidaan käyttää myös puskureita, säilöntäaineita ja emulgointiaineita. Tyypillinen ummetustyyppisen peräruiskeen peräruiskevalmiste käyttää pieniä tilavuuksia, yleensä paljon vähemmän kuin noin 150 ml aikuiselle, tyypilliset tilavuudet vain muutama millilitra ovat edullisia. Täyteaineet ja liuottimet käytettäväksi ummetusperäruiskeissa tulisi tietenkin valita siten, että vältetään koolonista ärsytystä, ja ne tulisi valita siten, että minimoidaan erilaisten aineiden absorptio.

Tämän keksinnön yhdisteet voidaan antaa myös paikallisesti. Tämä voidaan suorittaa yksinkertaisesti valmistamalla annettavan yhdisteen liuos, edullisesti käyttäen liuotinta, jonka tiedetään edistävän absorptiota ihon läpi, kuten etanolia tai dimetyylisulfoksidia (DMSO) muiden täyteaineiden kanssa tai ilman. Edullisesti paikallinen antaminen suoritetaan käyttäen joko varasto ja huokoisin membraanin tyyppistä tai kiinteän matriisimuunnoksen laastaria.

Joitakin sopivia ihon läpi -keksintöjä on kuvattu US-patenteissa nrot 3 742 951, 3 797 494, 3 996 934 ja 4 031 894. Nämä keksinnöt sisältävät yleensä tukijäsenen, joka määrittää toisen puolistaan pinnaksi, aktiivisen aineen läpäisevän adhesiivisen kerroksen, joka määrittää toisen pintapuolen ja vähintään yhden varaston, joka sisältää aktiivisen aineen pantuna ulkopintojen väliin. Vaihtoehtoisesti aktiivinen aine voidaan sisällyttää moninaisiin mikrokapseleihin, jotka jaetaan läpäisevän adhesiivisen kerroksen kautta. Kummassakin tapauksessa aktiivinen aine jaetaan jatkuvasti varastosta tai mikrokapseleista membraanin läpi aktiivisen aineen läpäisevään adhesiiviin, joka on yhteydessä vastaanottajan ihon tai lima-

kalvon kanssa. Jos aktiivinen aine absorboituu ihon läpi, aktiivisen aineen kontrolloitu ja esimäärätty virtaus annetaan vastaanottajalle. Mikrokapselien tapauksessa, kapselointiaine voi myös toimia membraanina.

5 Toisessa keksinnössä tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden ihon läpi antamista varten farmaseuttisesti aktiivinen yhdiste sisällytetään matriisiin, josta se jaetaan halutulla asteittaisella, vakio- ja kontrolloidulla nopeudella. Matriisi on läpäisevä yhdisteen vapautumiselle
10 diffuusion tai mikrohuokoisen virtauksen kautta. Vapautuminen on nopeuskontrolloitu. Tällainen systeemi, joka ei vaadi membraania kuvataan US-patentissa nro 3 921 636. Ainakin kahden tyyppinen vapautuminen on mahdollista näissä systeemeissä. Vapautuminen diffuusiolla tapahtuu, kun
15 matriisi ei ole huokoinen. Farmaseuttisesti vaikuttava yhdiste liukenee matriisiin ja diffusoituu matriisin läpi itsekseen. Vapautuminen mikrohuokoisella virtauksella tapahtuu, kun farmaseuttisesti vaikuttava yhdiste kuljetaan matriisin houkosissa olevan nestefaasin läpi.

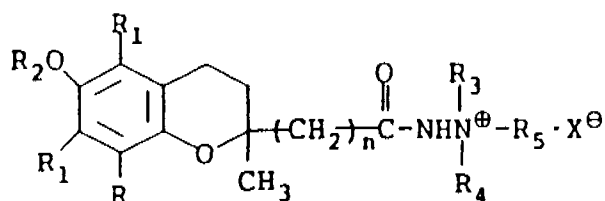
20 Tämän keksinnön yhdisteet voidaan sisällyttää aerosolivalmisteeseen alan ammattimiehen yleisesti tuntemilla keinoilla. Aerosolivalmiste voidaan valmistaa käytettäväksi paikallisena aerosolina, tai se voidaan valmistaa inha-laatiota varten. Aerosolivalmiste voi olla liuoksen tai
25 suspension muodossa, ja se voi sisältää muita ainesosia, kuten liuottimia, ponneaineita ja/tai hajotusaineita. Tyyppillisiä esimerkkejä aerosolivalmisteista esitetään julkaisussa Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing Company, Easton Pennsylvania, ss. 1694 -
30 1712 (1990), joka on sisällytetty tähän viittauksella.

 Tietenkin, kuten on totta useimmissa tapauksissa, joissa tietyillä kemiallisten yhdisteiden luokilla on todettu olevan edullisia terapeuttisia loppukäyttösovelluksia, tietyt alasu-
35 vun ryhmät ja tietyt spesifiset yhdisteet ovat edullisia. Tässä tapauksessa kaavan I mukaiset edul-

liset yhdisteet ovat niitä, joissa R_3 , R_4 ja R_5 merkitsevät kukin metyyliä; R on metyyli; kukin R_1 on metyyli, R_2 on vety; n on nolla tai yksi; ja/tai X on 4-metyylibentseeni-sulfonaatti tai ei mikään, kun sisäinen suola muodostuu.

Patenttivaatimukset:

1. Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisen
3,4-dihydro-2H-1-bentsopyraanin hydratsidijohdannaisen
5 valmistamiseksi, jolla on kaava



(1)

sen stereoisomeerien ja seoksien, sen sisäisten suolojen,
ja sen farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmista-
15 miseksi, joissa

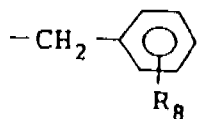
R on vety tai C₁₋₆-alkyyli,

R₁ on C₁₋₆-alkyyli,

R₂ on vety tai -C(O)R,

R₃ ja R₄ merkitsevät toisistaan riippumatta C₁₋₆-al-
20 kyyliä;

R₅ on C₁₋₆-alkyyli, tai



R₈:n ollessa vety tai halogeeni,

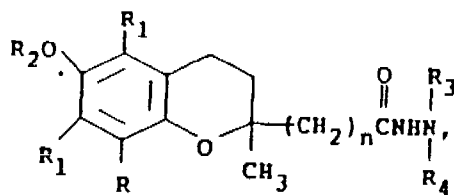
25

n on nolla, 1, 2 tai 3, ja

X on halogenidi, -S(O)₃R₆, tai ei mikään, kun sisäi-
nen suola muodostuu

R₆ on vety, C₁₋₆-alkyyli, fenyyli tai 4-metyylifenyy-
30 li,

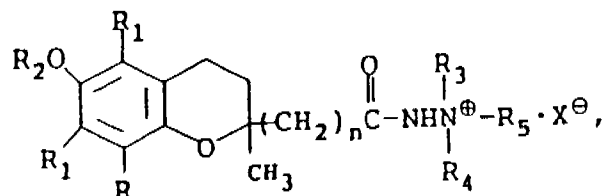
käsittäen vaiheet, joissa saatetaan hydratsiini



35

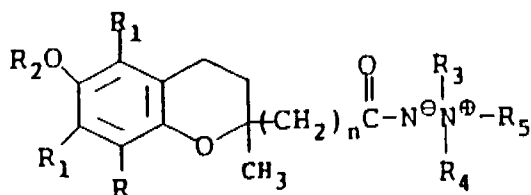
(4)

reagoimaan, kuten aikaisemmin on määritelty, R_5X' :n kanssa, jossa X' on halogenidi tai $-S(O)_3R_6$, kuten aikaisemmin on määritelty, ja palautusjäähdytetään, jolloin valmistetaan asyylihydratsiniumsuola



(5)

kuten aikaisemmin on määritelty, ja mahdollisesti käsitellään edellä saatua asyylihydratsiniumia emäksellä sisäisen suolan valmistamiseksi



(6)

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että kukin ryhmistä R_3 , R_4 ja R_5 on metyyli.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että kukin R_1 on metyyli.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että X on $-S(O)_3R_6$.

5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että X ei ole mikään.

6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että R_2 on vety.

7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että valmistetaan 2-[(3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-2-yyli)-

karbonyyli]-1,1,1-trimetyylihydratsinium-4-metyyllibentseenisulfoatti ja sen enantiomeerit.

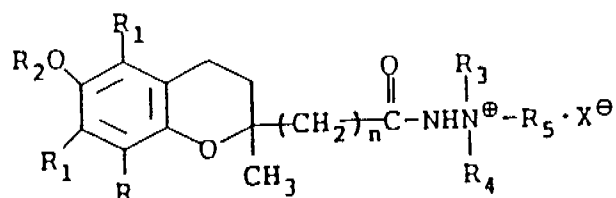
8. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että valmistetaan 2-[(3,4-dihydro-
5 6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-2-yyli)-karbonyyli]-1,1,1-trimetyylihydratsinium, sen sisäinen suola ja sen enantiomeerit.

9. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että valmistetaan 2-(3,4-dihydro-
10 6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-2-asetyyli)-1,1,1-trimetyylihydratsinium-4-metyyllibentseenisulfoatti ja sen enantiomeerit.

10. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että valmistetaan 2-(3,4-dihydro-
15 6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-2-asetyyli)-1,1,1-trimetyylihydratsinium, sen sisäinen suola ja sen enantiomeerit.

Patentkrav:

1. Förfarande för framställning av ett terapeutiskt användbart 3,4-dihydro-2H-1-bensopyranhydrazidderivat med formeln



(1)

stereoisomererna och blandningarna därav, deras interna salter, och de farmaceutiskt godtagbara salterna därav, vari

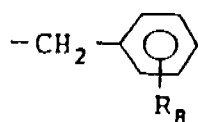
R är H eller C₁₋₆-alkyl,

R₁ är C₁₋₆-alkyl,

R₂ är H eller -C(O)R,

R₃ och R₄ är självständigt C₁₋₆-alkyl,

R₅ är C₁₋₆-alkyl, eller



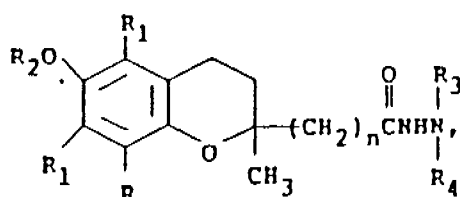
vari R₈ är H eller halogen,

n är noll, 1, 2 eller 3 och

X är en halogenid, -S(O)₃R₆, eller saknas, när det interna saltet bildas, och

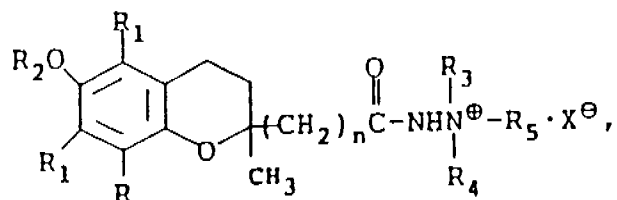
R₆ är H, C₁₋₆-alkyl, fenyl eller 4-metylfenyl,

k ä n n e t e c k n a t av, att man omsätter ett hydrazin



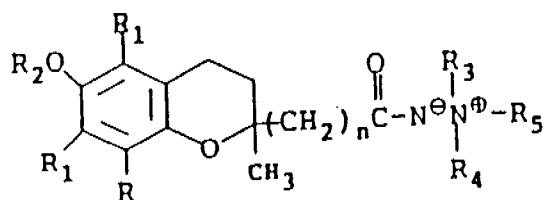
(4)

såsom tidigare definierats, med R_5X' , vari X' är en halogenid eller $-S(O)_3R_6$, såsom tidigare definierats, under återflödesavkylning, varvid man erhåller ett acylhydraziniumsalt



(5)

såsom tidigare definierats, och eventuellt behandlar ovan erhållna acylhydrazinium med en bas för erhållande av ett internt salt



(6)

2. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e - t e c k n a t av, att envar av R_3 , R_4 och R_5 är metyl.

3. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e - t e c k n a t av, att varje R_1 är metyl.

4. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e - t e c k n a t av, att X är $-S(O)_3R_6$.

5. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e - t e c k n a t av, att X saknas.

6. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e - t e c k n a t av, att R_2 är väte.

7. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e - t e c k n a t av, att man framställer 2-[(3,4-dihydro-6-hydroxi-2,5,7,8-tetrametyl-2H-1-bensopyran-2-yl)karbonyl]-

1,1,1-trimetylhydrazinium-4-metylbensensulfonat och enantiomerer därav.

8. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av, att man framställer 2-[(3,4-dihydro-6-
5 hydroxi-2,5,7,8-tetrametyl-2H-1-bensopyran-2-yl)karbonyl]-
1,1,1-trimetylhydrazinium, ett internt salt och enantiome-
rer därav.

9. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av, att man framställer 2-(3,4-dihydro-6-
10 hydroxi-2,5,7,8-tetrametyl-2H-1-bensopyran-2-acetyl)-
1,1,1-trimetylhydrazinium-4-metylbensensulfonat och enan-
tiomerer därav.

10. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av, att man framställer 2-(3,4-dihydro-6-
15 hydroxi-2,5,7,8-tetrametyl-2H-1-bensopyran-2-acetyl)-
1,1,1-trimetylhydrazinium, ett internt salt och enantiome-
rer därav.