(19) SUOMI - FINLAND
(FI)

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

(10) **FI 925949 A7**

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

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 925949

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification
C07D311/72

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **30.12.1992**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **30.12.1992**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **03.07.1993**

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

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

02.01.1992 EP 92400006

(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, Johann Martin,** France, RANSKA, (FR)
2 • **Petty, Margaret Anne,** 67000 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

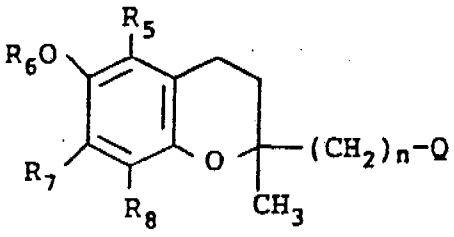
Kudosta suojaavia tokoferolianalogeja

Vävnandsskyddande tokoferolanaloger

Menetelmä kudosta suojaavien tokoferolianalogien valmistamiseksi

Tämä keksintö koskee tiettyjen 2H-1-bentsopyraanien alkyloituja sulfoniumalkyleenijohdannaisia, välituotteita ja menetelmiä, jotka ovat käyttökelpoisia niiden valmistamiseksi, niiden vapaan radikaalin poistavaa ainetta ja sydäntä suojaavia ominaisuuksia, sekä niiden lopullista käyttösovellusta terapeuttisina aineina.

Tarkemmin tämä keksintö koskee alkyloituja sulfoniumalkyleenijohdannaisia, joiden kaava on



I

niiden (R)- ja (S)-enantiomeerejä ja raseemisia seoksia ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja, joissa

Q on $S^+R_1R_2 \cdot X^-$,

X on halogenidi tai $OS(O)_2R_3$, jossa R_3 on H, C_{1-6}-alkyyli, CF_3, aryyli tai aralkyyli,

R_1 on C_{1-6}-alkyyli, fenyyli, bentsyyli tai fenetyyli,

R_2 on C_{1-6}-alkyyli, ja R_1 ja R_2 ovat C_{4-6}-alkyleeni, joka yhdessä sen rikkiatomin kanssa, johon ne kiinnittyvät, muodostaa 5-, 6- tai 7-atomisen renkaan,

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

R_6 on H tai -C(O)R, jossa R on H tai C_{1-9}-alkyyli,

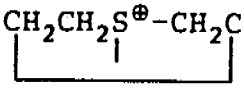
R_7 on H tai C_{1-6}-alkyyli,

R_8 on H tai C_{1-6}-alkyyli ja n on kokonaisluku 1 - 6.

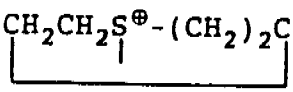
Tässä käytettävä kaavan I mukainen $(CH_2)_n$-osa, jossa n on kokonaisluku yhdestä kuuteen, on C_{1-6}-suora- tai haaraketjuinen alkyleeni, jollaisia ovat sellaiset edulliset lajit, kuten metyleeni, etyleeni, propyleeni, t-butyleeni, n-butyleeni, n-heksyleeni ja isopropyleeni. Termi "C_{1-6}-

alkyyli" käsittää suora- ja haaraketjuiset radikaalit, joissa on korkeintaan kuusi hiiliatomia, joista esimerkkeinä ovat metyyli, etyyli, propyyli, n-butyyli, t-butyyli, pentyyli ja heksyyli. Termi "-C(O)R" käsittää sellaiset asyyliosat, joissa R on H ja C_{1-9}-alkyyli, käsittäen formyylin ja suora- ja haaraketjuiset alkyylikarbonyyliosat, joissa on korkeintaan 10 hiiliatomia, ja tällaisia ovat metyylikarbonyyli, etyylikarbonyyli, propyylikarbonyyli, t-butyylikarbonyyli ja n-heksyylikarbonyyli. Käytännössä aryyli on edullisesti fenyyli tai fenyyli, joka on substituoitu C_{1-6}-alkyyliradikaaleilla (esim. tolueeni), ja aralkyyli on bentsyyli tai fenetyyli, ja kussakin fenyyliosassa on valinnaisesti alempia C_{1-6}-alkyyliradikaaleja.

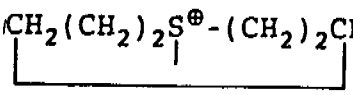
Niissä tapauksissa, joissa R_1 ja R_2 yhdessä sen rikkiatomin kanssa, johon ne kiinnittyvät, muodostavat 5- - 7-atomisen heterosyklisen renkaan, tällaisia osia voivat valaista



tiofeniumosa,



tiopyryyliumosa ja



tiopiniumosa, ja tällaiset yhdisteet ovat nimeltään esimerkiksi (jos X^- on Br) tetrahydro-1-[2-(3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-2-yyli)etyy-

li]tiofeniumbromidi, tetrahydro-1-[2-(3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-2-yyli)etyyli]tiopyryliumbromidi ja tetrahydro-1-[2-(3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-2-yyli)-etyyli]tiopiniumbromidi.

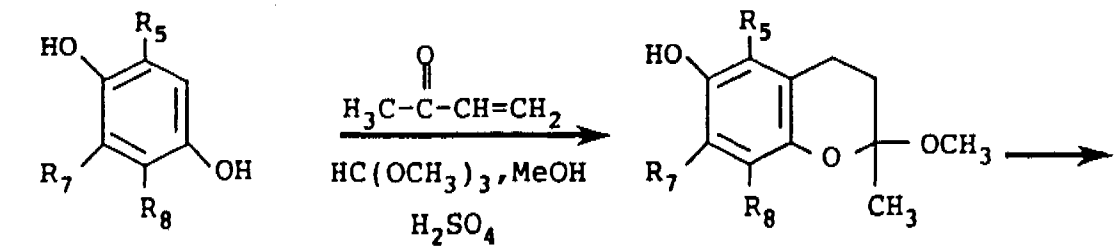
"Q"-osa käsittää tertiaariset sulfoniumryhmät, jotka kiinnittyvät alkyleeniosaan. Vaikka on edullista, että R_1- ja R_2-radikaalit ovat samoja, tämän keksinnön suojapiiriin kuuluvat sellaiset johdannaiset, joissa R_1- ja R_2-radikaalit ovat erilaisia. Edullisesti nämä radikaalit ovat metyyli, etyyli, fenyyli tai bentsyyli.

Termi "farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat" käsittää sellaiset suolat, jotka voidaan valmistaa saattamalla orgaaninen tai epäorgaaninen happo reagoimaan farmaseuttisen emäsyhdisteen kanssa, jolloin saadaan myrkytön farmaseuttisesti hyväksyttävä kokonaisuus. Esimerkkeinä epäorgaanisista hapoista, jotka muodostavat sopivia suoloja, ovat kloorivety-, bromivety-, rikki- ja fosforihappo, ja happometallisuolat, kuten natriummonovetyortofosfaatti ja kaliumvetysulfaatti. Esimerkkeinä orgaanisista hapoista, jotka muodostavat sopivia suoloja, ovat mono-, di- ja trikarboksyylihapot. Esimerkkeinä tällaisista hapoista ovat esimerkiksi, etikka-, glykoli-, maito-, palorypäle-, maloni-, meripihka-, glutaari-, fumaari-, omena-, viini-, sitruuna-, askorbiini-, maleiini-, hydroksimaleiini-, bentsoe-, hydroksibentsoe-, fenyylietikka-, kaneli-, salisyyli-, 2-fenoksibentsoe- ja sulfonihapot, kuten metaanisulfonihappo, 4-metyylibentseenisulfonihappo ja 2-hydroksietaanisulfonihappo. Voidaan muodostaa joko mono- tai dihapposuoloja, ja tällaiset suolat voivat esiintyä joko hydratoituneessa tai suurin piirtein vedettömässä muodossa. Tavallisesti näiden yhdisteiden suolat ovat kiteisiä aineita, jotka liukenevat veteen ja erilaisiin hydrofiilisiin orgaanisiin liuottimiin.

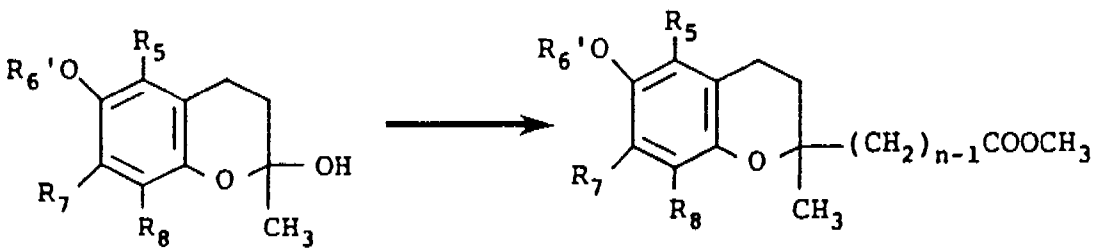
Tavallisesti kaavan I mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa standardeilla vastaavasti kemiassa tunnetuilla kemiallisilla menetelmillä ja tekniikoilla. Käytännössä kaavan (I) mukaisten yhdisteiden valmistuksessa käytetään hyväksi 3,4-dihydro-2H-1-bentsopyran-2-oleja lähtöaineina, jotka suurimmalta osalta ovat tunnettuja yhdisteitä. Tapauksissa, joissa jokin lähtöaine ei ole tunnettu, niin tällaiset yhdisteet voidaan helposti valmistaa käyttäen standardimenetelmiä, jotka tunnetaan vastaavasti kemiassa, kuin myös käyttäen sellaisia menetelmiä, joista voidaan olettaa saatavan haluttuja lähtöaineita.

3,4-dihydro-2,5,7,8-tetra-alkyyli-2H-1-bentsopyran-2-olien ja niiden muuttaminen kaavan I mukaisiksi lopputuotteiksi kuvataan seuraavissa reaktionkulkukaavioissa.

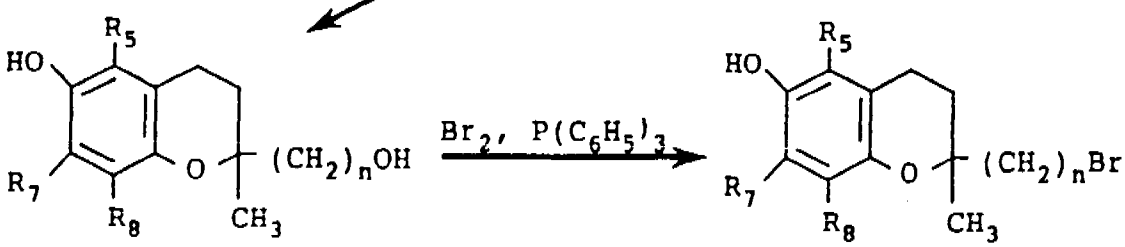
Välituotteiden valmistus



(2) (3)



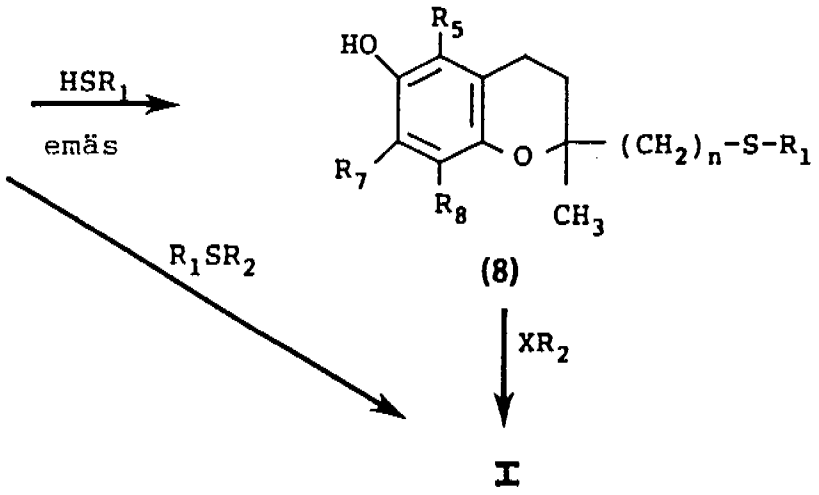
(4) (5)



(6) (7)

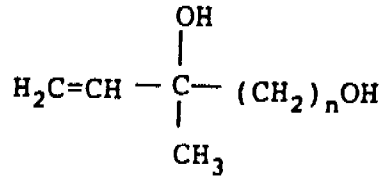
jossa R'_6 on -C(O)R, ja R, R_5, R_7 ja R_8 ovat kuten edellä määritettiin.

Lopputuotteiden valmistus



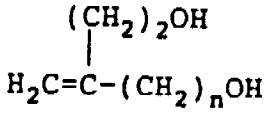
jossa n, R_1, R_2, R_5, R_7, R_8 ja X ovat kuten aikaisemmin määritettiin.

Välituotteiden valmistus alkaa siitä, että hydrokinonit (2) kondensoidaan 3-buteeni-2-onin kanssa hapon, edullisesti rikkihapon läsnä ollessa, ja kondensaatio suoritetaan metanolilla ja trimetyyliortoformaatissa. Näin muodostetut dihydrobentsopyraanit (3) asyloidaan ja sitten hydrolysoidaan standardimenetelmien mukaisesti, jolloin saadaan kaavan (4) hemiketaaleja. Hydroksialkyyliosan liittäminen kaavan (4) mukaisten yhdisteiden 2-asemaan voidaan suorittaa Wittig- tai Horner-tyyppisillä reaktioilla, edullisesti reaktiolla, jossa kaavan (4) mukaiset yhdisteet saatetaan reagoimaan trimetyylifosfonoesterin (esim. trimetyylifosfonoasetaatin) kanssa, jolloin saadaan kaavan (5) mukaisia estereitä, jotka hydrolysoidaan ja sitten pelkistetään (edullisesti litiumalumiinihydridillä), jolloin saadaan kaavan (6) mukaisia alkoholeja. Nämä alkoholit voidaan muodostaa myös suoraan kondensoimalla happokatalysoidusti hydrokinonit (2) sopivilla kaavojen (10) ja (11) mukaisilla vinyylidioleilla.



(10)

tai



(11)

jossa n on kuten edellä määritettiin.

Kaavan (6) mukaiset alkoholit muutetaan kaavan (7) mukaisiksi bromideiksi, käyttäen standardiolosuhteita, kuten esimerkiksi suorittamalla reaktio bromitrifenyylifosfoniumbromidin ($Ø_3PBr^+Br^-$) kanssa, joka yhdiste on saatu reaktiosta, jossa trifenyylifosfiini reagoi bromin kanssa dikloorimetaanissa. Kaavan (7) mukaiset bromidit voidaan muuttaa halutuiksi kaavan I mukaisiksi tertiaarisiksi sulfoniumjohdannaisiksi, käyttäen hyväksi kemiassa hyvin tunnettuja standardimenetelmiä, esimerkiksi reaktiolla, jossa kaavan (7) mukainen bromidi saatetaan reagoimaan ekvimolaarisen tai ylimäärän kanssa sopivaa disulfidia (R_1SR_2), paineessa, lämpötilassa, joka on noin 90 - 150 °C, siten, että mukana on tai ei ole liuotinta. Vaihtoehtoisesti voidaan valmistaa disulfidi (8) ja tämän jälkeen S-alkyloida se sopivalla alkyylihalogenidilla tai alkyylisulfonaatilla (se on R_2X, jossa X on halogenidi tai alkyylisulfonaatti - $OS(O)_2R_3$). Kaavan (8) mukaisia disulfideja valmistettaessa voidaan käyttää standardeja kemiassa hyvin tunnettuja menetelmiä. Esimerkiksi bromidi (7) voidaan saattaa reagoimaan merkaptaanin, HSR_1, natrium- tai kaliumsuolan kanssa inertissä liuottimessa, edullisesti dimetyyliformamidissa, 25 - 100 °C:ssa, reaktioajan ollessa 2 - 48 tuntia, jolloin saadaan sopivan käsittelyn jälkeen disulfidit (8). Kaavan (8) mukaisten disulfidien S-alkylointi voidaan suorittaa erilaisilla kemiassa hyvin tunnetuilla menetelmil-

lä. Esimerkiksi kuumennettaessa palautusjäähdytyslämpötilassa kaavan (8) mukaista disulfidia ja p-tolueenisulfonihapon alkyyliesteriä, saadaan vastaava kaavan I mukainen sulfoniumyhdiste, jossa X^- = 4-$CH_3C_6H_5S(O_2)O^-$. Kun tässä reaktiossa käytetään alkyylihalogenidia (R_2X), on usein edullista lisätä myös ekvimolaarinen määrä hopeatetrafluoriboraattia; kun hopeahalogenidi on poistettu, saadaan sulfoniumyhdisteen tetrafluoriboraattisuola. Kun käytetään perkloorihappoa hopeatetrafluoriboraatin sijaan, on tarpeen suojata 6-OH-ryhmä asyloimalla (R_5 = -C(O)R). Kaavan I mukaisten yhdisteiden perkloraatti- tai tetrafluoriboraattisuolojen muuttaminen farmaseuttisesti hyväksyttäviksi suoloiksi on mahdollista mutta aikaa vievää ja siksi se ei ole edullista.

Tapauksissa, joissa halutaan valmistaa kaavan I mukaisia estereitä [se on, R_6 on -C(O)R], 6-OH-osan asylointi voidaan suorittaa siten, että asyloidaan kaavan (8) mukaisia yhdisteitä käyttäen kemiassa hyvin tunnettuja standardimenetelmiä, kuten käsittelemällä alkoholia sopivalla happoanhydridillä tai asyylihalogenidilla. Vaihtoehtoisesti asylointi voidaan suorittaa viimeisenä vaiheena.

Edelleen, koska 2-asemassa on asymmetrinen hiiliatomi, yhdisteet voivat esiintyä joko R- tai S-enantiomeereina tai näiden seoksena. Yksittäisten enantiomeerimuotojen valmistus voidaan suorittaa siten, että hajotetaan kaavan (5) mukaiset hapot standardein ja tunnetuin tavoin, kuten esimerkiksi käyttäen diastereomeerisiä suoloja ja optisesti aktiivisia amiineja, tai vaihtoehtoisesti hajottamalla alkoholit (7) estereinä optisesti aktiivisilla hapoilla, esim. L-2,4-$MeClC_6H_3CHMeCOOH$ (Me kuvaa metyyliä).

Seuraavat esimerkit valaisevat tässä kuvattuja tekniikoita ja menetelmiä.

Esimerkki 1

3,4-dihydro-2-(2-bromietyyli)-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-6-oli

11,0 g:aan (1,042 mol) trifenyylifosfiinia, joka on 200 ml:ssa dikloorimetaania, lisätään tipoittain liuos, jossa on 6,71 g (0,042 mol) bromia 50 ml:ssa dikloorimetaania. Liuosta sekoitetaan 30 minuuttia huoneenlämpötilassa, sitten lisätään 10,0 g (0,04 mol) 3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrahydrometyyli-2H-1-bentsopyran-2-etanolia (CAS 79907-48-5). Syntynyttä liuosta kuumennetaan palautusjäähdytyslämpötilassa neljä tuntia, sen annetaan jäähtyä yön yli, se pestään liuoksella, jossa on 15 g natriumkarbonaattia 200 ml:ssa vettä, se kuivataan vedettömällä natriumsulfaatilla, suodatetaan ja haihdutetaan. Syntynyt öljy kiteytetään metanolista, jolloin saadaan 9,22 g 3,4-dihydro-2-(2-bromietyyli)-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-6-olia.

Optisesti aktiiviset enantiomeerit saadaan subsituoimalla raseeminen 3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-2-etanoli enantiomeerillä R- (CAS 94425-68-0) tai S- (CAS 94425-67-9) ja seuraamalla tämän esimerkin menetelmiä kullekin yksittäiselle isomeerille.

Esimerkki 2

3,4-dihydro-2-(2-metyylitioetyyli)-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-6-oli

Seosta, jossa on 6,26 g (0,02 mol) 3,4-dihydro-2-(2-bromietyyli)-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-6-olia ja 2,80 g (0,04 mol) natriumtiometoksidia 50 ml:ssa kuivaa dimetyyliformamidia, sekoitetaan 70 °C:ssa 16 tuntia. Lisätään vettä ja 2-N:ista suolahappoa ja tuote uutetaan etyyliasetaatilla. Uute pestään vedellä ja natriumbikarbonaattiliuoksella, kuivataan vedettömällä natriumsulfaatilla, suodatetaan ja haihdutetaan. Syntynyt tuote uudelleenkiteytetään etyyliasetaatti/heptaanista, jolloin saadaan 2,90 g otsikon yhdistettä, s.p. 66,5 - 67 °C.

Käyttäen hyväksi R- ja S-enantiomeerejä, jotka valmistettiin esimerkissä 1, vastaavat enantiomeerit valmistetaan samalla tavoin seuraamalla tässä esimerkissä kuvattua menetelmää.

Esimerkki 3

[2-(3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-2-yyli)etyyli]dimetyylisulfonium-4-metyylibentseenisulfonaatti

Liuosta, jossa on 2,90 g 3,4-dihydro-2-(2-metyylitioetyyli)-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-6-oliaja 2,12 g (10 %:n ylimäärä) metyyli-4-metyylibentseenisulfonaattia 30 ml:ssa asetonitriiliä, kuumennetaan palautusjäähdytyslämpötilassa 48 tuntia. Jäähdytettäessä ja lisättäessä etyyliasetaattia, tuote kiteytyy, ja se uudelleenkiteytetään samasta liuotinparista, 4,19 g (87 % saanto), s.p. 156 - 158 °C, identifioidaan alkuaineanalyysin, IR-, UC- ja ^{1}H- ja ^{13}C-NMR-spektrien perusteella.

Esimerkki 4

[2-(3,4-dihydro-6-hydroksi-2,7,8-trimetyyli-2H-1-bentsopyran-2-yyli)etyyli]dimetyylisulfonium-4-metyylibentseenisulfonaatti

Seuraamalla esimerkeissä 1 - 3 kuvattuja menetelmiä, mutta käyttäen 3,4-dihydro-6-hydroksi-2,7,8-trimetyyli-2H-1-bentsopyraani-2-etanolia (CAS 93600-70-5) lähtöaineena, saadaan otsikon yhdiste.

Esimerkki 5

[2-(3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,8-trimetyyli-2H-1-bentsopyran-2-yyli)etyyli]dimetyylisulfonium-4-metyylibentseenisulfonaatti

Seuraamalla esimerkeissä 1 - 3 kuvattuja menetelmiä, mutta käyttäen 3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,8-trimetyyli-2H-1-bentsopyraani-2-etanolia (CAS 93600-69-2) lähtöaineena, saadaan otsikon yhdiste.

Esimerkki 6

[2-(3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7-trimetyyli-2H-1-bentsopyran-2-yyli)etyyli]dimetyylisulfonium-4-metyylibentseenisulfonaatti

Seuraamalla esimerkeissä 1 - 3 kuvattuja menetelmiä, mutta käyttäen 3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7-trimetyyli-2H-1-bentsopyraani-2-etanolia (CAS 93600-68-1) lähtöaineena, saadaan otsikon yhdiste.

Esimerkki 7

[3-(3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-2-yyli)propyyli]dimetyylisulfonium-4-metyylibentseenisulfonaatti

Seuraamalla esimerkeissä 1 - 3 kuvattuja menetelmiä, mutta käyttäen 3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-propanolia (CAS 104568-57-2) lähtöaineena, saadaan otsikon yhdiste.

Esimerkki 8

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

Kuumaan liuokseen, jossa on 132,16 g otsikon yhdistettä 700 ml:ssa isopropanolia, lisätään 60,59 g S-(-)-α-metyylibentsyyliamiinia ja 100 ml etyyliasetaattia. Kiteyttämällä hitaasti yön yli jääkaapissa, saadaan jonkin verran enemmän kuin puolet teoreettisestä määrästä kiteistä ainetta (tarkastettiin haihduttamalla suodos kuiviin). Tämä aine uudelleenkiteytetään samalla tavoin kolme kertaa ja syntynyt puhdas diastereomeerisuola muutetaan vapaaksi hapoksi ravistelemalla 200 ml:ssa 2-N:ista suolahappoa ja 400 ml:ssa etyyliasetaattia. Vesikerros erotetaan ja uutetaan etyyliasetaatilla. Yhdistetty orgaaninen faasi pestään 2-N:isella suolahapolla, vedellä ja kylläisellä natriumkloridiliuoksella, kuivataan vedettömällä natriumsulfaatilla, suodatetaan ja haihdutetaan kuiviin. Syntynyt kiinteä aine uudelleenkiteytetään etyyliasetaatti/heptaanista, jolloin saadaan 40,85 g (62 %) otsikon yhdisteen

S-(-)-enatiomeeriä, α_D^{25} = -9,61° (0,95 % MeOH:ssa). Enantiomeerinen puhtaus HPLC:llä määritettynä on ee = 99,9 %. Alkuaineanalyysi oli 0,3 %:n rajoissa teoreettisista arvoista.

Edellä olevien diastereomeerisuolakiteytyksien yhdistetyt suodokset haihdutetaan ja muutetaan vapaaksi hapoksi kuvatulla tavalla, jolloin saadaan 92,02 g ainetta. Se liuotetaan 600 ml:aan isopropanolia ja 42,19 g R-(+)-α-metyylibentsyyliamiinia ja 200 ml etyyliasetaattia lisätään. Kiteyttämällä hitaasti ja uudelleenkiteyttämällä kahdesti saadaan, vapaaksi hapoksi muuttamisen ja yhden lopullisen uudelleenkiteytyksen jälkeen, 41,50 g (63 %) otsikon yhdisteen R-(+)-enantiomeeri, α_D^{25} = +9,35° (0,96 % MeOH:ssa) ee = 99,9 %. Anal. C, H.

On mahdollista saada talteen hajoamaton osa ainetta suodoksista, kuin myös enantiomeeriset amiinit, käytettäviksi seuraavassa hajotuksessa.

Esimerkki 9

2S-(-)- ja 2R-(+)-[2-(3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-2-yyli)etyyli]dimetyylisulfonium-4-metyylibentseenisulfonaatti

Sekoitettuun liuokseen, jossa on 38,91 g halutun hapon S-(-)-enantiomeeriä edeltävästä esimerkistä 500 ml:ssa tetrahydrofuraania, lisätään 30 ml 10-M:ista boraanimetyylisulfidikompleksia 30 minuutin aikana, ja seosta sekoitetaan palautusjäähdytyslämpötilassa kolme tuntia. Jäähdyttämisen jälkeen lisätään tipoittain 120 ml metanolia ja syntynyt liuos haihdutetaan kuiviin. Jäännös otetaan talteen etyyliasetaattiin, pestään 2-N:isella suolahapolla, vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaatti- ja natriumkloridiliuoksilla, kuivataan vedettömällä natriumsulfaatilla, suodatetaan ja haihdutetaan. Jäännös uudelleenkiteytetään etyyliasetaatti/heptaanista, jolloin saadaan 30,69 g (83 %) 2-S-(-)-3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyraani-2-etanolia,

α_D^{25} = -6,44° (0,90 % MeOH:ssa). Tämän yhdisteen 2R-(+)-enantiomeeri saadaan samalla tavoin edeltävässä esimerkissä kuvatun hapon R-(+)-enantiomeeristä. Sen kiertokulma on +6,00° (1,01 % MeOH:ssa).

Nämä kaksi enantiomeeristä alkoholia muutetaan kumpikin bromidi-, metyylisulfidi- ja dimetyylisulfiditosylaatiksi esimerkeissä 1, 2 ja 3 kuvatuilla menetelmillä, jolloin saadaan otsikon yhdisteet 2S-(-)-enantiomeerinä, α_D^{25} = -18,74° (0,95 % MeOH:ssa), ee = 99,9 % ja 2R-(+)-enantiomeerinä, α_D^{25} = +18,24° (1,19 % MeOH:ssa), ee = 99,9 %.

Tämän keksinnön yhdisteiden suojapiirin kuin myös yleisten ja erityisten menetelmien, joilla valmistetaan mainittuja yhdisteitä, kuvaamisen jälkeen seuraavaksi kuvataan tämän keksinnön yhdisteiden käyttökelpoisuutta sekä niiden menetelmiä.

Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat vapaita radikaaleja poistavia aineita. Vapaiden radikaalien reaktioiden on osoitettu ilmenevän useammassa kuin 50:ssä ihmissairauden patologiassa. Radikaaleja ja muita reaktiivisia happilajeja muodostuu jatkuvasti ihmisen kehossa sekä hitaan synteesin (esim. aktivoitujen fagosyyttien) että kemiallisten sivureaktioiden kautta. Ne poistaa entsymaattinen ja ei-entsymaattinen antioksidantti-puolustusjärjestelmä. Oksidatiivinen stressi, jota ilmenee, kun antioksidanttipuolutus on riittämätöntä, voi vaurioittaa lipidejä, proteiineja, hiilihydraatteja ja DNA:ta. Jotkut kliiniset tilat ovat oksidatiivisen stressin aiheuttamia, mutta useammin stressi johtuu sairaudesta ja se voi edistää merkittävästi sairauden patologiaa. Tarkempaa katsausta varten katso B. Halliwell, Drugs, 1991, 42, 569 - 605.

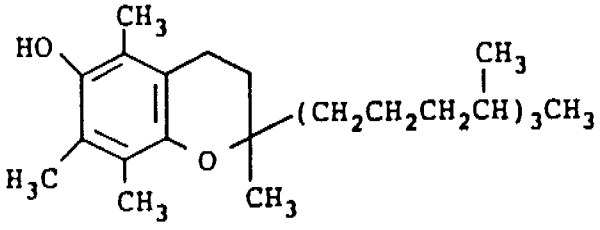
Kun veren saanti osaan sydänlihaksesta estyy, seuraa sydänlihasinfarkti (sydänkohtaus), ja kudos, johon veri ei ole päässyt, kuolee, mistä seuraa pysyvä sydänvamma. Mikäli veren virtaus voidaan elvyttää muutaman tunnin

sisällä verettömyystilan jälkeen, sydänlihaskudos pysyy elinkykyisenä ja pysyvä vamma on pienempi. Tämä voidaan saada aikaan kirurgisin kuin myös farmakologisin (veritulpan hajoaminen) menetelmin, ja nämä menetelmät tunnetaan veren uudelleen virtaamisena elimen läpi.

Verettömyys, jota seuraa veren uudelleen virtaaminen, saa aikaan happiperäisten vapaiden radikaalien muodostumista ja lisää lipidien peroksidoitumista ja johtaa kudoksen vaurioitumiseen. Annettaessa vapaita radikaaleja poistavia aineita eläimille, joille on aiheutettu verettömyys/veren uudelleen virtaaminen elimen läpi, nämä vaikutukset sydämessä, keuhkoissa, munuaisissa, haimassa, aivoissa ja muissa kudoksissa vähenevät.

Veren uudelleen virtausta elimen läpi sovelletaan nykyisin laajasti ja menestyksellisesti, ja on väitetty, että sydänlihasinfarktiin liittyviä kuolemantapauksia voidaan vähentää 20 - 30 %. Veren uudelleen virtaukseen liittyy myös ongelmia. Hapettomuudesta kärsinyt (veretön) kudos on epänormaalissa tilassa ja se on herkästi haavoittuva, kun se yhtäkkiä saatetaan happirikkaaseen vereen. Tämä on nimetty "happiparadoksiksi" ja se johtaa veren uudelleen virtauksesta aiheutuvaan vaurioon solun kuolemisen muodossa. On väitetty, että tämä vaurio johtuu happiperäisistä vapaista radikaaleista. Todistetta tälle väittämälle on saatu eläinkokeista. B.R. Lucchesi ja tutkimusryhmä ovat osoittaneet, että superoksididismutaasientsyymi, kuin myös vapaita radikaaleja poistava aine, N-(merkaptopropionyyli)glysiini, vähentävät koiran sydänlihaksen veren uudelleen virtauksesta johtuvaa vauriota (Cir. Res., 1984, 54, 277 - 285; J. Cardiovasc. Pharmacol., 1986, 8, 978 - 88; Fed. Proc., 1987, 46, 2413 - 21).

E-vitamiini, se on α-tokoferoli, hyvin tunnettu yhdiste, jonka kaava on



on luonnon antioksidantti, joka reagoi happiperäisten vapaiden radikaalien, kuin myös vetyperoksidin kanssa. On osoitettu, että se menee lipidikalvojen väliin ja että sen biologinen tehtävä on suojata biologisia kalvoja oksidatiiviselta hyökkäykseltä. Antioksidantin, α-tokoferolin 3,4-dihydro-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-2-bentsopyran-6-oliosa regeneroituu jatkuvasti kaikkialla läsnä olevassa hapetuspelkistysjärjestelmässä.

Tämän keksinnön mukaisilla yhdisteillä on myös läheisesti samanlainen tai samanlainen 3,4-dihydroksi-2,5,7,8-tetra-alkyyli-2H-1-bentsopyran-2-yyliosa, mutta α-tokoferolimolekyylin 2-aseman lipofiilinen molekyyli, jonka uskotaan olevan vastuussa sen kaikkialla tapahtuvaan liittymiseen biologisiin kalvoihin, on korvattu hydrofiilisella osalla, jolloin biologinen käytettävyys on parempi. Esimerkiksi tietyillä esillä olevan keksinnön mukaisilla yhdisteillä on todettu olevan affiniteettia sydänkudokseen. Siten tämän keksinnön yhdisteet ovat myös käyttökelpoisia farmakologisina antioksidantteina ja vapaita radikaaleja poistavina aineina sekä superoksyylianioniradikaalin, O_2^-:n poistavina aineina. Niitä voidaan käyttää terapeuttisesti tapauksissa, joissa happiperäisten vapaiden radikaalien ja vetyperoksidin aiheuttama veren uudelleen virtauksesta johtuva vaurio aiheuttaa solukuolemaa kudoksissa. Tällainen tilanne ilmenee, kun täydellinen tai osittainen verivirtauksen esto kudoksiin poistuu, joko spontaanisti (ohimenevä verettömyys) tai farmakologisin

tai kirurgisin toimenpitein (veritulpan hajottaminen, verisuonikirurgia, ohitusleikkaus, elinsiirto ja vastaavat toimenpiteet). Kudoksia, jotka joutuvat ohimenevän verettömyyden tai veren uudelleen virtauksen kohteeksi erilaisissa sairaustiloissa tai niiden lääkehoidon kautta, ovat sydän, keuhkot, munuaiset, haima ja aivot. Erityisesti nykyisin nopeasti lisääntyvälle käytännölle, että veritulppa hajotetaan farmakologisesti veren uudelleen virtauksen aikaan saamiseksi sepelvaltimoinfarktin ja halvauksen jälkeen, on hyödyksi ennen tai samanaikaisesti annettava vapaita radikaaleja poistavan aineen, kuten tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden anto. Vastaavasti kirurgisissa toimenpiteissä, kuten ihon kautta tapahtuvassa sepelvaltimon läpi suoritettavassa suonten uudelleen muovauksessa, jossa käytetään verisuonta laajentavaa palloa suurentamaan ontelon halkaisijaa vaikeasti tukkeutuneissa valtimon haurauskovetustaudista kärsivissä suonissa, valtimon ohitusleikkauksissa ja elinsiirtokirurgiassa syntyy olosuhteita, joissa happiperäisistä radikaaleista johtuva veren uudelleen virtauksen aiheuttama vaurio tapahtuu ja jota vauriota voidaan vähentää poistavilla aineilla. Ohimenevä verettömyys on eräs aiheuttavista tekijöistä, joka johtaa angina pectorikseen, ja siten tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat käyttökelpoisia myös angina pectorista estävinä aineina.

Tulehdusprosessin tiedetään myös olevan mukana superoksyyliradikaalien vapautumisessa fagosyyttisoluista, mistä johtuvat jotkut nivelreuman ja muiden tulehdussairauksien, kuten haavaisen paksunsuolen ja tulehduksellisten ihohäiriöiden, kuten proriaasiksen oireista. Erityistä käyttöä tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden tällä tulehduksenvastaisella vaikutuksella on tulehduksellisen alemman suolen sairauden hoidossa.

Keuhkojen sisäänhengitysvaurion aiheuttavat tavallisesti lämpö- ja kemiallinen ärsytys, ja kemiallinen vau-

rio on savun sisäänhengitysvaurion suurin kuolemaa aiheuttava syy. Savun sisäänhengittäminen johtaa keuhkovaurioon keuhkovaltimoiden mikroverisuoniston ja keuhkovaltimopöhön lisääntymisen vuoksi. Tähän prosessiin liittyy lisääntynyt lipidien peroksidoituminen keuhkokudoksessa. Lipidiperoksidoitumisen estäjän osoitettiin vähentävän näitä oireita eläimissä, jotka altistettiin kuumalle sahanpurupölysavulle, Z. Min et al., (J. Med. Cell. PLA, 1990, 5, (2), 176 - 180. He suosittavat antioksidanttien käyttöä hoidettaessa savun sisäänhengityksestä johtuvaa keuhkovauriota, aikuisen hengitysahdistussyndroomaa, ilmapöhöä ja astmaa.

Reaktiiviset happilajit ovat myös mukana vaahtosolujen muodostumisessa valtimon haurauskovetustautiin liittyvissä plakeissa (tarkastellut D. Steinberg et al., New Engl. J. Med., 1989, 320, 915 - 924), ja vapaita radikaaleja puhdistavalla probukolilla on merkittävä valtimon haurauskovetustautia estävä vaikutus veren korkeasta lipidipitoisuudesta kärsivissä kaneissa (Carew et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1987, **84**, 7725 - 7729. Rappeuttava verkkokalvon vaurio ja sokeritautiin liittyvä verkkokalvosairaus on myös lueteltu kohteiksi, joita hoidetaan vapaita radikaaleja poistavilla aineilla (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 rappeuttavia sairauksia, jotka liittyvät ikääntymiseen, halvaukseen ja pään vammoihin, sillä happiperäisiä vapaita radikaaleja on identifioitu aiheuttavien tekijöiden joukosta. Katsauksia tehty seuraavissa julkaisuissa: B. Halliwell ja C. Gutteridge, Biochem. J., 1984, 219, 1 - 14; TINS 1985, 22 - 6. Antioksidanttien on myös osoitettu olevan käyttökelpoisia harmaakaihien hoidossa, Free Rad. Biol. Med., 12:251 - 261 (1992).

Tämän keksinnön yhdisteiden in vitro ja in vivo - vaikutus voidaan määrittää käyttäen standardikokeita, jot-

ka osoittavat vapaan radikaalin poistusominaisuuden, kuin myös vertaamalla sellaisiin aineisiin, joiden tiedetään olevan tehokkaita tällaisiin tarkoituksiin.

Esimerkkinä kokeesta, joka on käyttökelpoinen määritettäessä tämän keksinnön yhdisteiden vapaan radikaalin poistavaa vaikutusta, on lipidiperoksidoitumisen esto in vitro rotan aivohomogenaateissa.

Vapaan radikaalin poistovaikutusta voidaan arvioida myös kokeella, jossa superoksidiradikaaleja johdetaan 4 mU:lla ksantiinioksidaasia siten, että mukana on 0,1 mM ksantiinia, ja havaintojen tekeminen perustuu 40 µM nitrosini-tetratsoliniumin (NBT) pelkistymiseen diformatsaaniväriaineeksi spektrofotometrisessä kokeessa, jonka on kuvannut C. Beauchamp ja I. Fridovick, (Analyt. Biochem. 1971, 44, 276 - 287). 30 U superoksididismutaasia esti tämän pelkistymisen 90-%:isesti, mikä johtuu superoksidiradikaaleista. Superoksidia puhdistavan aineen (koeyhdisteen) läsnä ollessa syntyy kilpailu superoksidiradikaalista, ja siten NBT:n värinmuodostuksen heikkeneminen osoittaa koeyhdisteen superoksidiradikaalia poistavan ominaisuuden.

Lipidiperoksidoitumisprosessin estoa voidaan tutkia käyttäen kudoshomogenaatteja biologisten nesteiden antioksidanttivaikutuksen mittaamiseksi menetelmällä, jonka ovat kuvanneet J. Stocks et al., (Clin. Sci. Mol. Med., 1974, 47, 215 - 222), jossa menetelmässä käytetään hyväksi käsittelemättömien täysi-ikäisten Sprague-Dawley-rottien aivokudoshomogenaattia.

Näytteitä, joiden kokonaistilavuus on 1 ml laimennettua aivohomogenaattia ja poistavaa ainetta sopivana laimennoksena, inkuboidaan. Ei-inkuboidut näytteet otetaan taustaksi. Kontrollit käsitellään ilman poistavaa ainetta, ja näyte, jossa on ainoastaan puskuria, valitaan blanknäytteeksi. Kun on inkuboitu 37 °C:ssa 30 minuuttia, lisätään 200 µl 1-%:ista tiobarbituurihappoa. Reaktiivisen

tiobaribituurihapon vaaleanpunaista kondensaatiotuotetta kehitetään 100 °C:ssa kiehuvassa vesihauteessa 15 minuuttia ja absorbanssi luetaan 532 nm:ssä.

Kudoksen, kuten sydänkudoksen, hiirissä tapahtuvaa lipidiperoksidaation ex vivo -estoa voidaan käyttää hyväksi osoitettaessa yhdisteiden kykyä tunkeutua näihin kudoksiin ja toimia niissä vapaita radikaaleja poistavina aineina. Tässä kokeessa käytetään uros-CD1-hiiriä, joita on esikäsitelty antamalla niille ihon alle koeyhdistettä. Tuntia myöhemmin kudokset leikataan pois, niitä homogenisoidaan 1+9 (m/V) 20 mM:ssa kaliumfosfaattipuskuria pH:ssa 7,3 (0,14 M KCl) ja inkuboidaan 1/100 konsentraatiossa 1 ml:ssa puskuria 37 °C:ssa 30 - 120 minuuttia. Inkuboinnin lopussa lisätään 200 µl 35-%:ista perkloorihappoa ja proteiinit poistetaan sentrifugoimalla. 800 ml:aan sakan yläpuolella ollutta nestettä lisätään 200 µl 1-%:ista TBA:ta ja näytteitä lämmitetään 100 °C:seen 15 minuuttia. TBA-additiotuote uutetaan kaksi kertaa 1 ml:aan n-butanolia. Fluoresenssi mitataan viritysaallonpituudella, joka on 515 nm, ja emissioaallonpituudella, joka on 553 nm, standardia, joka on tehty malonialdehydidimetyyliasetaatilla, vastaan.

Stimuloidut ihmisen leukosyytit vapauttavat superoksyyliradikaaleja ja muita happimetaboliitteja, jotka tulehduksen aikana toimivat mikrobisidisinä aineina. Samaan aikaan ne vapauttavat proteolyyttisiä entsyymejä, kuten elastaasia, jotka ovat myös mikrobisidisiä aineita, mutta jotka mahdollisesti uhkaavat isännän sidekudoksia. Endogeeninen α_1-proteinaasin estäjä (α_1Pi) tavallisesti suojaa isäntäkudosta proteolyyttiseltä hajoamiselta. Leukosyyttiperäiset oksidantit inaktivoivat kuitenkin α_1Pi:n. Oksidantin muodostumisen antagonisointi ja siten tulehdusta edistävä α_1Pi:n inaktivointi saadaan aikaan esille tuoduilla radikaaleja poistavilla aineilla. Konsentraatio, joka tarvitaan suojaamaan 50 % α_1Pi:n elastaasin estokapa-

siteetista (PC_{50}), riippuu mukana olevien stimuloitujen leukosyyttien määrästä.

Menetelmä: Seurattiin menetelmää, jonka ovat kuvanneet Skosey ja Chow (katso J.L. Skosey ja D.C. chow, Handbook of Methods for Oxygen Radical Research (Greenwald, R.A., toim.) 1985, ss. 413 - 416, CRC Press, Boca Raton). Lyhyesti, ihmisen α_1Pi:tä inkuboitiin yhdessä tsymotsaanilla stimuloidun ihmisen ääreisverenkierron leukosyyttien kanssa siten, että mukana oli tai ei ollut poistavia aineita. Oksidatiiviselta inaktivoitumiselta suojatun α_1Pi:n määrä määritettiin sen jäljelle jääneestä elastaasin estokapasiteetista.

Inflammatioaiheen relevanssia on tarkastellut Weiss (katso S.J. Weiss, N. England J. Med., 1989, **320**, 365 - 376). Keuhkojen emfyseema liittyy geneettiseen α_1Pi:n häiriöön; tautia pahentavat edelleen tupakanpolton yhteydessä sisäänhengitetyt oksidantit, mikä johtaa α_1Pi:n oksidatiiviseen inaktivointiin keuhkokudoksessa (katso J. Travis ja G.S. Salvesen, Annu. Rev. Biochem., 1983, **52**, 655 - 709). Hapettunutta α_1Pi:tä on myös eristetty nivelreumaisesta nivelnesteestä (katso P.S. Wong ja J. Travis, Biochem. Biophys. Roc. Commun., 1980, **06**, 1440 - 1454). Hyaluronihapon, makromolekyylin, joka vastaa nivelnesteen viskositeetista, hajoamisen aloittavat superoksyyliradikaalit, jotka vapautuvat ihmisen leukosyyteistä in vitro (katso R.A. Greenwald ja S.A. Moak, Inflammation, 1986, 10, 15 - 30). Edelleen ei-stereoidirankaisten tulehduksenvastaisten lääkeaineiden on osoitettu estävän superoksyyliradikaalien vapautumista leukosyyteistä (katso H. Strom ja I. Ahnfelt-ronne, Agents and Actions, 1989, 26, 235 - 237 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 käyttää terapeuttisen vaikutuksena tulehduksellisessa suolisairaudessa radikaalin poistomekanismilla (katso I. Ahn-

felt-Ronne, O.H. Nielsen, A. Christensen, E. Langholz, V. Binder ja P. Riis, Gastroentereology, 1990, **98**, 1162 - 1169). Siten uskotaan, että tämän keksinnön yhdisteet ovat käyttökelpoisia mainituissa patologisissa tiloissa ja että tulehduksellinen suolisairaus voi olla erityinen kohde. Antioksidanttien immuunistimulanttivaikutuksen on myös raportoitu parantavan lymfosyyttiaktiivisuutta (R. Anderson ja P.T. Lukey, Ann. N.Y. Acad. Sci., 1987, **498**, 229 - 247) in vitro leukosyyttien, joissa ketjureaktio on pantu alulle, läsnä ollessa, ja ex vivo vapaaehtoisten ihmisten esihoidon jälkeen.

Siten, käyttäen standardia ja hyvin tunnettua metodologiaa, kuin myös vertaamalla yhdisteisiin, jotka on havaittu käyttökelpoisiksi, havaitaan, että yhdisteet ovat vapaita radikaaleja poistavia aineita, jotka ovat käyttökelpoisia ehkäistäessä ja hoidettaessa sellaisia sairaustiloja, jotka liittyvät hermotoksisuuteen, joka johtuu glutamaatin liiallisesta vapautumisesta, Huntingtonin tautiin, Alzheimerin tautiin ja muihin tietoisuushäiriöihin (esim. muisti-, oppimis- ja tarkkaavaisuushäiriöt), muistinmenetykseen ja Parkinsonin tautiin, kuin myös hoidettaessa ja estettäessä verettömyydestä johtuvaa kudosvauriota sydämessä, keuhkoissa, munuaisissa, haimassa ja aivokudoksessa, sekä lievitettäessä verenvuotoshokista johtuvaa akuuttia verikatoa.

Edullisimmin yhdisteet annetaan suonensisäisesti, erityisesti kriisitilanteissa, joissa on oleellista, että terapeuttinen aine jakautuu vaikutuspaikaansa mahdollisimman nopeasti, kuten sellaisissa hätätapauksissa, jotka ovat sepelvaltimoinfarktin, halvauksen ja kirurgisten toimenpiteiden aiheuttamia, tapauksissa, jotka voivat aiheuttaa vakavan veren uudelleen virtauksesta johtuvan vaurion.

Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää hyväksi sekä ennalta ehäisevästi että terapeuttisesti. Termillä "hoitaa" tai sen eri muodoilla tarkoitetaan poti-

laiden sairauden tai tilan ehkäisyä tai lievitystä. Termillä "potilas" tarkoitetaan lämminveristä eläintä, esimerkiksi rottia, hiiriä, koiria, kissoja, kaneja, kädellisiä ja ihmisiä. Terapeuttiseen antoon tarvittava vaikuttavan aineosan määrä voi vaihdella suurissa rajoissa, ja se riippuu tekijöistä, kuten hoidettavasta nisäkäslajista, sen iästä, terveydestä, sukupuolesta, painosta, hoidettavan tilan luonteesta ja vakavuudesta. Yleensä annettava terapeuttisesti vaikuttava määrä vaikuttavaa aineosaa on noin 0,1 mg/kg - 30 mg/kg ruumiinpainoa kohden päivässä. Ennaltaehkäisevään hoitoon voidaan käyttää vastaavia alhaisempia annoksia.

Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet voidaan antaa myös suun kautta, edullisesti käyttäen vaikuttavampaa aineosaa päivittäin kuin ruoansulatuskanavan ulkopuolelle annettaessa, edullisesti annettuna jaettuina annoksina 3 - 4 kertaa päivässä. Edullisesti suun kautta tapahtuva anto "kriisin" jälkeisissä tilanteissa, erityisesti sairaalahoidosta pois pääsyn jälkeisissä tiloissa. Yhdisteet voidaan käyttää standardeissa yksikkölääkemuodoissa, kuten tabletteina, kapseleina, sokerirakeina, pastilleina, eliksiireinä, emulsioina, suspensioina, ja tapauksissa, joissa paikallinen anto on edullinen, peräpuikkoina tai kielen alle laitettavana lääkemuotona. Tabletit ja kapselit, jotka sisältävät 25 - 400 mg vaikuttavaa aineosaa, ovat edullisia ruoansulatuskanvaan tapahtuvia antomuotoja. Luonnollisesti, hoidettaessa tulehdusta, edullinen antotapa on depot-injektio, joka annetaan suoraan tulehdusalueelle, minkä jälkeen jatketaan ruoansulatuskanavaan tapahtuvilla antotavoilla.

Valmistettaessa kiinteitä annosmuotoja, kuten tabletteja, vaikuttava aineosa sekoitetaan tavallisesti tunnettujen farmaseuttisten kantaja-aineiden tai apuaineiden, kuten gelatiinin, erilaisten tärkkelysten, laktoosin, kalsiumfosfaatin tai jauhemaisen sokerin kanssa. Tässä käy-

tettävä termi farmaseuttinen kantaja-aine käsittää myös liukuaineet, joita käytetään tablettirakeiden virtauksen parantamiseen ja jotka estävät tablettimateriaalin tarttumisen tablettimuottien pintoihin. Sopivia liukuaineita ovat esimerkiksi, talkki, steariinihappo, kalsiumstearaatti, magnesiumstearaatti ja sinkkistearaatti. Tässä käytettävän farmaseuttisen kantaja-aineen määritelmään kuuluvat myös lisättävät aineet, jotka avustavat tablettien hajoamisessa ja dissoluutiossa annon jälkeen, kuin myös stabilisaattorit (esim. askorbiinihappo), väri- ja/tai makuaineet, jotka parantavat tablettien laatua.

Sopivia nestemäisiä apuaineita, joita käytetään nestemäisten yksikkölääkemuotojen valmistuksessa, ovat vesi ja alkoholit, kuten etanoli, bentsyylialkoholi ja polyetyleeniglykolit, joko lisätyn pinta-aktiivisen aineen kanssa tai ilman sitä. Yleisesti, edullisia nestemäisiä apuaineita, erityisesti injektiovalmisteisiin, ovat vesi, fysiologiset ja suolaliuokset, dekstroosi- ja glykoliliuokset, kuten propyleeniglykolin tai polyetyeeniglykolin vesiliuokset. Injektion ruiskutuspaikassa syntyvän ärsytyksen minimoimiseksi tai poistamiseksi tällaiset koostumukset voivat sisältää ei-ioniaktiivista pinta-aktiivista ainetta, jonka hydrofiili-lipofiilitasapainoarvo (HLB) on noin 12 - noin 17. Pinta-aktiivisen aineen määrä tällaisissa formulaatioissa on noin 5 - 15 paino-%. Pinta-aktiivinen aine voi olla yksittäinen komponentti, jolla on edellä maintitu HBL-arvo, tai se voi olla kahden tai useamman komponentin seos, jolla on haluttu HBL-arvo. Esimerkkeinä pinta-aktiivisista aineista, jotka ovat käyttökelpoisia ruoansulatuskanavan ulkopuolelle annettavissa formulaatioissa, ovat polyoksietyleenisorbitaanirasvahappoestereiden luokka, esimerkiksi sorbitaanimono-oleaatti ja etyleenioksidin ja hydrofobisen emäksen korkeamman molekyylipainon omaavat additiotuotteet, jotka on muodostettu kondensoimalla propyleenioksidi propyleeniglykolin

kanssa. Tietyissä paikallisesti ja ruoansulatuskanavan ulkopuolelle annettavissa valmisteissa voidaan käyttää erilaisia öljyjä kantaja-aineina ja apuaineina. Esimerkkeinä tällaisista öljyistä ovat mineraaliöljyt, seesamiöljy, maissiöljy ja soijaöljy. Liukenemattomia yhdisteitä varten voidaan lisätä suspensoivia aineita, kuin myös aineita, jotka säätävät viskositeettia, esimerkiksi magnesiumalumiinisilikaattia tai karboksimetyyliselluloosaa. Näiden apuaineiden lisäksi voidaan myös lisätä puskureita, säilöntäaineita ja emulgaattoreita.

Tämän keksinnön yhdisteet voidaan myös antaa paikallisesti. Tämä voi tapahtua siten, että yksinkertaisesti valmistetaan liuos, jossa on annettavaa yhdistettä, edullisesti käyttäen liuotinta, jonka tiedetään edistävän ihon läpi tapahtuvaa imeytymistä, kuten etanolia tai dimetyylisulfoksidia (DMSO), yhdessä muiden apuaineiden kanssa tai ilman niitä. Edullisesti paikaliinen anto tapahtuu siten, että käytetään laastaria, jossa on vaikuttavan aineen säiliö ja huokoinen kalvo tai erilaisia kiinteitä matrikseja.

Joitakin sopivia ihon läpi lääkeainetta vapauttavia lääkemuotoja kuvataan US-patenteissa no:t 3 742 951, 3 797 494, 3 996 934 ja 4 031 894. Näissä muodoissa on tavallisesti tukikalvo, joka määrittää yhden sen pinnoista, vaikuttavan aineen läpäisevä liimakerros, joka määrittää toisen pinnoista, ja vähintään yksi säiliö, joka sisältää vaikuttavan aineosan pintojen välissä. Vaihtoehtoisesti vaikuttava aine voi olla mikrokapseleiden sisällä, jotka mikrokapselit jakautuvat kaikkialle läpäisevään liimakerrokseen. Kussakin tapauksessa vaikuttava aineosa vapautuu tasaisesti säiliöstä tai mikrokapseleista kalvon kautta vaikuttavan aineen läpäisevään liimaan, joka on yhteydessä saajan ihoon tai limakalvoon. Jos vaikuttava aine imeytyy ihon läpi, potilas saa säädellyn ja ennalta määrätyn vir-

tauksen vaikuttavaa ainetta. Mikrokapseleiden tapauksessa kapselointiaine voi myös toimia kalvona.

Toisessa muodossa, joka on tarkoitettu ihon läpi taphtuvaan antoon, esillä olevan keksinnön mukaiset yhdisteet, farmaseuttisesti vaikuttava yhdiste on matriksissa, josta se vapautuu halutulla vähittäisellä, vakiolla ja säädellyllä nopeudella. Matriksi läpäisee vapautuneen yhdisteen diffuusion tai mikrohuokoisen virtauksen kautta. Vapautuminen on nopeutta säätelevää. Tällainen systeemi, jossa ei tarvita lainkaan kalvoa, kuvataan US-patentissa nro 3 921 636. Ainakin kahdentyyppinen vapautuminen on mahdollista näissä systeemeissä. Vapautumista diffuusiolla esiintyy, kun matriksi ei ole huokoista. Farmaseuttisesti vaikuttava yhdiste liukenee ja diffundoituu itse matriksin läpi. Mikrohuokoisella virtauksella tapahtuvaa vapautumista ilmenee, kun farmaseuttisesti vaikuttava yhdiste siirtyy nestefaasin kautta matriksin huokosiin.

Esillä olevan keksinnön yhdisteet voidaan liittää aerosolivalmisteeseen farmasian teknologiassa asiantuntijoiden yleisesti hyvin tuntemilla keinoilla. Aerosolivalmiste voidaan valmistaa käytettäväksi paikallisena aerosolina tai se voidaan valmistaa inhalaatiota varten. Aerosolivalmiste voi olla liuoksen tai suspension muodossa, ja se voi sisältää muita aineosia, kuten liuottimia, ponneaineita ja/tai dispergoivia aineita. Tyypillisiä esimerkkejä aerosolivalmisteista esitetään kirjassa Remington's Pharmaceutical Sciences, 18. painos, Mack Publishing Company, Easton Pennsylvania, ss. 1694 - 1712 (1990), joka liitetään tähän viitteellä.

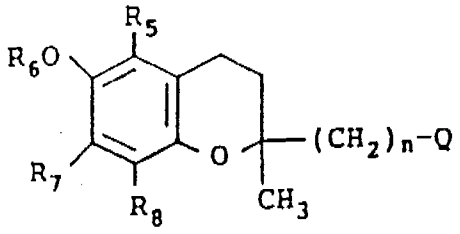
Luonnollisesti, kuten on totta monissa tapauksissa, joissa tietyillä kemiallisten yhdisteiden luokilla on todettu olevan hyviä terapeuttisia loppukäyttösovelluksia, tietyt yleiset alaryhmät ja tietyt erityiset yhdisteet ovat edullisia. Tässä tapauksessa edullisia kaavan I mukaisia yhdisteitä ovat sellaiset, joissa R_5, ja R_7 ja R_8

ovat C_{1-6}-alkyyli, ja edullisemmin metyyli; jossa R_6 on H, formyyli, metyyli, karbonyyli, t-butyylikarbonyyli, etyylikarbonyyli, propyylikarbonyyli, pentyylikarbonyyli; jossa n on 2 (kuvaten etyleeniosaa) ja substituentit, jotka ovat kiinnittyneet rikkiatomiin, ovat metyyli tai etyyli.

Luonnollisesti on ilmeistä, että 2-aseman metyyliosa voidaan poistaa tai korvata toisella C_{1-6}-alkyylillä (esim. 2-aseman metyyli voidaan korvata H:lla, etyylillä, propyylillä, butyylillä ja vastaavilla ryhmillä). Tällaiset näin muunnellut yhdisteet kuuluvat myös tämän keksinnön suojapiiriin, ja niitä voidaan valmistaa standardimenetelmillä, jotka ovat alan asiantuntijoiden tietämiä.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä, jolla valmistetaan terapeuttisesti käyttökelpoista yhdistettä, jonka kaava on:



I

sen (R)- ja (S)-enantiomeerejä ja raseemisia seoksia ja farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja, joissa

Q on $S^+R_1R_2 \cdot X^-$,

X on halogenidi tai $OS(O)_2R_3$, jossa R_3 on H, C_{1-6}-alkyyli, CF_3, aryyli tai aralkyyli,

R_1 on C_{1-6}-alkyyli, fenyyli, bentsyyli tai fenetyyli,

R_2 on C_{1-6}-alkyyli ja R_1 ja R_2 ovat C_{4-6}-alkyleeni, joka yhdessä sen rikkiatomin kanssa, johon ne kiinnittyvät, muodostaa 5-, 6- tai 7-atomisen renkaan,

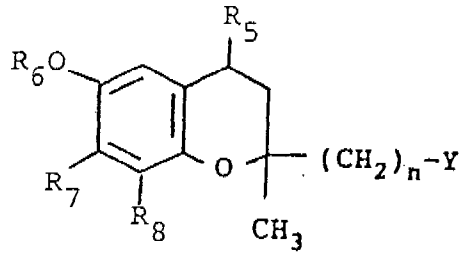
R_5 on H tai C_{1-6}-alkyyli,

R_6 on H tai -C(O)R, jossa R on H tai C_{1-9}-alkyyli,

R_7 on H tai C_{1-6}-alkyyli,

R_8 on H tai C_{1-6}-alkyyli ja n on kokonaisluku 1 - 6,

t u n n e t t u siitä, että yhdiste:



(12)

jossa Y on Br tai S-R_1, jolloin R_1, R_5, R_6, R_7 ja R_8 ovat

edellä määriteltyjä,

(a) kun Y on Br, saatetaan reagoimaan disulfidin, R_1SR_2:n, joka on kuten aikaisemmin määritettiin, kanssa paineessa, lämpötilassa, joka on noin 90 - 150 °C, valinnaisesti sopivan liuottimen läsnä ollessa; tai

(b) kun Y on S-R_1, saatetaan reagoimaan ylimäärän kanssa $R_2OS(O_2)R_3$:a, joka on kuten aikaisemmin määritettiin, palautusjäähdytyslämpötilassa; tai

(c) kun Y on S-R_1, saatetaan reagoimaan R_2-halogenidin kanssa, valinnaisesti hopeatetrafluoriboraatin, jota on ylimäärin, läsnä ollessa, ja tämän jälkeen poistamalla hopeahalogenidi, tai perkloorin hapon läsnä ollessa, ja suojaten 6-OH-ryhmä etukäteen, ja tämän jälkeen poistamalla suojaryhmä; ja

(d) valinnaisesti muodostamalla farmaseuttisesti vaikuttavia suoloja; ja

(e) valinnaisesti hajottamalla raseemiset seokset niiden yksittäisiksi R- tai S-enantiomeereiksi.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että R_1 ja R_2 ovat kumpikin C_{1-6}-alkyylejä, edullisesti metyylejä.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että R_5 on C_{1-6}-alkyyli, edullisesti metyyli.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että R_6 on vety.

5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että R_7 on C_{1-6}-alkyyli, edullisesti metyyli.

6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että R_8 on C_{1-6}-alkyyli, edullisesti metyyli.

7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että X on $OS(O)_2R_3$ ja jossa R_3 on aryyliosa.

8. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,

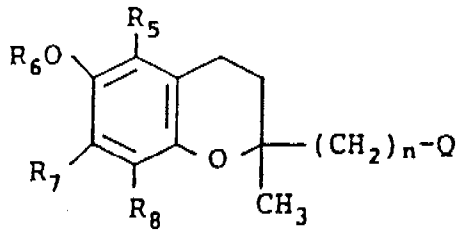
t u n n e t t u siitä, että yhdiste on [2-(3,4-dihydro-6-hydroksi-2,5,7,8-tetrametyyli-2H-1-bentsopyran-2-yyli)e-tyyli]dimetyylisulfonium-4-bentseenisulfonaatti.

9. Patenttivaatimuksen 8 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että yhdiste on R-enantiomeerimuodossa.

10. Patenttivaatimuksen 8 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että yhdiste on S-enantiomeerimuodossa.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av en terapeutiskt användbar förening med formeln:



I

(R)- och (S)-enantiomerer och rascemiska blandningar och farmaceutiskt godtagbara salter därav, vari

Q är $S^+R_1R_2$ X^-,

X är en halogenid eller $OS(O)_2R_3$, där R_3 är H, C_{1-6}-alkyl, CF_3, aryl eller aralkyl,

R_1 är C_{1-6}-alkyl, fenyl, bensyl eller fenetyl,

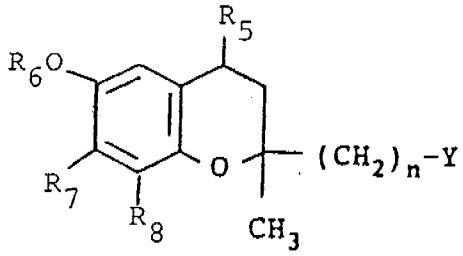
R_2 är C_{1-6}-alkyl, och R_1 och R_2 är C_{4-6}-alkylen, som tillsammans med den svavelatom på vilken de fastnar bildar en 5-, 6- eller 7-atomär ring,

R_5 är H eller C_{1-6}-alkyl,

R_6 är H eller -C(O)R, där R är H eller C_{1-9}-alkyl,

R_7 är H eller C_{1-6}-alkyl,

R_8 är H eller C_{1-6}-alkyl och n är ett heltal 1-6, kännetecknat av att föreningen:



(12)

vari Y är Br eller S-R_1, varvid R_1, R_5, R_6, R_7 och R_8 är ovan definierade,

(a) när Y är Br, fås att reagera med en disulfid, R_1SR_2, vilken är såsom tidigare definierats, under tryck vid en temperatur på cirka 90-150 °C, valbart i närvaro av ett lämpligt lösningsmedel; eller

(b) när Y är S-R_1, fås att reagera med ett överskott av $R_2OS(O_2)R_3$, som är såsom tidigare definierats, vid en returavkylningstemperatur; eller

(c) när Y är S-R_1, fås att reagera med en R_2-halogenid, valbart i närvaro av silvertetrafluorborat, av vilket finns ett överskott, och genom att härefter avlägsna silverhalogeniden, eller i närvaro av perklorsyra, och genom att på förhand skydda 6-OH-gruppen, och genom att härefter avlägsna skyddsgruppen; och

(d) genom att valbart bilda farmaceutiskt aktiva salter; och

(e) genom att valbart sönderdela de rascemiska blandningarna i deras enskilda R- eller S-enantiomerer.

2. Förfarande enligt patentkrav 1, kännetecknat av att R_1 och R_2 vardera är C_{1-6}-alkyler, företrädesvis metyler.

3. Förfarande enligt patentkrav 1, kännetecknat av att R_5 är C_{1-6}-alkyl, företrädesvis metyl.

4. Förfarande enligt patentkrav 1, kännetecknat av att R_6 är väte.

5. Förfarande enligt patentkrav 1, kännetecknat av att R_7 är C_{1-6}-alkyl, företrädesvis metyl.

6. Förfarande enligt patentkrav 1, kännetecknat av att R_8 är C_{1-6}-alkyl, företrädesvis metyl.

7. Förfarande enligt patentkrav 1, kännetecknat av att X är $OS(O)_2R_3$ och där R_3 är en aryldel.

8. Förfarande enligt patentkrav 1, kännetecknat av att föreningen är [2-(3,4-dihydro-6-hydroxi-2,5,7,8-tetrametyl-2H-1-bensopyran-2-yl)-etyl]dimetylsulfonium-4-bensensulfonat.

9. Förfarande enligt patentkrav 8, k ä n n e t e c k n a t av att föreningen har formen av en R-enantiomer.

10. Förfarande enligt patentkrav 8, k ä n n e t e c k n a t av att föreningen har formen av en S-enantiomer.