



[B] (11) **KUULUTUSJULKAISU** 78082
UTLÄGGNINGSSKRIFT

C Patenti myönnetty
(45) Patent julkaistu 18.08.1989

(51) Kv.lk./Int.Cl.⁴ C 07 D 309/30

SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(21) Patentihakemus - Patentansökning	810287
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	02.02.81
(23) Alkuperäisyys - Giltighetsdag	02.02.81
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	05.08.81
(44) Nähtävääksipanon ja kuul.julkaisun pvm. - Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	28.02.89
(86) Kv. hakemus - Int. ansökan	
(32)(33)(31) Pyydetty etuoikeus - Begärd prioritet	04.02.80
	04.02.80, 05.08.80, 05.08.80 USA(US) 118049 118051, 175232, 175460 Toteennäytetty-Styrkt

(71) Merck & Co., Inc., 126 E. Lincoln Avenue, Rahway, New Jersey, USA(US)

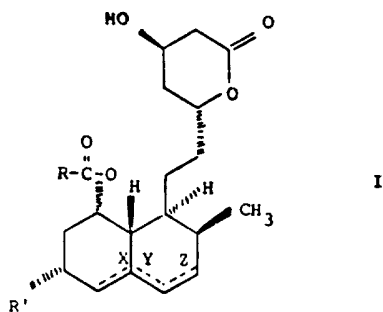
(72) Alvin K. Willard, Wilmington, Delaware, Robert L. Smith, Lansdale, Pennsylvania, William F. Hoffman, Lansdale, Pennsylvania, USA(US)

(74) Oy Kolster Ab

(54) Menetelmä terapeutisesti aktiivisten 6(R)-/2-(8-asyylioksi-2,6-dimetyylipolyhydronaftyli-1)-etyyli/-4(R)-hydroksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyranonien ja 7-/8-asyylioksi-2,6-dimetyylipolyhydronaftyli-1/-3(R),5(R)-dihydroksiheptaanihappojen valmistamiseksi - Förfarande för framställning av terapeutiskt aktiva 6(R)-/2-(8-acyloxi-2,6-dimetylpolyhydronaftyli-1)-etyl/-4(R)-hydroxi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyranoner och 7-/8-acyloxi-2,6-dimetylpolyhydronaftyli-1/-3(R),5(R)-dihydroxiheptansyror

(57) **Tiivistelmä**

6(R)-/2-(8'-asyylioksi-2'-metyyli-6'-metyyli (tai vety)-polyhydronaftyli-1')-etyyli/-4(R)-hydroksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyranoneja, joilla on kaava:

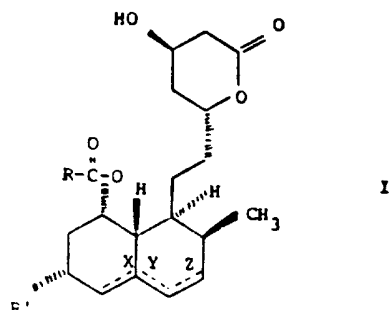


valmistetaan asyloimalla vastaavia 8'-hydroksiyhdisteitä. Nämä yhdisteet ovat vahvasti vaikuttavia kolesterolin biosynteesin ehkäisijöitä.

8'-hydroksiyhdisteitä valmistetaan hydrolysoimalla vahvalla emäksellä korotetussa lämpötilassa vastaavia, luonnossa esiintyviä 8'-(2(S)-metyyli-2-butyryyloksi)-yhdisteitä.

(57) Sammandrag

6(R)-/2-(8'-acyloxi-2'-metyl-6'-metyl(eller väte)-poly-
hydronaftyyl-1')-etyl/-4(R)-hydroxi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-
pyran-2-oner med formeln



framställs genom acylering av motsvarande 8'-hydroxiföre-
ningar. Produkterna är starka inhibitorer av biosyntes
av kolesterol.

8'-hydroxiföreningarna framställs genom hydrolys
av motsvarande, i naturen förekommande 8'-2(S)-metylbuty-
ryloxi)-föreningar med en stark bas vid förhöjd tempera-
tur för avlägsnande av acylgruppen.

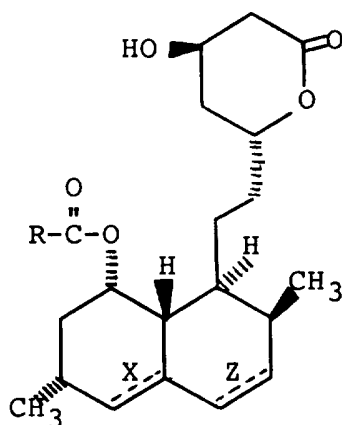
Menetelmä terapeuttisesti aktiivisten 6(R)-[2-(8-asyylioksi-2,6-dimetyylipolyhydronaftyyli-1)-etyyli]-4(R)-hydroksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyranonien ja 7-[8-asyylioksi-2,6-dimetyylipolyhydronaftyyli-1]-3(R),5(R)-dihydroksiheptaani-

Tämä keksintö koskee menetelmää uusien 6(R)-[2-(8'-asyylioksi-2',6'-dimetyylipolyhydronaftyyli-1')-etyyli]-4(R)-hydroksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onien ja näiden pyranonien hydroksihappomuodon, hydroksihappojen farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen ja hydroksihappojen alempi-

alkyyli- ja 2,3-dihydroksipropyyliesterien valmistamiseksi. Keksinnön mukaisella menetelmällä valmistetaan lähemmin määritelynä yhdisteitä, joilla on kaava I

15

20



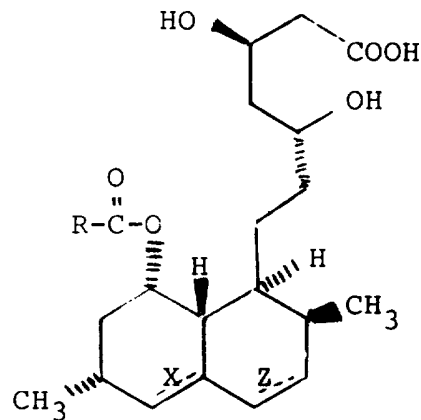
I

25

jossa R on haarautumaton tai haarautunut C₁₋₉-alkyyli paitsi (S)-2-butylyli, syklopropyyli, adamantyyli, C₄₋₆-alkenylyli, CF₃-substituoitu propyyli, p-fluorifenyyli tai bentsyyli; ja katkoviivat X ja Z tarkoittavat mahdollisia kaksois-

30

sidoksia, jotka milloin niitä esiintyy ovat joko kohdissa X ja Z tai pelkästään kohdassa X; sekä kaavan



II

5

10 mukaisia vapaita hydroksihappoja, jotka on saatu avaamalla
kaavan I mukaisen yhdisteen laktonirengas.

On tunnettua, että tietyt mevalonaattijohdannaiset
ehkäisevät kolesterolin biosynteesiä (F.M. Singer et al.,
Proc.Soc.Exper.Biol.Med., 102, 370 (1959) ja F.H. Hulcher,
15 Arch.Biochem.Biophys., 146, 422 (1971)). Näiden yhdistei-
den aktiivisuus ei kuitenkaan aina ole osoittautunut käytän-
nön tarkoituksiin tyydyttäväksi.

Äskettäin Endo et al. (US-patentit 4 049 495, 4 137 322
ja 3 983 140) ovat ilmoittaneet keksineensä fermentointi-
20 menetelmällä tuotettuja, kolesterolin biosynteesiä sangen
aktiivisesti ehkäiseviä yhdisteitä. Näiden luonnontuotei-
siin kuuluvien yhdisteiden aktiivisin jäsen, jota nimitet-
tään kompaktiiniksi (kaava IIIa taulukossa I, R'=H), on
Brown'in et al. (J. Chem. Soc. Perkin I, 1165 (1976)) mu-
25 kaan rakenteeltaan kompleksinen mevalonolaktoni.

Aivan viime aikoina Monaghan et al. (US-patentti
4 231 938) ovat ilmoittaneet keksineensä inhibiittorin
(kaava IIIId taulukossa I, R'=CH₃) jota nimitetään MK-803:ksi
ja joka eristettiin täysin erilaisesta fermentoinnista.
30 Albers-Schonberg et al. (USSN 154 157, jätetty 1980-05-28)
ovat ilmoittaneet eristäneensä yhdisteen dihydro-MK-803
(kaava IIIa taulukossa I, R'=CH₃) samasta fermentointi-
liemestä kuin MK-803 ja todenneensa sen yhtä aktiiviseksi
kuin MK-803. Patchett et al. (USSN 118 050, jätetty
35 1980-02-04) ilmoittavat valmistaneensa katalyttisesti
hydraamalla MK-803:sta erilaisia MK-803:n dihydro- ja

tetrahydrojohdannaisia (kaavat III_{b,c} ja e taulukossa I, R'=CH₃).

JP-hakemusjulkaisussa 55009-024 on kuvattu kompaktiin tetrahydroanalogi (kaava III_e, R'=-H).

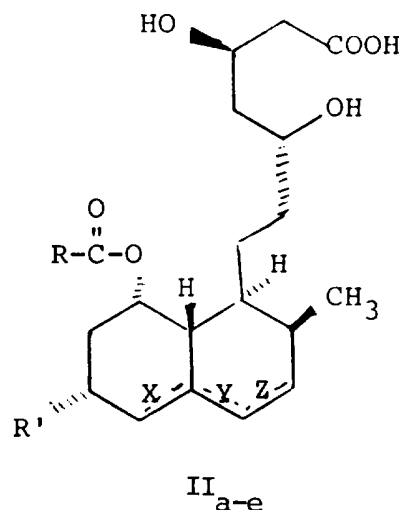
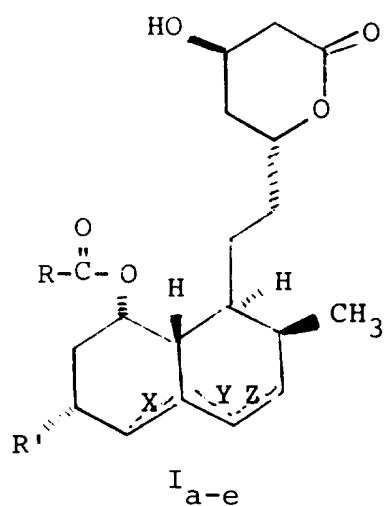
5 Aivan viime aikoina Gullo et al. (US-patenttihakemus sarja-no. 207 508, jätetty 1980-11-17) ovat eristäneet kompaktiin fermentointiliemestä kompaktiin dihydroanalogin (kaava III_d, R=H).

10

Taulukko I

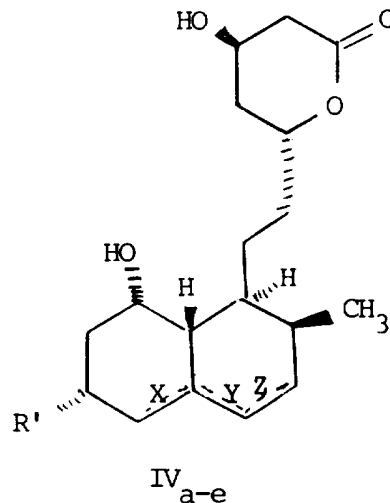
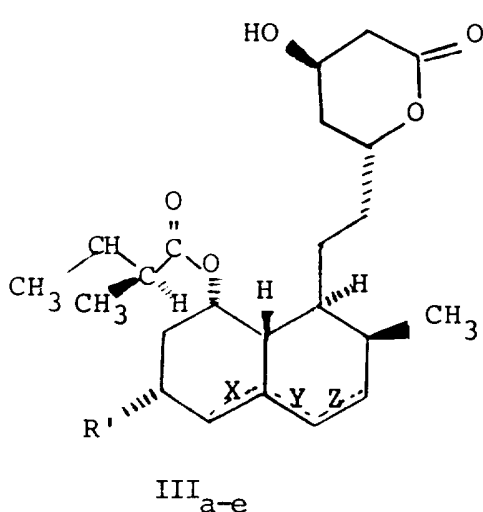
Keksinnön mukaisella menetelmällä valmistettujen yhdisteiden ja menetelmässä käytettävien lähtöaineiden sekä edellä mainittujen tunnettujen mevalonaattijohdannaisten stereokemialliset rakenteet

15



25

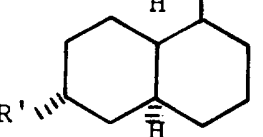
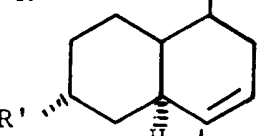
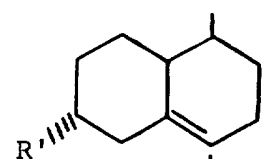
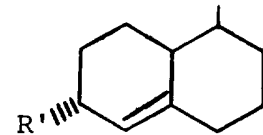
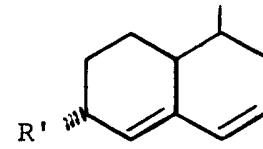
30



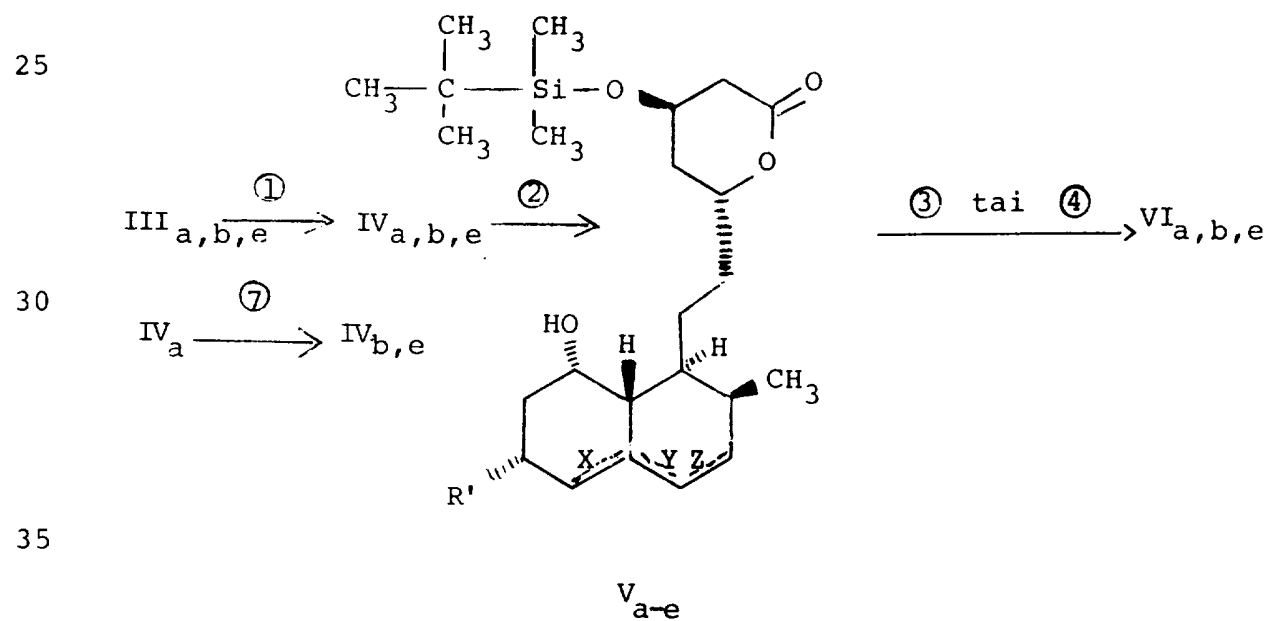
R' = H tai CH₃

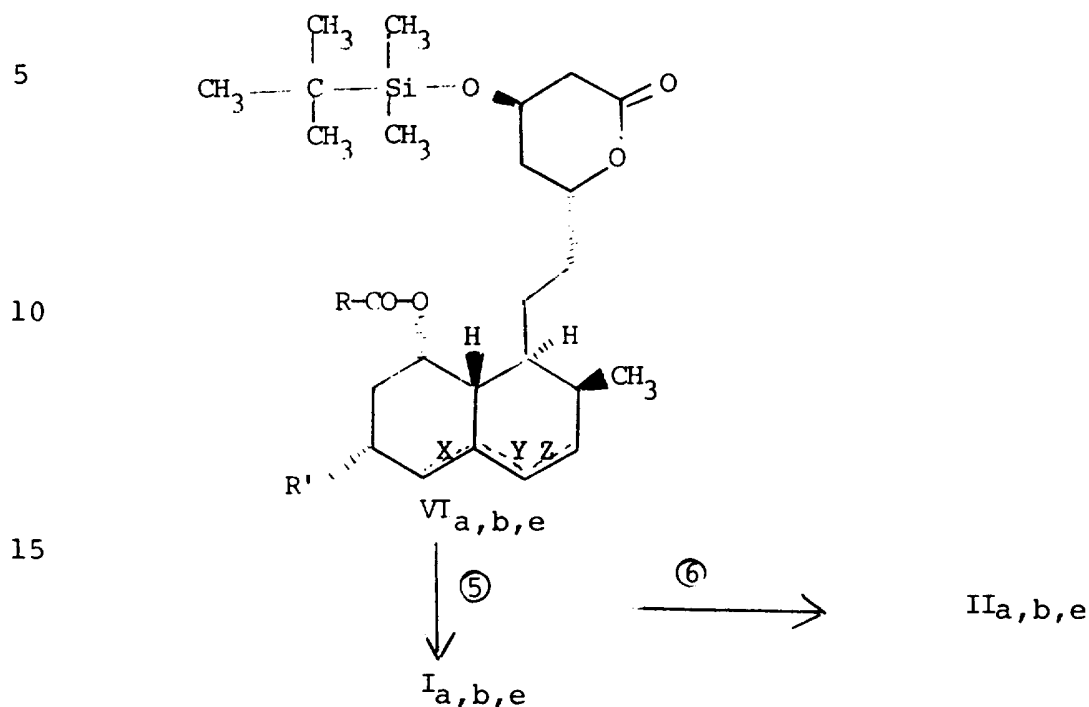
Hydronaftyylisarjojen stereokemia

Sarja	Kaksoissidokset	Rakenne
5	a	X ja Z
	b	X
10	c	Y
	d	Z
15	e	ei ole



Keksinnön mukainen menetelmä on kuvattu reaktio-
kaaviossa A

Reaktiokaavio A

Reaktiokaavio A (jatkoa)Määritelmät:

20 X, Y, Z, R ja R' merkitsevät taulukossa I sarjoille a-e määriteltä.

Reaktiot:

- 1) LiOH, kuumennus, hapon lisäys ja laktonisointi.
- 2) Tert.-butyyliidimetyylikloorisilaani ja imidatsoli dimetyyliformamidissa, huoneen lämpötila, inertti suojakaasu.
- 25 3) Käsittely RCOCl:llä ja 4-dimetyyliaminopyridiinillä pyridiiniliuoksessa, edullisesti inerttikaasussa.
- 4) Käsittely RCOOH:lla ja N,N'-disykloheksyylikarbo-di-imidillä ja 4-pyrrolidinopyridiinillä dikloorimetaanis-
30 sa, edullisesti inerttikaasussa.
- 5) Kolme ekvivalenttia tetrabutyyliammoniumfluoridia ja 4 ekvivalenttia etikkahappoa yhtä esterin ekvivalenttia kohti THF:ssä, edullisesti inerttikaasussa.
- 6) Alkalin vesiliuos, sitten varovainen laimean
35 hapon lisäys happameen reaktioon.
- 7) Katso III_{b,e}:n synteessin reaktiokaavion yhteydessä esitettyä "Reaktiot ja reagenssit".

Keksinnön mukaisessa menetelmässä lähtöaineina käytettäviä kaavojen III_a ja III_d ($R'=CH_3$) mukaisia yhdisteitä saadaan fermentoimalla kantaa *Aspergillus terreus*, ATCC no. 20542, jolle Merck et Co., Inc. (Rahway, New Jersey) viljelmäkokoelmassa on annettu nimitys MF-4845.

Yhdisteiden III_a ($R'=CH_3$) ja hydrojohdannaisten III_{b-e} α -metyyllibutyryyliryhmä voidaan poistaa, jolloin saadaan 6(R)- $\sqrt{2}$ -(8-hydroksi-2,6-dimetyylipolyhydraonafyyli-1)etyyli-4(R)-hydroksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onien ryhmään kuuluvia yhdisteitä, joilla itsellään on hypokolesteroleemista vaikutusta ja jotka ovat erityisen käyttökelpoisia välituotteita valmistettaessa uusia estereitä, joiden vaikutus tässä suhteessa on vieläkin voimakkaampi.

Näitä uusia alkoholeja valmistetaan kuumentamalla estereitä $III_{a,b,e}$ ($R'=CH_3$) alkalimetallihydroksidin kanssa, kuten litiumhydroksidin, kaliumhydroksidin tai natriumhydroksidin kanssa proottisessa liuottimessa, kuten vedessä tai alkoholissa. Edullisesti käytetään litiumhydroksidia vedessä, ja reaktio suoritetaan kuumentamalla palautusjäähdyttäen 50-72 tuntia tai korotetussa paineessa korkeammassa lämpötilassa (120-180°C) lyhyemmän ajan (8-24 tuntia).

Pyranonirengas avautuu helposti, mutta sivuketjun asyyliiryhmään ei voida helposti vaikuttaa. Kuumennusta on jatkettava kauan ja/tai on käytettävä korotettua painetta. On myös edullista käyttää inerttiä suojakaasua. On erittäin yllättävää, että molekyylit, joissa on niin monta herkkää funktiokeskusta, voivat kestää niitä erittäin rankkoja olosuhteita, jotka ovat tarpeen vahvasti estyneen α -metyyllibutyryyliesterin poistamiseksi. On erittäin odottamatonta, että reaktiossa saadaan hyviä saantoja.

Tuotteet eristetään tekemällä reaktioseos happameksi ja uuttamalla orgaanisella liuottimella, jolloin saadaan yhdisteiden $IV_{a,b,e}$ trihydroksihappoja. Trihydroksihapot voidaan jälleen laktonisoida kuumentamalla hapon liuosta so-

pivassa orgaanisessa liuottimessa, kuten tolueenissa tai bentseenissä, laitteistossa, jossa muodostunut vesi voidaan jatkuvasti erottaa.

Toinen synteesitie yhdisteiden $IV_{b,e}$ saamiseksi käsittää edellä kuvatun III_a :n hydrolyysin yhdisteeksi IV_a ja IV_a :n hydrauksen olosuhteissa, jotka kuvataan jäljempänä yhdisteiden $III_{b,e}$ valmistuksen yhteydessä, jolloin saadaan reaktio-olosuhteista riippuen IV_b tai IV_e .

Välituotteina käytetyt 8'- α -hydroksiyhdisteet $IV_{a,b,e}$ ($R'=CH_3$), jotka Willard on kuvannut (US-patenttihakemussarja no. 118 049), valmistetaan erilaisista 8'-estereistä, joita ovat kuvanneet Monaghan et al., (III_a , $R'=CH_3$), Albers-Schonberg et al., (III_d , $R'=CH_3$) ja Patchett et al. ($III_{b,e}$, $R'=CH_3$), kuumentamalla niitä pitkiä aikoja litiumhydroksidiliuoksen kanssa. Pyranonirengas avautuu helposti, mutta sivuketjuna olevaa asyyliiryhmää ei saada helposti poistetuksi. On käytettävä pitkää kuumennusaikaa ja/tai painetta. On myös edullista käyttää inerttiä suojakaasua.

8'-hydroksiyhdisteet eristetään tekemällä reaktioseos happameksi ja uuttamalla orgaanisella liuottimella, jolloin saadaan hydroksihappoja, joiden pyranonirengas on vielä auki. Nämä hydroksihapot laktonisoidaan jälleen kuumentamalla hapon liuosta sopivassa orgaanisessa liuottimessa, kuten bentseenissä tai tolueenissa, laitteistossa, jossa muodostunut vesi voidaan jatkuvasti poistaa.

Laktonimuodossa nämä alkoholit ovat kaavan $IV_{a,b,e}$ mukaisia yhdisteitä (taulukko I).

Keksinnön mukaisessa menetelmässä alkoholin $IV_{a,b,e}$ pyranonirenkaan 4-hydroksyyliiryhmä suojataan ensin tert.-butyylidimetyylisilyyliiryhmällä saattamalla se reagoimaan tert.-butyylidimetyylikloorisilaanin kanssa inerttikaasussa huoneen lämpötilassa happoa sitovan aineen läsnäollessa, kuten imidatsolin läsnäollessa, jolloin saadaan suojatut alkoholit $V_{a,b,e}$. Tämän jälkeen polyhydronaftyylirenkaassa oleva 8-hydroksyyli asyloidaan joko käsittelemällä yhdis-

teitä $V_{a,b,e}$ haluttua asyyliiryhmää vastaavalla happokloridilla pyridiinissä käyttäen katalysaattorina 4-dimetyyliaminopyridiiniä tai käsittelemällä 8'-polyhydronaftolia haluttua asyyliiryhmää vastaavalla vapaalla hapolla ja karbodiimidillä, kuten N,N'-disykloheksyylikarbodiimidillä dikloorimetaanissa käyttäen katalysaattorina 4-pyrrolidinopyridiiniä. Näissä reaktioissa saadaan suojatut esterit $VI_{a,b,e}$. Pyranonirenkaan 4-hydroksyyliiryhmän silyylisuojarahmää poistetaan sitten käyttäen 3 ekvivalenttia tetrabutyyliammoniumfluoridia ja 4 ekvivalenttia etikkahappoa yhtä esterien $VI_{a,b,e}$ ekvivalenttia kohti, jolloin saadaan halutut yhdisteet $I_{a,b,e}$. Tässä viimeksi mainitussa reaktiossa reagenssien suhteet ovat kriittiset saannon ja tuotteiden puhtauden kannalta.

Yhdisteet $I_{a,b,e}$ voidaan hydrolysoida emäksellä (kuten NaOH:lla) yhdisteiden $II_{a,b,e}$ suolojen (kuten natrium-suolojen) saamiseksi. Käytettäessä muita farmaseuttisesti hyväksyttäviä emäksiä saadaan vastaavien kationien suoloja. Lisäämällä suoloihin varovasti happoa saadaan vastaavat hydroksihapot $II_{a,b,e}$, jotka happamassa pH:ssa muuttuvat yhdisteiksi $I_{a,b,e}$.

Keksinnön mukaisesti valmistettavia farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja ovat esimerkiksi seuraavien kationien kanssa muodostetut suolat: natrium, kalium, alumiini, kalsium, litium, magnesium, sinkki ja tetrametyyliammonium, sekä seuraavien amiinien kanssa muodostetut suolat: ammoniakki, etyleenidiamiini, N-metyyliyglukamiini, lysini, arginiini, ornitiini, koliini, N,N'-dibentsyylietyleenidiamiini, klooriprokaiini, dietanoliamiini, prokaiini, N-bentsyylifenyliamiini, 1-p-klooribentsyyli-2-pyrrolidin-1'-yylimetyylibentsimidatsoli, dietyyliamiini, piperatsiini ja tris(hydroksimetyyli)aminometaani.

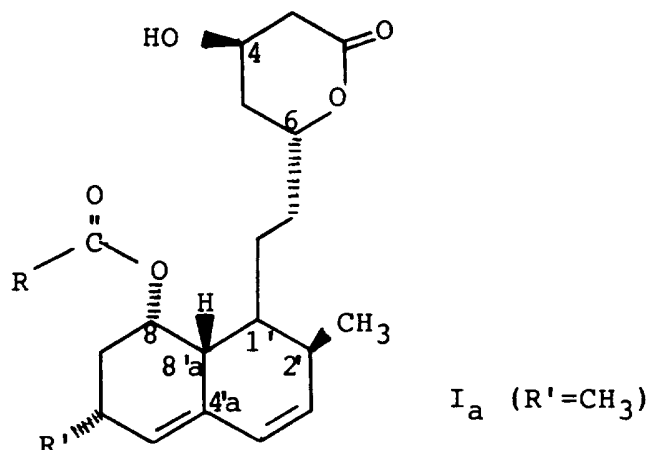
Keksinnön mukaisella menetelmällä valmistetut uudet kaavan I mukaiset yhdisteet ovat in vivo kolesterolisyn-

teesin inhibiittoreita. Näiden yhdisteiden absoluuttinen konfiguraatio määritettiin Röntgensäde-diffraktion perusteella. Taulukkoon I on koottu nämä rakennekaavat sekä yhdisteiden stereokemiallinen rakenne. Yhdisteistä sekä eri polyhydronaftaleenisarjojen yhdisteistä käytetään koko hakemuksessa samoja viitenumeroita. Kaikilla keksinnön mukaisesti valmistetuilla estereillä $I_{a,b,e}$ on 7 tai 8 kiraliiteettikeskusta. Näiden asymmetriakeskusten absoluuttinen konfiguraatio on kuvattu taulukossa I. Esterin I_a ($R'=CH_3$) konfiguraatio on Cahn'in, Ingold'in, Prelog'n absoluuttisia konfiguraatioita koskevan määritelmän mukaisesti seuraava 4(R), 6(R), 1'(S), 2'(S), 6'(R), 8'(S) ja 8'a(R) (R.S. Cahn. C. Ingold ja V. Prelog, Angew. Chem. Int. Ed., 5, 385 (1966)).

15

20

25



Kuten kaavoissa $I_{a,b,e}$ on osoitettu, kaikilla näillä yhdisteillä on ryhmien avaruudellinen orientoituminen kussakin kiraliiteettihiiliatomissa sama, joten ne kuuluvat samaan stereokemialliseen sarjaan. R-S nimitys ei mahdollisesti ole identtinen esterin I_a ($R'=CH_3$) vastaavan nimityksen kanssa johtuen tämän nimityksen määrittämisessä käytetyistä sarjasäännöistä. Estereissä I_e , joissa on ylimääräinen kiraalihiili, jota ei esiinny esterissä I_a ,

35

vetyatomi on kohdassa 4a' tason alapuolella (α -asennossa), kuten taulukossa I on kuvattu, jolloin rengasliittymä on trans.

5 Keksinnön mukaisella menetelmällä valmistetut 8'-
asyylioksiyhdisteet ovat käyttökelpoisia antihyperkoles-
teroleemisiä aineita, joita voidaan käyttää ihmisen veri-
suonien kovettumistaudin, rasvaverisyyden ja muidensen ta-
paisten tautien käsittelyyn. Yhdisteitä voidaan antaa
10 oraalisesti tai parenteraalisesti kapselina, tablettei-
na, injektiovalmisteina ym. Yleensä niitä annetaan edul-
lisimmin oraalisesti. Annokset voivat vaihdella riippuen
potilaan iästä, taudin vakavuudesta, potilaan kehonpai-
nosta ja muista olosuhteista. Päivittäinen annos aikui-
silla on noin 2-2000 mg (edullisesti 10-100 mg), joka
15 annetaan 3-4 osa-annoksena. Tarvittaessa voidaan käyt-
tää myös suurempia annoksia.

Näillä yhdisteillä on myös käyttökelpoista sie-
nienvastaista aktiviteettia. Niitä voidaan käyttää esi-
merkiksi sienikantoja *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*,
20 *Cladosporium* sp., *Covhliobolus miylabeanus* ja *Heminthos-*
proium cynodnotis vastaan. Tähän käyttötarkoitukseen ne
sekoitetaan sopivien formulointiaineiden, jauheiden emul-
gointiaineiden tai liuottimien kanssa, kuten vesipitoi-
sen etanolin kanssa, ja suihkutetaan tai pölytetään suo-
25 jeltaville kasveille.

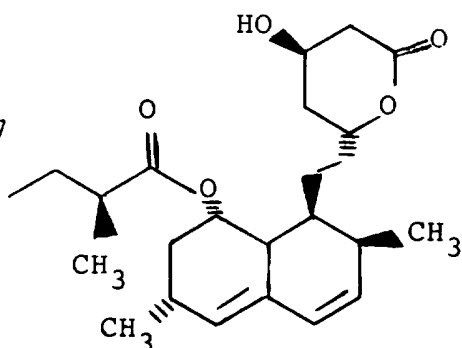
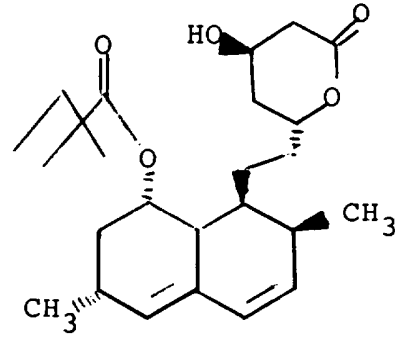
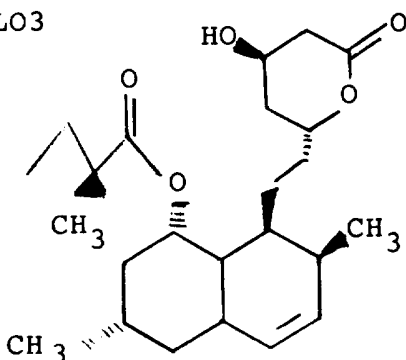
Keksinnön mukaisesti valmistettujen kaavan I mu-
kaisten yhdisteiden HMB-CoA-reduktaasi inhiboivaa tehoa
ilmaisevat IC_{50} -arvot määritettiin käyttäen kunkin in-
hibiittoriyhdisteen viittä pitoisuutta HMG-CoA-reduktaa-
30 sikokeessa, joka oli jonkin verran modifoituna julkai-
sussa Alberts, A. W. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA,
77 (1980), 3957-3961 kuvattu koe. Modifioidussa kokees-
sa entsyymiä inkuboitiin viisi minuuttia inhibiittorin
ja NADPH:n kanssa ennen reaktiota $[\text{C}^{14}]$ -HMG-CoA:n kans-
35 sa (1,25 μM , 5,9 $\mu\text{Ci}/\mu\text{mol}$). IC_{50} -arvot laskettiin pro-

sentuaalista inhibiitioista käyttäen HP-85 - tietokoneen "curve"-ohjelmaa. Seuraavassa taulukossa on esitetty IC_{50} -arvo luonnon mevalonaattijohdannaisille ja vastaville keksinnön mukaisesti valmistetuille yhdisteille, joissa α -metyyllibuturyyliryhmä on korvattu α -dimetyyllibuturyyliryhmällä. Kuten koetulokset osoittavat on keksinnön mukaisesti valmistettujen yhdisteiden teho tässä kokeessa jopa yli kaksinkertainen ko. luonnossa esiintyviin yhdisteisiin nähden.

10

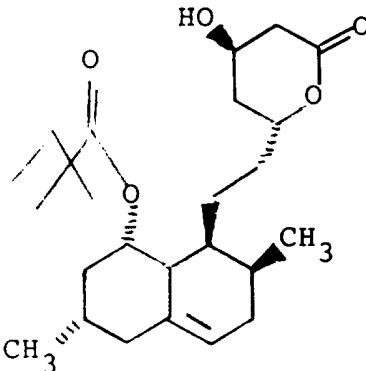
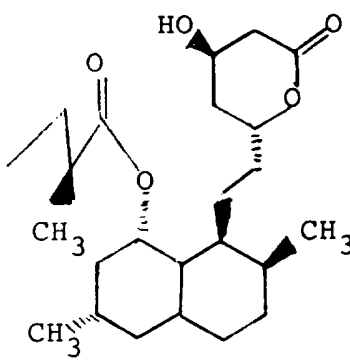
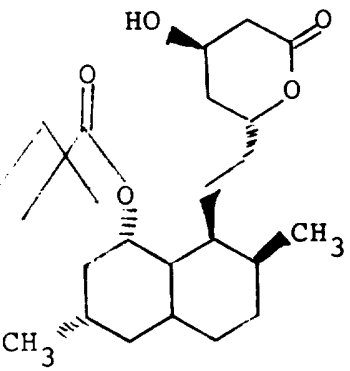
Taulukko

Yhdisteiden HMG-CoA-reduktaasia inhiboiva teho

<u>Yhdiste</u>	<u>IC_{50} (nM)</u>	<u>Suhteellinen teho</u>
15 L-154,803-00G07 	1,9	-
20 L-644,128-00U01 	0,89	2,1
25 L-154,855-00LO3 	2,0	

35

Taulukko (jatkoa)

<u>Yhdiste</u>	<u>IC₅₀ (nM)</u>	<u>Suhteellinen teho</u>
5 L-648,239-OOHO1 	1,4	1,4
10 L-154,856-00V02 	4,7	
15 L-647,318-00E01 	3,1	1,5
20 25 30 35		

Keksinnön mukaisessa menetelmässä lähtöaineina käytettävien yhdisteiden valmistusta ja itse menetelmää kuvataan seuraavassa yksityiskohtaisesti esimerkkien avulla.

Yhdisteiden II_a ja III_d (R'=CH₃) valmistus

5

A. Fermentointi

MF-4845:n lyofilisoitua viljelmää sisältävä putki avattiin aseptisesti ja sen sisältö suspendoitiin tulpatomaan 250 ml:an erlenmeyriin (ymppipullo), joka sisälsi noin 10 ml seuraavaa viljelyväliainetta:

10

Viljelyväliaine

Maissinliuotusliemi	5 g
Tomaattitahna	40 g
Kaurajauho	10 g
Glukoosi	10 g
Hivenaineliuos	10 g
Tislattu vesi	1000 ml

15

pH säädetty NaOH:lla 6,8:ksi

Hivenaineliuos

20

FeSO ₄ ·7H ₂ O	1000 mg
MnSO ₄ ·4H ₂ O	1000 mg
CuCl ₂ ·2H ₂ O	25 mg
CaCl ₂ ·2H ₂ O	100 mg
H ₃ BO ₃	56 mg
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	19 mg
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	200 mg
Tislattu deionoitu vesi	1000 ml

25

Ympäyksen jälkeen pulloa sisältöineen inkuboitiin ravistimessa (220 rpm, 5 cm rata) 24 tuntia 28°C:ssa.

30

10 ml:lla ympäyksen ensimmäisen vaiheen fermentoinnissa saatua kasvulientä ympättiin sitten tulpattomassa 2 litran erlenmeyerissä oleva 500 ml viljelyväliainetta. Myös sitä ravisteltiin 28°C:ssa 24 tuntia.

35

760 litran ruostumattomasta teräksestä valmistettuun fermentointiastiaan vietiin 485 litraa viljelyväliainetta, jolla oli seuraava koostumus:

Kereloosi	4,5 % (paino/til.)
Peptonoitu maito	2,5 % "
Hiiiva-autolysaatti	0,25 % "
Polyglykoli P2000	0,25 % "

5 pH säädettiin 7,0:ksi. Viljelyväliaine steriloidittiin
kuumentamalla 15 minuuttia 121°C:ssa. Toisen vaiheen ymp-
piviljelmää lisättiin 1 litra ja seosta inkuboitettiin 28°C:ssa
sekoittaen kierrosnopeudella 85 rpm ja johtaen ilmaa
0,14 m³/min 12 tunnin ajan ja sitten kierrosnopeudella
10 130 rpm ja johtaen ilmaa 0,28 m³/min 84 tunnin ajan.

B. Eristäminen

1. Utto

Kaksi 379 litran erää edellä saatua viljelylientä
yhdistettiin, tehtiin happameksi pH 4,1:een lisäämällä
15 sekoittaen 800 ml väkevää kloorivetyhappoa ja uutettiin
lisäämällä 284 litraa etyyliasettaattia ja sekoittamalla
edelleen 2 tuntia.

Lisättiin noin 11 kg piimaasuodatusapuainetta ja
koko liete pumpattiin 35 cm:n suodatinpuristimen lävitse.
20 Suodatinkakun lisäsuuttamiseen käytettiin vielä 284 l etyy-
liasettaattia, jolloin pumppausuuntaa suodatinpuristimen
lävitse muutettiin neljä kertaa. Pesuneste poistettiin
täysin puristimesta ja yhdistettiin ensimmäisen suodoksen
kanssa. Kaksifaasinen suodos sai erottua ja vesikerros
25 poistettiin. Etyyliasettaattikerros pestiin 38 litralla
deionoitua vettä, faasit saivat erottua ja etyyliasettaat-
tifaasi konsentroitiin noin 38 litraksi.

2. Laktonisointi

Edellä saatuun utteeseen lisättiin vielä kolmesta
30 378 litran fermentointierästä saadut etyyliasettaattiut-
teet ja etyyliasettaattia tyhjätilattiin, kunnes liuoksen
tilavuus oli noin 114 l. Lisättiin noin 190 l tolueenia,
ja liuos konsentroitiin tyhjätilassa 121 litraksi; tämä vai-
he toistettiin, ja sitten lisättiin tolueenia tilavuuden
35 saamiseksi 284 litraksi. Liuos kuumennettiin kiehuvaan
normaalipaineeseen ja sitä keitettiin palautusjäähdyttämällä
106°C:ssa 2 tuntia.

Saatu liuos konsentroidiin tyhjöissä pienempään tilavuuteen ja lopuksi suuressa kiertohaihduttimessa tyhjöissä öljymäiseksi jäännökseksi.

3. Kromatografointi silikageelillä

5 Edellä saadusta uutteesta poistettiin muut liuottimet lisäämällä 7,6 l metyleenikloridia ja haihduttamalla jälleen öljymäiseksi jäännökseksi.

Öljymäinen jäännös liuotettiin 19 litraan etyyliasettaatti-metyleenikloridiseosta (30/70, tilav./tilav.) ja liuokseen lietettiin 2,8 kg silikageeliä.

10 Liete täytettiin tasaisena kerroksena silikageelikoloniin (30,5 x 127 cm), joka oli pakattu käyttäen samaa liuotinseosta.

Eluonti suoritettiin etyyliasettaatti-metyleenikloridiseoksella (40/60, tilav./tilav.) nopeudella 800 ml/min. Esifraktiota koottiin 37,9 l ja sitten koottiin 15,1 litran fraktioita.

Fraktiot 6-10 konsentroidiin öljymäiseksi jäännökseksi, joka liuotettiin kuumaan etyyliasettaattia, liuosta käsiteltiin värinpoistohiilellä, hiili suodatettiin kuumana, suodos jäähdytettiin. Erottuneet yhdisteen III_a ($\text{R}'=\text{CH}_3$) kiteet suodatettiin ja emäliuos konsentroidiin öljyksi, joka edelleen kromatografoitiin. Puhtaan III_a -yhdisteen ($\text{R}'=\text{CH}_3$) sp. 170-171°C.

4. Uudelleenkromatografointi silikageelillä

25 2270 litran fermentointiliemierästä vastaavalla tavalla saadun emäliuoksen haihdutusjäännös yhdistettiin edellä saadun haihdutusjäännöksen kanssa liuottamalla metyleenikloridiin. Puolet tästä liuoksesta kromatografoitiin edelleen silikageelillä. Pienestä liuosmäärästä määritettiin kiinteiden aineiden kokonaispitoisuudeksi 325 g. Liuosta käsiteltiin 40 g:lla värinpoistohiiltä, hiili suodatettiin ja suodatuskakku pestiin metyleenikloridilla. Suodos ja pesuliemet konsentroidiin tyhjöissä.

35 Saatu öljymäinen jäännös liuotettiin 800 ml:aan etyyliasettaattimetyleenikloridiseosta (30/70, tilav./tilav.) ja

liuokseen lietetttiin 225 g silikageeliä. Liete täytettiin saman liuotinseoksen kanssa pakatun silikageelikerroksen päälle 14 x 36 cm:n kolonniin. Eluointi suoritettiin etyyliasettaatti-metyleenikloridiseoksella (46/60, tilav./tilav.).

5 3 litran esifraktio pantiin syrjään, ja sitten koottiin 800 ml:n fraktioita.

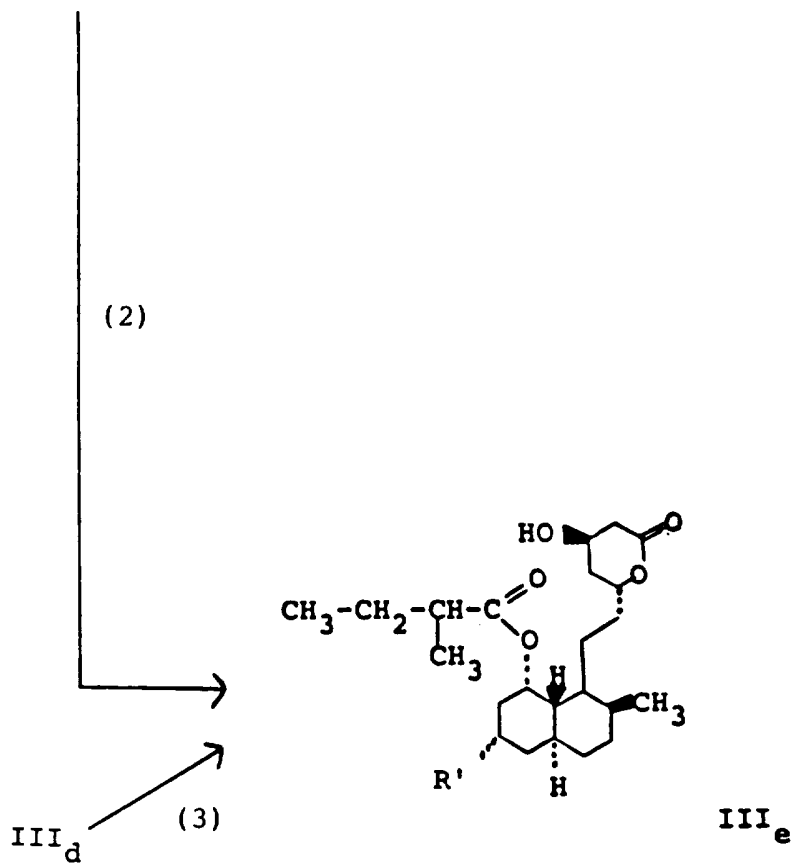
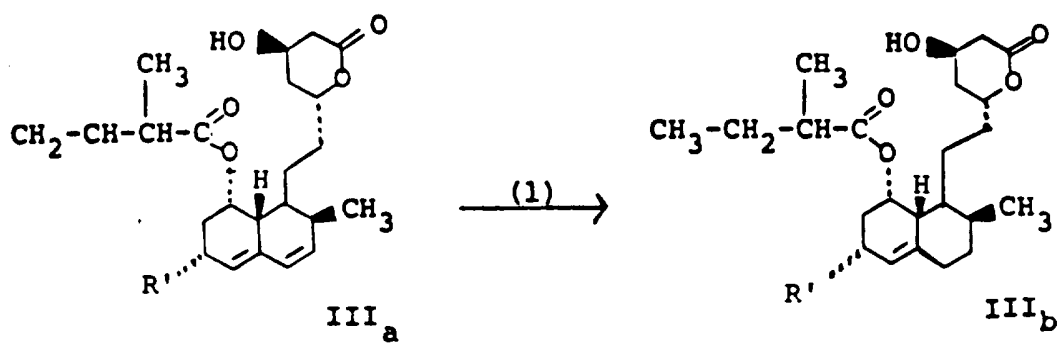
5. Kromatografointi käänteisfaasipakkauksella

Edellä saadun kromatografoinnin fraktiosta 12 kon-
sentroitiin 40 ml öljymäiseksi jäännökseksi (500 mg) ja
10 öljy liuotettiin 5 ml:aan asetonitriiliä. Asetonitriili-
liuos vietiin ruostumattomasta teräksestä valmistettuun
kromatografiakolonniin (183 cm pitkä, ulkoläpimitta
1,6 cm), joka oli täytetty preparatiivisella käänteisfaasi-
nestekromatografiatäytteellä "Bondapak C18/PorasilB" (Waters
15 Associates, Inc., Milford, Mass. 01757). Kolonni eluointiin
seoksella, joka sisälsi tilavuus-%:eina 55 % asetonitrii-
liä ja 45 % 0,05-m ammoniumfosfaattia (pH 3). Taitekerto-
men perusteella todettiin eluoidun nesteen välillä 1360-
1700 ml sisältävän haluttua tuotetta, ja nämä fraktiot yh-
20 distettiin. Orgaaninen liuotin poistettiin tyhjössä ja jäl-
jelle jäänyt vesiliuos uutettiin etyyliasettaatilla. Etyyli-
asettaatti haihdutettiin tyhjössä ja jäännöksenä saatu 120 mg
yhdistettä kiteytettiin väkevästä asetonitriililiuoksesta,
jolloin saatiin kiteistä yhdistettä III_d (R'=CH₃), sp.
25 129-131°C.

Yhdisteiden III_{b,e} valmistus

Lähtöaineet III_b ja III_c (R'=CH₃) valmistettiin seu-
raavan reaktiokaavion mukaisesti preparatiivisilla menetel-
millä.

30 Yhdisteen III_e valmistus suoritetaan edullisesti pel-
kistämällä yhdiste III_d, jolloin lähtöaineena käytetyn yh-
disteen perhydronaftaleenirenkaan trans-fuusio säilyy, eikä
isomeerien erottamista tarvitse suorittaa.



Reaktiot ja reagenssit

1. Hydraus suoritetaan noin 20-75°C:ssa paineessa noin normaalipaineesta noin 4 atm paineeseen tris(trifenyylifosfiini)kloorirodiumin läsnäollessa aromaattisessa liuottimessa, kuten benseenissä, tolueenissa tai ksyleenisä, edullisesti tolueenissa. Edullisesti hydraus suoritetaan noin 40°C:ssa noin 2-7 atm paineessa tolueenissa.

2. Hydraus suoritetaan noin 20-25°C:ssa normaalipaineessa platinaoksidin läsnäollessa etyyliasetaatissa.

10 3. Hydraus suoritetaan 20-25°C:ssa normaalipaineessa 10-%:isen Pd/C-katalysaattorin läsnäollessa etyyliasetaatissa.

15 6 α -[2-(8' β -2-(S)-metyyli-*butyryyli*oksi-2' β ,6' α -dimetyli-1',2',3',4',6',7',8',8'a-oktahydronaftyyl-1)etyyli]-4' β -hydroksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-oni, III_b (R'=CH₃)

Yhdisteen III_a (R'=CH₃) (50 mg, 0,1236 mmoolia) ja tris(trifenyylifosfiini)kloorirodiumin (114,35 mg, 0,1236 mmoolia) seosta 10 ml:ssa kuivaa tolueenia hydrattiin huoneen lämpötilassa 6 vrk, jona aikana vetyä sitoutui kaikkiaan 14,6 ml. Seos haihdutettiin kuiviin tyhjöissä. Punaiselle jäännökselle suoritettiin preparatiivinen ohutkerroskromatografointi hopeanitraatti-impregnoituilla sili-kageelilevyillä, jotka kehitettiin kaksi kertaa 10-%:ssa etyyliasetaatti-eetteriseoksessa. Yhdistettä III_b (R'=CH₃)
25 saatiin 22,3 mg.

Massaspektri (M/e)	406 (m ⁺)
	304 (m-102)
	286 (m-102-18)

30 NMR (CDCl₃, 300 MHz)

δ 4,37 (m, 1H), 4,60 (m, 1H),
5,34 (t:n d, J=2,5 Hz, 1H),
5,41 (m, 1H).

6 α -[2-(8' β -2(S)-metyyli-*butyryyli*oksi-2' α ,6' β -
dimetyyli-1',2',3',4',4'a α ,5',6',7',8',8'a-deka-
hydra-naftyyli-1)etyyli]-4 β -hydroksi-3,4,5,6-tetra-
hydro-2H-pyran-2-oni, III_e (R'=CH₃)

- 5 Yhdisteen III_a (R'=CH₃) liuosta 10 ml:ssa etyyliase-
taattia hydrattiin platinaoksidikatalysaattorin (yhtä suu-
ri painomäärä) läsnäollessa 1 atm paineessa. Tunnissa si-
toutui täsmälleen 2 mooliekvivalenttia vetyä. Katalysaat-
tori poistettiin suodattamalla, ja suodos haihdutettiin
10 kuiviin, jolloin saatiin öljy. Cis- ja trans-isomeerit ero-
tettiin toisistaan ohutkerroskromatografialla silikageeli-
levyillä (etyyliasettaatti-eetteriseos 1:9, vyöhykkeet
havaittiin suihkuttamalla vettä). Trans-isomeeri III_e
(R'=CH₃) saatiin polaarisempänä täplänä kuin cis-isomee-
15 ri. Sitä saatiin 60 mg.

Massaspektri (M/e)	408 (m ⁺)
	323 (m-85)
	306 (m-102)

NMR (CDCl₃, 300 MHz)

- 20 δ 4,36 (leveä singletti, 1H),
4,59 (m, 1H), 5,19 (t:n d, J=2,5
Hz, 1H).

Keksinnön mukaista menetelmää havainnollistetaan
seuraavien esimerkkien avulla.

- 25 Yhdisteiden IV_{a,b,e} valmistus
6(R)-[2-(8'-(S)-hydroksi-2'(S),6'(R)-dimetyyli-
1',2',6',7',8'a(R)-heksahydra-naftyyli-1'(S))-
etyyli]-4(R)-hydroksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-
pyran-2-oni, IV_a (R'=CH₃)

- 30 MK-803:n (III_a, R'=CH₃) (8,0 g, 19,78 mmoolia) ja
LiOH.H₂O:n (8,31 g, 197,8 mmoolia) seosta 600 ml:ssa vettä
sekoitettiin palautusjäähdytyslämpötilassa tyypikehässä
56 tuntia. Reaktioseos jäähdytettiin 0°C:seen, ja siihen
lisättiin sekoittaen 20 ml väkevää kloorivetyhappoa. Seos
35 uutettiin eetterillä (3 x 250 ml) ja yhdistetyt eetteri-
utteet pestiin peräkkäin vedellä (3 x 200 ml) ja kylläs-

tetyllä suolaliuoksella (200 ml). Liuos kuivattiin MgSO₄:llä, suodatettiin ja haihdutettiin tyhjöissä, jolloin saatiin öljymäinen jäännös. Se liuotettiin 200 ml:aan toluenea, ja yhdisteen laktonisoimiseksi liuosta kuumennettiin palautusjäähdyttämällä 2 tuntia samalla jatkuvasti erottaen muodostunutta vettä. Toluenei haihdutettiin, jäännöstä trituroitiin heksaanissa, jolloin saatiin 5,15 g (81 %) otsikon yhdistettä IV_a (R'=CH₃) valkeana kiinteänä aineena, jota ei tarvinnut enempää puhdistaa.

10 Analyysinäyte valmistettiin kiteyttämällä osa yhdisteestä butyylikloridista, jolloin saatiin valkeita ki-deryhmiä, sp. 128-131°C (tyhjö); NMR (CDCl₃) δ 0,87 (d, 3, J=7 Hz, CH₃), 1,16 (d, 3, J=7 Hz, CH₃), 2,64 (m, 2, pyraanin C₃H:t), 4,27 (brm, 1, naftaleenin C₈H), 4,37 (m, 1, pyraanin C₄H), 4,71 (m, 1, pyraanin C₆H), 5,56 (m, 1, naftaleenin C₅H), 5,79 (dd, 1, J=6,10 Hz, naftaleenin C₃H), 6,03 (d, 1, J=10 Hz, naftaleenin C₄H); IR (CHCl₃) 3400 (OH), 1725 (C=O), 1240, 1120, 1080 cm⁻¹.

Analyysi laskettu kaavasta C₁₉H₂₈O₄·0,1C₄H₉Cl:

20 C 70,67 H 8,84

Saatu: C 70,77 H 8,75

Vaihtoehtoinen menetelmä 6(R)-[2-(8'(S)-hydroksi-2'(S),6'(R)-dimetyyli-1',2',6',7',8',8'a(R)-heksahydronaftyli-1'(S)etyyli]-4-(R)-hydroksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onin valmistamiseksi
 25 IV_a (R'=CH₃)

MK-803:n (III_a, R'=CH₃) (188 mg, 0,46 mmoolia) suspensiota 5 ml:ssa (5 mmoolia) 1-n LiOH-vesiliuosta ravis-teltiin 12 tuntia 135°C:ssa 30 ml:n ruostumattomasta te-räksestä valmistetussa paineastiassa. Jäähdytetty reaktio-seos tehtiin happameksi 1-m H₃PO₄:llä ja uutettiin etyyli-asetaatilla. Etyyliasetaattiliuos kuivattiin (MgSO₄), suo-datettiin ja haihdutettiin. Jäännös luotettiin 20 ml:aan toluenea, ja liuosta kuumennettiin palautusjäähdyttämällä 4 tuntia käyttäen Dean-Stark-laitetta, jolloin tuote lak-tonisoitui. Haihduttamalla toluenei saatiin otsikon yhdiste.

Alkoholien IV_a (R'=H) ja IV_b, IV_c, IV_d ja IV_e
(R'=H tai CH₃) valmistus

Noudattamalla olennaisesti jompaakumpaa edellä kuvatuista menetelmistä käyttäen siinä III_a:n (R'=CH₃) sijasta ekvivalenttista määrää esteriä III_b tai III_e (R'=CH₃),
5 saadaan vastaavat alkoholit IV_b ja IV_e (R'=CH₃).

Esimerkki 1

6(R)-[2-(8'(S)-2",2"-dimetyylipropanoyylioksi
2'(S),6'(R)-dimetyyli-1',2',6',7',8',8'a(R)-heksa-
10 hydronaftyli-1'(S))etyyli]-4(R)-hydroksi-3,4,5,6-
tetrahydro-2H-pyran-2-oni

Vaihe A:

6(R)-[2-(8'(S)-hydroksi-2'(S)-6'(R)-dimetyyli-1',2',
6',7',8',8'a(R)-heksahydronaftyli-1'(S))etyyli]-4(R)-
15 (dimetyyli-tert-butyyლისilyylioksi)-3,4,5,6-tetra-
hydro-2H-pyran-2-oni, V_a (R'=CH₃)

Alkoholien IV_a (R'=CH₃) (18,3 g, 57,1 mmoolia), tert-
butyylidimetyylidikloorisilaanin (21,5 g, 142,8 mmoolia) ja
imidatsolin (19,4 g, 285,6 mmoolia) seosta 200 ml:ssa N,N-
20 dimetyyliformamidia sekoitettiin 20°C:ssa typpikehässä 18
tuntia. Reaktioseos laimennettiin 1500 ml:lla eetteriä ja
pestiin peräkkäin vedellä, 2-%:sella HCl-vesiliuoksella,
vedellä ja kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella.
Eetteriliuos kuivattiin MgSO₄:llä, suodatettiin ja haihdu-
25 tettiin 1 litraksi. Liuokseen lisättiin 600 ml heksaania ja
liuos haihdutettiin höyryhauteella 600 ml:ksi. Tuote kitey-
tyi huoneen lämpötilassa, se eristettiin ja ilmakuivattiin,
jolloin saatiin 13,7 g valkeata pumpulimaista ainetta. Emä-
liuokset haihdutettiin 250 ml:ksi, liuosta seisotettiin
30 0°C:ssa yön yli, jolloin saatiin toinen erä kiteitä. Koko-
naissaanto oli 17,13 g (69 %) otsikon yhdistettä valkeana
pumpulimaisena aineena, sp. 142-144°C (tyhjö); NMR (CDCl₃)
δ 0,10 (s, 6, (CH₃)₂Si), 0,90 (s, 9, (CH₃)₃CSi), 1,19 (d, 3,
J=7 Hz, CH₃), 2,58 (d, 2, J=4 Hz, pyraanin C₃H:t), 4,3 (m,
35 2, pyraanin C₄H ja naftaleenin C₈H), 4,70 (m, 1, pyraanin
C₆H), 5,57 (m, 1, naftaleenin C₅H), 5,58 (dd, 1, J=6,

10 Hz, naftaleenin C₃H), 6,03 (d, 1, J=10 Hz, naftaleenin C₄H).

Analyysi laskettu kaavalle C₂₅H₄₂O₄Si:

C 69,08, H 9,74

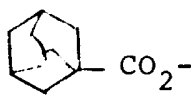
5 Saatu: C 69,46, H 9,83

Vaihe B:

6(R)-[2-(8'(S)-2",2"-dimetyylipropanoyylioksi-2'(S)-
6'(R)-dimetyyli-1',2',6',7',8',8'a(R)-heksahydro-
naftyyli-1'(S)-etyyli]7-4(R)-(dimetyyli-tert-butyyli-
10 silyylioksi)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-oni,
VI_a (R'=CH₃)

Vaiheessa A saadun alkoholin V_a (R'=CH₃) (6,0 g,
13,8 mmoolia) ja 4-dimetyyliaminopyridiinin (200 mg) liuos
50 ml:ssa pyridiiniä jäädytettiin typpikehässä 0°C:seen.
15 Liuosta sekoitettiin ja siihen lisättiin 6,8 ml (6,65 g,
55,2 mmoolia) pivaloyylikloridia 15 minuutin kuluessa.
Reaktioseosta sekoitettiin 0°C:ssa tunnin ajan ja sitten
20°C:ssa 4 vrk. Reaktioseos laimennettiin 750 ml:lla eet-
teriä ja pestiin 2-%:isella HCl-vesiliuoksella, kunnes pe-
20 suneste oli hapanta, ja sitten kyllästetyllä NaHCO₃-liuok-
sella. Liuos kuivattiin MgSO₄:llä, suodatettiin ja haihdu-
tettiin, jolloin saatiin 7,81 g otsikon yhdistettä vaalean
oranssinvärisenä öljynä: NMR (CDCl₃) δ 0,09 (s, 6, (CH₃)₂Si),
0,88 (s, 9, (CH₃)₃CSi), 1,28 (s, 9, (CH₃)₃CCO₂-), 2,57
25 (d, 2, J=4 Hz, pyraanin C₃H:t), 4,32 (m, 1, pyraanin C₄H),
4,63 (m, 1, pyraanin C₆H), 5,34 (m, 1, naftaleenin C₈H),
5,54 (m, 1, naftaleenin C₅H), 5,78 (dd, 1, J=6, 10 Hz,
naftaleenin C₃H), 6,03 (d, 1, J=10 Hz, naftaleenin C₄H).

Olennaisesti samalla menetelmällä kuin esimerkissä
30 1, vaiheessa B käyttämällä siinä käytetyn pivaloyyliklori-
din sijasta ekvimolaarista määrää taulukossa II esitettyjä
kaavan R-COCl mukaisia happoklorideja saatiin seuraavat
taulukossa II esitetyt yhdisteet VI_a (R'=CH₃).

	<u>Taulukko II</u>	<u>NMR (CDCl₃, δ)</u>
5	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{O} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{F} \end{array}$	7,10 (t, 2, J=8Hz, p-Fph-) 8,03 (dd, 2, J=5,8Hz, p-FPh-)
	CH_3CO_2^-	2,02 (s, 3, CH ₃ CO ₂ ⁻)
10	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3-\text{CH}-\text{C}-\text{O}- \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	1,19 (d, J=7Hz, α-CH ₃ esteri) 1,21 (d, J=7Hz, α-CH ₃ esteri) Total 3H
15	$\begin{array}{l} (\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}_2^- \\ (\text{CH}_3)_2\text{CHCO}_2^- \\ \text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CO}_2^- \end{array}$	0,83 (d, 6, J=6Hz, (CH ₃) ₂ CH-) 1,13 (d, 6, J=6Hz (CH ₃) ₂ CH) 0,95 (t, 3, J=7Hz, CH ₃ -(CH ₂) ₃)
20		1,60-2,08 (m, 15, adamantyyli)

Vaihe C:

25 6(R)- $\sqrt{2}$ -(8'(S)-2",2"-dimetyylipropanoyylioksi-
 2'(S),6'(R)-dimetyyli-1',2',6',7',8',8'a(R)-heksa-
 hydronaftyli-1'(S)etyyli-1'(S)etyyli-4(R)-
 hydroksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-oni, I_a
 (R'=CH₃)

30 Bu₄N⁺F⁻·3H₂O:n (10,0 g, 31,7 mmoolia) ja etikkahapon
 (2,4 ml, 2,5 g, 42,3 moolia) liuokseen 50 ml:ssa tetrahydro-
 furania lisättiin vaiheessa B valmistetun silyylieetterin
 VI_a (R'=CH₃) (7,81 g, 13,8 mmoolia) liuos 50 ml:ssa tetra-
 hydrofuraania. Seosta sekoitettiin 20°C:ssa typpikehässä yli
 35 pestiin peräkkäin 2-%:sella HCl-vesiliuoksella, vedellä ja

kyllästetyllä NaHCO_3 -vesiliuoksella. Orgaaninen liuos
 kuivattiin (MgSO_4) ja suodatettiin. Haihduttamalla liuo-
 tin saatiin 6,45 g lähes valkeata kiinteätä ainetta. Se
 kiteytettiin 100 ml:sta butyylikloridia ja eristetyt ki-
 teet kuivattiin 35°C :ssa/0,01 mm paineessa 4 tuntia, jol-
 loin saatiin 4,0 g (72 %) otsikon yhdistettä lähes valkei-
 na neulasina, sp. $167,5-170,5^\circ\text{C}$ (tyhjö); NMR (CDCl_3)
 δ 0,88 (d, 3, $J=7$ Hz, CH_3), 1,08 (d, 3, $J=7$ Hz, CH_3), 1,19
 (s, 9, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 2,67 (d, 2, $J=4$ Hz, pyraanin C_3H), 4,39
 (m, 1, pyraanin C_4H), 4,65 (m, 1, pyraanin C_6H), 5,36 (m, 1,
 naftaleenin C_8H), 5,55 (m, 1, naftaleenin C_5H), 5,80 (dd, 1,
 $J=6,10$ Hz, naftaleenin C_3H), 6,04 (d, 1, $J=10$ Hz, naftalee-
 nin C_4H); HPLC (4,6 mm x 25 cm "Partisil 10 PAC", 10-%:nen
 isopropanoli/heksaani, 4 ml/min) retentioaika 4,4 min.

15 Analyysi laskettu kaavalle $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_5$:

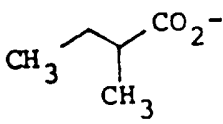
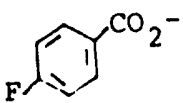
C 71,25, H 8,97

Saatu: C 71,40, H 8,93

Olennaisesti samalla menetelmällä kuin esimerkissä
 1 vaiheessa B käytetty, mutta korvaamalla siinä käytetty
 2,2-dimetyylipropanoyylioksisilylylieetteri (yhdiste VI_a ,
 $\text{R}'=\text{CH}_3$) ekvivalenttisella määrällä muuta taulukossa II
 esitettyä esteriä VI_a ($\text{R}'=\text{CH}_3$) saatiin seuraavat taulu-
 kossa III esitetyt esterit I_a ($\text{R}'=\text{CH}_3$).

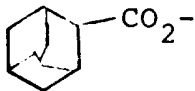
25

Taulukko III

RCO_2^-	Kaava	Sp. ($^\circ\text{C}$)
	$\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_5$	139-148
	$\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{FO}_5$	119,5-120,5 (tyhjö)

35

Taulukko III (jatkoa)

RCO ₂ ⁻	Kaava	Sp. (°C)
(CH ₃) ₂ CHCH ₂ CO ₂ ⁻	C ₂₄ H ₃₆ O ₅	126-128
5 (CH ₃) ₂ CHCO ₂ ⁻	C ₂₃ H ₂₄ O ₅	144-147
CH ₃ CO ₂ ⁻	C ₂₁ H ₃₀ O ₅ ·0.1C ₄ H ₉	154-156 (tyhjö)
10		
	C ₃₀ H ₄₂ O ₅ ·0.05C ₆ H ₁₂	155-158

15

Esimerkki 2

20 6(R)-/2-(8'(S)-fenyyliaetoksi-2'(S),6'(R)-dimetyyli-1',2',6',7',8',8'a(R)-heksahydronaftyli-1'(S)-etyyli/4-(R)-hydroksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-oni

Vaihe A:

25 6(R)-/2-(8'(S)-fenyyliaetoksi-2'(S),6'(R)-dimetyyli-1',2',6',7',8',8'a(R)-heksahydronaftyli-1'(S)-etyyli/4(R)-dimetyyli-tert-butyyliisilyylioksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-oni, VI_a (R'=CH₃)

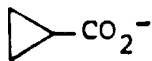
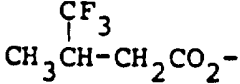
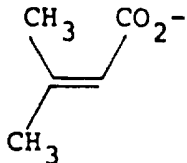
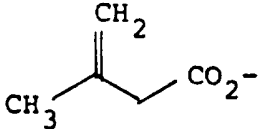
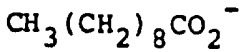
30 Esimerkin 1 vaiheesta A saadun alkoholin V_a (R'=CH₃) (434 mg, 1,0 mmoolia), fenyylitikkahapon (204 mg, 1,5 mmoolia) ja n,N'-disykloheksyylikarbodiimidin (309 mg, 1,5 mmoolia) liuosta 10 ml:ssa dikloorimetaania käsiteltiin 4-pyrrolidinopyridiinillä (22 mg, 0,15 mmoolia) sekoitettuen typpikehässä 20°C:ssa. 3 vrk:n kuluttua liuotin haihdutettiin tyhjössä, jäännös suspendoitiin 25 ml:aan eetteriä ja suspensio suodatettiin. Haihduttamalla suodos saatiin viskoosinen öljy, joka kromatografoitiin 3 x 15 cm kolonnissa silikageelillä (0,062-0,035 mm). Eluoimalla

35

(paineilma) eetteri/heksaaniseoksella (1:1, tilav./tilav.) saatiin 460 mg (83 %) otsikon yhdistettä viskoosisena öljynä; NMR (CDCl₃) δ 0,10 (s, 6, (CH₃)₂Si), 0,90 (s, 9, (CH₃)₃CSi), 3,58 (s, 2, PhCH₂-), 5,34 (m, 1, naftaleenin C₈H), 7,30 (s, 5, Ph).

Olennaisesti esimerkin 2 vaiheen A menetelmällä käyttämällä kuitenkin siinä käytetyn fenyylietikkahapon sijasta ekvimolaarista määrää taulukossa IV esitetyjä kaavan R-COOH mukaisia orgaanisia happoja valmistettiin taulukossa IV esitetyt esterit VI_a (R'=CH₃).

Taulukko IV

	<u>R-C(=O)-O-</u>	<u>NMR(CDCl₃, δ)</u>
15		0,78-1,02 (m, 4, syklopropani)
		1,04 (d, 3, J=7Hz, CH ₃ CHCF ₃)
20		
		1,88 (s, 3, CH ₃ C=C) 2,17 (d, 3, J=2Hz, CH ₃ C=C) 5,68 (brs, 1, C=CH-)
25		
		1,80 (s, 3, CH ₃ C=C) 4,86, 4,92 (s, 2, CH ₂ =C)
30		
		0,87 (m, 3, CH ₃ (CH ₂) ₈ CO ₂ -) 1,25 (m, 14, CH ₃ (CH ₂) ₇ CH ₂ CO ₂ -)

Vaihe B:

6 (R)-2-(8' (S)-fenyyliasetoksi-2' (S), 6' (R)-dimetyyli-1', 2', 6', 7', 8', 8'a (R)-heksahydronaftyli-1' (S))
 etyyli-4 (R)-hydroksi-3, 4, 5, 6-tetrahydro-2H-pyran-
 2-oni, I_a (R'=CH₃)

5

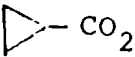
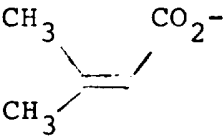
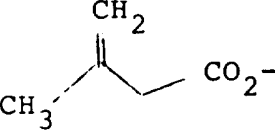
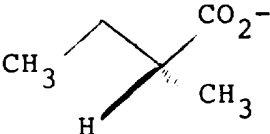
Noudattamalla olennaisesti esimerkissä 1 vaiheessa
 C kuvattua menetelmää korvaamalla kuitenkin siinä käytet-
 ty propanoyylioksiyhdiste ekvimolaarisella määrällä esi-
 merkissä 2 vaiheessa A valmistettua fenyyliasetoksiyhdis-
 tettä saatiin otsikon yhdiste, sp. 109-112°C.

10

Käyttämällä muita esimerkin 2, vaiheen A estereitä
 VI_a (R'=CH₃) ja noudattamalla esimerkin 2 vaiheen B mene-
 telmää valmistettiin taulukossa V esitetyt esterit I_a
 (R'=CH₃).

15

Taulukko V

	<u>RCO₂</u>	<u>Kaava:</u>	<u>Sp. (°C)</u>
20		C ₂₃ H ₃₂ O ₅	116-119
	$\text{CH}_3\overset{\text{CF}_3}{\underset{ }{\text{C}}}\text{HCH}_2\text{CO}_2^-$	C ₂₄ H ₃₃ F ₃ O ₅	110-113
25		C ₂₄ H ₃₄ O ₅	113-118
30		C ₂₄ H ₃₄ O ₅	116-119
	CH ₃ (CH ₂) ₈ CO ₂ ⁻	C ₂₉ H ₄₆ O ₅	(huoneenlämpö- tilassa puoli- kiinteä aine)
35		C ₂₄ H ₃₆ O ₅	126-129

Esimerkki 3

6(R)- $\overline{2}$ -(8'(S)-2"-etyyli-2"-metyylibutyryylioksi-
2'(S)-6'(R)-dimetyyli-1',2',6',7',8',8'a(R)-heksa-
sahydronaftyyli-1'(S))etyyli-4(R)-hydroksi-3,4,5,6-
5 tetrahydro-2-H-pyran-2-oni

Vaihe A:

6(R)- $\overline{2}$ -(8'(S)-2"-etyyli-2"-metyylibutyryylioksi-
2'(S)-6'(R)-dimetyyli-1',2',6',7',8',8'a(R)-heksa-
10 hydronaftyyli-1'(S)etyyli-4(R)-(dimetyyli-tert.-
butyyilisilyylioksi)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-
oni VI_a (R'=CH₃)

Alkoholien V_a (R'=CH₃) (2,17 mg, 5 mmoolia) ja 4-
pyrrolidinopyridiinin (74 mg) magneettisekoittajalla se-
koitettuun liuokseen 20 ml:ssa pyridiiniä lisättiin 3,0 g
15 (20 mmoolia) 2-etyyli-2-metyylibutyryylikloridia. Reak-
tioseosta sekoitettiin 100°C:ssa normaalipaineessa typpi-
kehässä 9 tuntia. Reaktioseos laimennettiin 500 ml:lla
eetteriä ja pestiin 1-n HCl:llä, kunnes pesuneste oli ha-
panta, ja sitten suolaliuoksella (3 x 50 ml). Liuos kui-
vattiin (MgSO₄), suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin
20 saatiin 4,2 g ruskeata öljyä. Öljy kromatografoitiin
6 x 15 cm kolonnissa silikageelillä (0,062-0,035 mm).
Eluoimalla (paineilma) eetteri/heksaaniseoksella (1:1,
tilav./tilav.) saatiin 2,6 g (95 %) otsikon yhdistettä
25 viskoosisena keltaisena öljynä; NMR (CDCl₃) δ 0,08 (s, 6,
(CH₃)₂ Si), 0,9 (s, 9, (CH₃)₃CSi), 2,57 (d, 2, J=4 Hz,
pyraanin C₃H:t), 4,30 (m, 1, pyraanin C₄H), 4,63 (m, 1,
pyraanin C₆H), 5,42 (m, 1, naftaleenin C₈H), 5,53 (m, 1,
naftaleenin C₅H), 5,78 (dd, 1, J=6,10 Hz, naftaleenin
30 C₃H), 6,03 (d, 1, J=10 Hz, naftaleenin C₄H).

Noudattamalla olennaisesti esimerkin 3 vaiheessa
A kuvattua menetelmää, mutta korvaamalla siinä käytetty
2-etyyli-2-metyylibutyryylikloridi ekvimolaarisella mää-
rällä taulukossa VI esitettyä happokloridia R-COCl val-
35 mistettiin taulukossa VI esitetyt esterit VI_a (R'=CH₃).

Taulukko VI

	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{CO} \end{array}$	<u>NMR(CDCl₃, δ)</u>
5		0,87 (m, 9, CH ₃ CH ₂ CH ₂ (CH ₃ CH ₂) ₂ CCO ₂)
		0,78 (t, 9, J=7Hz, (CH ₃ CH ₂) ₃ CCO ₂) 1,48 (g, 6, J=7Hz, (CH ₃ CH ₂) ₃ CCO ₂)
10		1,28 (s, 6, (CH ₃) ₂ CCO ₂) 2,20 (s, 3, CH ₃ -C=CH ₂) 3,86 (m, 2, CH ₂ =C)
15		1,12 (s, 6, (CH ₃) ₂ CCO ₂) 0,83 (t, 3, (CH ₃ CH ₂)CCO ₂)

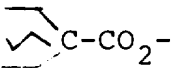
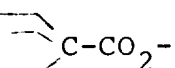
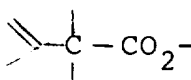
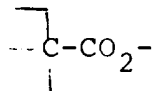
Vaihe B:

6 (R)- $\sqrt{2}$ -(8' (S)-2"-etyyli-2"-metyylibutyryylioksi-
2' (S)-6' (R)-dimetyyli-1', 2', 6', 7', 8', 8'a-(R)-
20 heksahydronaftyli-1' (S)etyyli/4 (R)-hydroksi-3, 4,
5, 6-tetrahydro-2H-pyran-2-oni

Noudattamalla olennaisesti esimerkin 1 vaiheessa
C tai esimerkin 2 vaiheessa B kuvattua menetelmää, mutta
käyttämällä lähtöaineena esimerkin 3 vaiheessa A valmis-
25 tettä silyylieetteriä saatiin otsikon yhdiste, sp. 111-
113°C (C₂₆H₄₀O₅).

Vastaavalla tavalla valmistettiin taulukossa VII
esitetyt kaavan I_a mukaiset esterit käyttämällä lähtöai-
30 neina muita taulukossa VI esitettyjä estereitä VI_a
(R'=CH₃).

Taulukko VII

	<u>RCO₂⁻</u>	<u>Kaava</u>	<u>Sp. (°C)</u>
5		C ₂₈ H ₄₄ O ₅	81-83
		C ₂₇ H ₄₂ O ₅	129-132
10		C ₂₆ H ₃₈ O ₅	75-78
		C ₂₅ H ₃₈ O ₅	135-138
15	<u>Esimerkki 4:</u>		
	6 (R)-[2-β(S) (2"-etyyli-2"-metyylibutyryylioksi)-2' (S), 6' (S)-dimetyyli-1', 2', 3', 4', 4'a (S), 5', 6', 7', 8', 8'a (S)-dekahydronaftyyli-1' (S)]etyyli-4 (R)hydroksi-3, 4, 5, 6-tetrahydro-2H-pyran-2-oni, I _e (R'=CH ₃)		
20	<u>Vaihe A:</u>		
	6 (R)-[2-(8' (S)hydroksi-2' (S), 6' (S)dimetyyli-1' 2', 3', 4', 4a (S), 5', 6', 7', 8', 8'a (S)-dekahydronaftyyli-1' (S)etyyli-4 (R)-hydroksi-3, 4, 5, 6-tetrahydro-2H-pyran-2-oni IV _e (R'=CH ₃)		
25	Alkoholin IV _a (R'=CH ₃) (2,0 g 6,2 mmoolia) liuosta etyyliasetaatissa (100 ml) hydrattiin platinoksidin (1 g) läsnäollessa 18 atmpaineessa, kunnes 2 mooliekvivalenttia vetyä oli sitoutunut. Katalysaattori suodatettiin pois, suodos haihdutettiin ja saatu valkea kiinteä aine (1,9 g)		
30	kromatografoitiin 6 x 20 cm kolonnissa silikageelillä (0,062-0,035 mm). Eluoimalla (paineilma asetoni/metyleeni-kloridiseoksella (3:7, tilav./tilav.) saatiin 1,0 g (50 %) otsikon yhdistettä värittömän kiinteänä aineena.		
35	Kiteyttämällä osa yhdisteestä kloroformista, saatiin analyysinäyte valkeana pumpulimaisena aineena, sp. 166-168°C.		

Vaihe B:

5 6(R)-2-(8'(S)-hydroksi-2'(S),6'(S)-dimetyyli-
1',2',3',4',4'a(S),5',6',7',8',8'a(S)-dekahydro-
naftyyli-1'(S)-etyyli)-4(R)-(dimetyyli-tert.-butyy-
lisilyylioksi)3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-oni,
V_e (R'=CH₃)

Alkoholin IV_e (R'=CH₃) (1,0 g 3,1 mmoolia), imidat-
solin (1,05 g, 15,4 mmoolia) ja tert-butyyli-dimetyyli-kloori-
risilaanin (1,16 g, 7,7 mmoolia) liuosta 20 ml:ssa N,N-di-
10 metyyli-formamidia sekoitettiin 20°C:ssa typpikehässä 18
tuntia. Reaktioliuos laimennettiin 200 ml:lla eetteriä ja
pestiin peräkkäin vedellä, 2-%:sella HCl-vesiliuoksella ja
suolaliuoksella. Eetteriliuos kuivattiin (MgSO₄) ja haih-
dutettiin, saatu valkea kiinteä aine (1,8 g) kromatogra-
15 foitiin 6 x 20 cm kolonnissa silikageelillä (0,062-0,035 mm).
Eluomalla (paineilma) asetoni/metyleenikloridiseoksella
(1:19, tilav./tilav.) saatiin 1,0 g (74 %) otsikon yhdis-
tettä kiinteänä valkeana aineena, sp. 136-138°C.

Vaihe C:

20 6(R)-2-(8'(S)(2"-etyyli-2"-metyyli-butyryylioksi)-
2'(S),6'(S)-dimetyyli-1',2',3',4',4'a(S),5',6',7',
8',8'a(S)-dekahydro-naftyyli-1'(S)-etyyli)-4(R)(di-
metyyli-tert.-butyyli-silyylioksi)-3,4,5,6-tetrahydro-
2H-pyran-2-oni VI_e (R'=CH₃)

25 Korvaamalla esimerkin 3 vaiheessa A käytetty alkoho-
li V_a (R'=CH₃) alkoholilla V_e (R'=CH₃) ja noudattamalla
vaiheessa A kuvattua menetelmää saatiin vastaava määrä ot-
sikon yhdistettä VI_e (R'=CH₃) keltaisena öljynä. NMR (CDCl₃)
δ 0,08 (s,6, (CH₃)₂Si), 0,90 (s,9, (CH₃)₃CSi), 1,13 (s,6,
30 (CH₃)₂CO₂), 2,63 (m,2, pyraanin C₃H:t), 4,33 (m,1 pyraanin
C₄H), 4,60 (m,1, pyraanin C₆H), 5,23 (m,1, naftaleenin
C₈H).

Vaihe D:

35 6(R)-2-(8'(S)(2"-etyyli-2"-metyyli-butyryylioksi)-
2'(S),6(S)-dimetyyli-1',2',3',4',4'a(S),5',6',7',8',

8'a(S)-dekahydronaftyyli-1'(S)-etyyli-4(R)-hydroksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-oni, I_e (R'=CH₃)

Käyttämällä esimerkin 1 vaiheen silylieetterin sijasta ekvimolaarimäärää esimerkin vaiheessa C saatua silylieetteriä CI_e (R'=CH₃) ja noudattamalla esimerkin 1 vaiheessa C esitettyä menetelmää saatiin vastaava määrä otsikon yhdistettä kiinteänä aineena.

Analyysinäyte valmistettiin kiteyttämällä heksaanista, se saatiin valkeina neulasina, sp. 146-147°C.

10 Esimerkki 5

6(R)-2-(8'(S)-(2"-etyyli-2"-metyyllibutyryylioksi)-2'(S),6'(R)-dimetyyli-1',2',3',4',6',7',8',8'a(S)-oktahydronaftyyli-1'(S)-etyyli-4(R)-hydroksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-oni, I_b (R'=CH₃)

15 Vaihe A:

6(R)-2-(8'(S)-hydroksi-2'(S),6'(R)-dimetyyli-1',2',3',4',6',7',8',8'a(S)-oktahydronaftyyli-1'(S)-etyyli-4(R)-hydroksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-oni, IV_b (R'=CH₃)

20 Noudattamalla olennaisesti lähtöaineen IV_a (R'=CH₃) valmistusmenetelmää hydrolysoimalla MK-803 keittämällä sitä palautusjäähdyttären LiOH.H₂O:n vesiliuoksessa 56 tuntia, mutta korvaamalla MK-803 ekvimolaarisella määrällä yhdistettä III_b (R'=CH₃), saatiin vertailukelpoisella saannolla otsikon yhdiste IV_b (R'=CH₃), sp. 136-139°C.

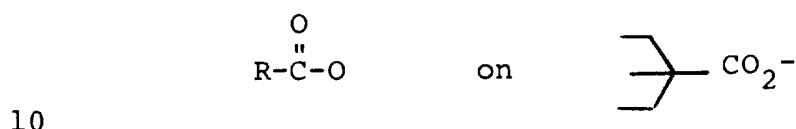
30 Noudattamalla esimerkin 4 vaiheissa B, C ja D kuvattua menetelmää, mutta käyttämällä vaiheessa B käytetyn yhdisteen IV_e (R'=CH₃) sijasta ekvimolaarista määrää tämän esimerkin vaiheessa A valmistettua yhdistettä IV_b (R'=CH₃) saatiin samankaltaisilla saannoilla kuin esimerkissä 4 seuraavat yhdisteet:

Vaihe B:

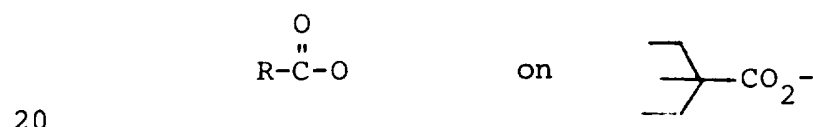
35 6(R)-2-(8'(S)-hydroksi-2'(S),6'(R)-dimetyyli-1',2',3',4',6',7',8',8'a(S)-oktahydronaftyyli-1'(S)-etyyli-4(R)-(dimetyyli-tert.-butyyliisilylioksi)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-oni, V_b (R'=CH₃), sp. 140-142°C.

Vaihe C:

6 (R)-{2-[8' (S)-(2"-etyyli-2"-metyyllibutyryylioksi)-
2' (S), 6' (R)-dimetyyli-1', 2', 3', 4', 6', 7', 8', 8'a (S)-
oktahydronaftyli-1' (S)]etyyli}-4 (R)-(dimetyyli-
5 tert.-butyyilisilyylioksi)-3, 4, 5, 6-tetrahydro-2H-
pyran-2-oni, VI_(b) (R'=CH₃), jossa

Vaihe D:

6 (R)-{2-[8' (S) (2"-etyyli-2"-metyyllibutyryylioksi)-
2' (S), 6' (R)-dimetyyli-1', 2', 3', 4', 6', 7', 8', 8'a (S)-
oktahydronaftyli-1' (S)]etyyli}-4 (R)hydroksi-3, 4,
15 5, 6-tetrahydro-2H-pyran-2-oni, I_b (R'=CH₃)
Sp. 129-131°C, jossa

Esimerkki 6Vaihe 1:

6 (R)-[2-(8 (S)-hydroksi-2 (S), 6 (R)-dimetyyli-
1, 2, 6, 7, 8, 8a (R)-heksahydronaftyli-1 (S)etyyli]-
25 4 (R)-hydroksi-3, 4, 5, 6-tetrahydro-2H-pyran-2-onin
valmistus

Mevinoliinin (50,2 g, 0,124 mol) ja LiOH.H₂O:n
(52,0 g, 1,24 mol) seosta vedessä (3 l) keitettiin palau-
tusjäähdyttään ja sekoitettiin magneettisekoittajalla N₂-
30 kehässä 72 tuntia. Seos jäähdytettiin 0°C:seen (jää/ase-
tonihaude) edelleen sekoittaen, ja siihen lisättiin 12-n
HCl:ää (120 ml, 1,44 mol) sellaisella nopeudella, että
lämpötila pysyi alle 3°C:n. Seos kyllästettiin kiinteällä
NaCl:llä ja uutettiin eetterillä (4 x 500 ml). Yhdistetyt
35 eetteriuutteet pestiin suolaliuoksella (2 x 250 ml), kui-
vattiin MgSO₄:llä ja haihdutettiin. Saatu oranssivärinen

öljy (31,7 g) liuotettiin tolueeniin (250 ml), ja liuosta keitetiin palautusjäähdyttään N₂-kehässä 4 tuntia, jolloin laktonin muodostumiseksi reaktioseoksesta poistetaan jatkuvasti vettä Dean-Stark-loukun kautta. Haihduttamalla to-
 5 lueeni saatiin öljymäinen jäännös, joka liuotettiin eetteriin (1,5 l). Tämä liuos pestiin kyllästetyllä NaHCO₃-liuoksella (250 ml), vedellä (250 ml) ja suolaliuoksella (250 ml), kuivattiin ja haihdutettiin kuiviin. Haihdutus-
 10 jäännöstä trituroitiin heksaanissa (200 ml), jolloin saatiin otsikon yhdiste kermanvärisenä kiinteänä aineena (29,7 g, 75 %), jota ei synteetitarkoituksiin tarvinnut enempää puhdistaa. Analyysinäyte valmistettiin kiteyttämällä osa saadusta yhdisteestä n-butyylidikloridista, jolloin saatiin värittömiä kiteitä, sp. 128-131°C.

15

Vaihe 2:

6(R)-[2]-8(S)-hydroksi-2(S),6(R)-dimetyyli-1,2,6,7,8,8a(R)-heksahydronaftyli-1(S)etyyli[7]-4(R)-tert.-butyylidimetyylisilyylioksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onin valmistus

20

Edellä saadun alkoholin (18,3 g, 0,057 mol), tert.-butyylidimetyylisilyylikloridin (10,3 g, 0,068 mol) ja imidatsolin (9,3 g, 0,137 mol) liuosta DMF:ssä (200 ml) sekoitettiin magneettisekoittajalla huoneen lämpötilassa 18 tuntia. Reaktioseos laimennettiin eetterillä (1500 ml)
 25 ja pestiin peräkkäin vedellä (200 ml), 2-%:isella HCl-vesiliuoksella (200 ml) ja vedellä (2 x 200 ml) ja kuivatettiin MgSO₄:llä. Suodatettu eetteriliuos haihdutettiin 1 litraksi, laimennettiin 600 ml:lla heksaania, ja saatu liuos konsentroitiin 600 ml:ksi, jolloin siitä saostui
 30 valkea kiinteä aine (13,7 g). Toinen erä kiteitä (3,4 g) saatiin haihduttamalla emäliuos 250 ml:ksi ja pitämällä sitä yön yli 0°C:ssa. Otsikon yhdistettä, sp. 142-144°C, saatiin yhteensä 17,1 g (69 %).

35

Vaihe 3:

6(R)-[2]-8(S)-hydroksi-2(S),6(S)-dimetyyli-1,2,3,4,4a(S),5,6,7,8,8a(S)-dekahydronaftyli-1(S)-etyyli[7]-4(R)-tert.-butyylidimetyylisilyylioksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onin valmistus

Edellä saadun silyylieetterin (5,0 g, 0,0115 mol) ja PtO₂:n (1,0 g) seosta etyyliasetaatissa (200 ml) hydrattiin Parr-hydrauslaitteessa yön yli. Katalysaattori suodatettiin, ja suodos haihdutettiin. Valkea kiinteä jäännös kromatografoitiin 80 x 178 mm:n kolonnissa silikageelillä (230-400 mesh). Eluoimalla ilman painetta metyleenikloridi/asetoniseoksella (98:2, vol/vol, 1,5 l) saatiin aluksi fraktio, joka hylättiin. Jatkettaessa eluointia samalla eluentilla (2 l) saatiin valkea, kiinteä otsikon yhdiste (3,4 g, 67 %), sp. 146-147°C.

Vaihe 4:

6(R)- $\sqrt{2}$ - $\sqrt{8}$ (S)-(2,2-dimetyylibutyryylioksi)-2(S), 6(S)-dimetyyli-1,2,3,4,4a(S),5,6,7,8,8a(S)-dekahydronaftyli-1(S)/etyyli-4(R)-tert.-butyyliidimetyylisilyylioksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onin valmistus

Edellä saadun alkoholin (0,11 g, 0,00025 mol) ja 4-pyrrolidinopyridiinin (0,0074 g, 0,00005 mol) liuokseen pyridiinissä (2 ml) lisättiin samalla sekoittaen magneettisekoittajalla 2,2-dimetyylibutyryylikloridia (0,067 g, 0,0005 mol). Liuosta kuumennettiin 100°C:ssa 3 tuntia N₂-kehässä, sitten lisättiin vielä 0,0335 g 2,2-dimetyylibutyryylikloridia ja 0,0039 g 4-pyrrolidinopyridiiniä, ja kuumennusta jatkettiin vielä 3 tuntia. Reaktioseos jäädytettiin, laimennettiin eetterillä (50 ml), pestiin 3-n HCl:llä (2 x 5 ml) ja suolaliuoksella (2 x 10 ml). Eetteriliuos kuivattiin MgSO₄:llä, suodatettiin ja haihdutettiin. Saatu keltainen öljy (0,136 g) kromatografoitiin 30 x 152 mm:n kolonissa silikageelillä (230-400 mesh). Kolonni eluointiin ilman painetta CH₂Cl₂:lla (300 ml) ja sitten CH₂Cl₂/asetoniseoksella (98:2, vol/vol, 100 ml), aluksi eluoitunut liuos hylättiin. Jatkettaessa eluointia CH₂Cl₂/asetoniseoksella (98:2, vol/vol, 50 ml) saatiin otsikon yhdiste vaaleankeltaisena öljynä (0,081 g, 60 %).

Vaihe 5:

6(R)- $\overline{2}$ - $\overline{8}$ (S)-(2,2-dimetyyli-*libutyryylioksi*)-2(S),
6(S)-dimetyyli-1,2,3,4,4a(S),5,6,7,8,8a(S)-deka-
hydra-naftyyli-1(S) $\overline{7}$ etyyli $\overline{7}$ -4(R)-hydroksi-3,4,5,6-
tetrahydro-2H-pyran-2-onin valmistus

Edellä saatu silyylieetteri (0,5 g, 0,00093 mol) lisättiin THF-liuokseen (30 ml), joka sisälsi jääetikkaa (0,224 g, 0,00372 mol) ja tetrabutyyliammoniumfluorididihydraattia (0,88 g, 0,00279 mol). Liuosta sekoitettiin magneettisekoittajalla N₂-kehässä 48 tuntia. Reaktioliuos laimennettiin eetterillä (150 ml), pestiin vedellä (25 ml) ja suolaliuoksella (2 x 75 ml), kuivattiin MgSO₄:llä, suodatettiin ja suodos haihdutettiin viskoosiseksi öljyksi (0,45 g). Öljy kromatografoitiin 40 x 152 mm:n kolonnissa silikageelillä (230-400 mesh). Kolonni eluoiitiin CH₂Cl₂/asetoniseoksella (85:15, vol/vol) ilman painetta ja 20 ml:n fraktiota koottiin. Fraktiot 21-37 yhdistettiin ja haihdutettiin kuiviin, jolloin saatiin kiinteä otsikon yhdiste (0,37 g, 94 %). Analyysinäyte valmistettiin kiteyttämällä osa siitä eetteri/heksaani-seoksesta, jolloin saatiin värittömiä levyjä, sp. 159-160°C.

Esimerkki 7

Etyyli-3(R),5(R)-dihydroksi-7- $\overline{8}$ (S)-(2,2-dimetyyli-*libutyryylioksi*)-2(S),6(S)-dimetyyli-1,2,3,4,4a(S),
5,6,7,8,8a(S)-dekahydra-naftyyli-1(S) $\overline{7}$ heptanoaatti

Esimerkissä 6 valmistetun yhdisteen (yhdiste I) (3,0 g) suspensioon etanolissa (50 ml) lisättiin N₂-kehässä natriummetoksidia (30 mg). Liuosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa 0,5 tuntia, sitten siihen lisättiin eetteriä (300 ml). Eetteriliuos pestiin vedellä (3 x 50 ml), kuivattiin MgSO₄:llä ja suodatettiin. Suodos haihdutettiin vakuuissa ja saatu öljy kromatografoitiin 60 x 152 mm:n kolonnissa silikageelillä (230-400 mesh). Eluoimalla metyleenikloridi/etanoliseoksella (94:4, vol/vol, 250 ml) ilman painetta saatiin kiinteä otsikon yhdiste.

Esimerkki 8

2,3-dihydroksipropyli-3(R),5(R)-dihydroksi-7-
/8(S)-(2,2-dimetyylibutyryylioksi)-2(S),6(S)-di-
metyyli-1,2,3,4,4a(S),5,6,7,8,8a(S)-dekahydro-
naftyyli-1(S)]heptanoaatti

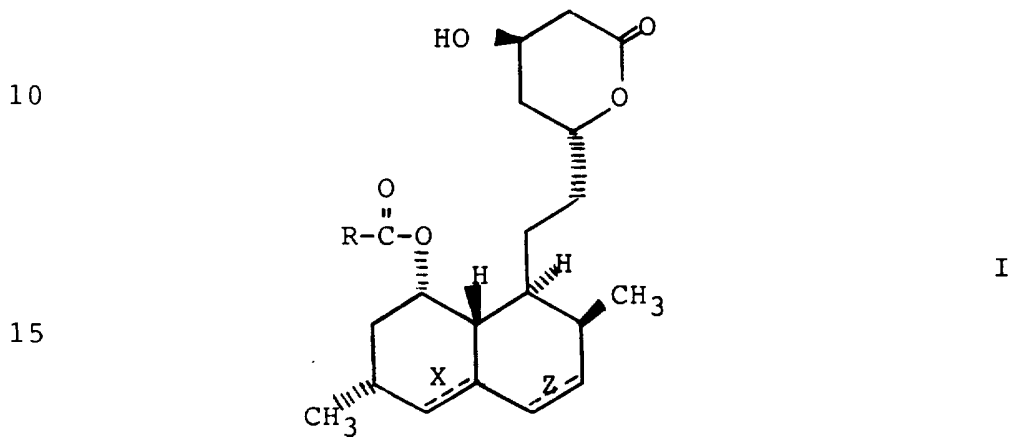
5

Yhdisteen II Na-suola valmistettiin lisäämällä esi-
merkissä 6 valmistetun yhdisteen I (0,22 g) liuokseen
DMF:ssä (2 ml) 1-n NaOH-liuosta (0,55 ml). Liuosta sekoitettiin
15 minuuttia, sitten siihen lisättiin 1-jodi-2,3-
10 dihydroksipropaania (0,2 g), ja seosta sekoitettiin ja
kuumennettiin 80°C:ssa (öljyhaude) 6 tuntia. Huoneen läm-
pötilaan jäähdytetty liuos kaadettiin eetteriin (100 ml).
Eetteriliuos pestiin suolaliuoksella (2 x 25 ml), kuivat-
tiin MgSO₄:llä ja suodatettiin. Suodos haihdutettiin va-
15 kuumissa, saatu öljy kromatografoitiin 20 x 152 mm:n ko-
lonnissa silikageelillä (230-400 mesh). Eluoimalla asetoni/
metyleenikloridiseoksella (60:40, vol/vol) ilman painetta
saatiin otsikon yhdiste öljynä, joka jähmettyi sitä
pidettäessä pakastimessa yön yli.

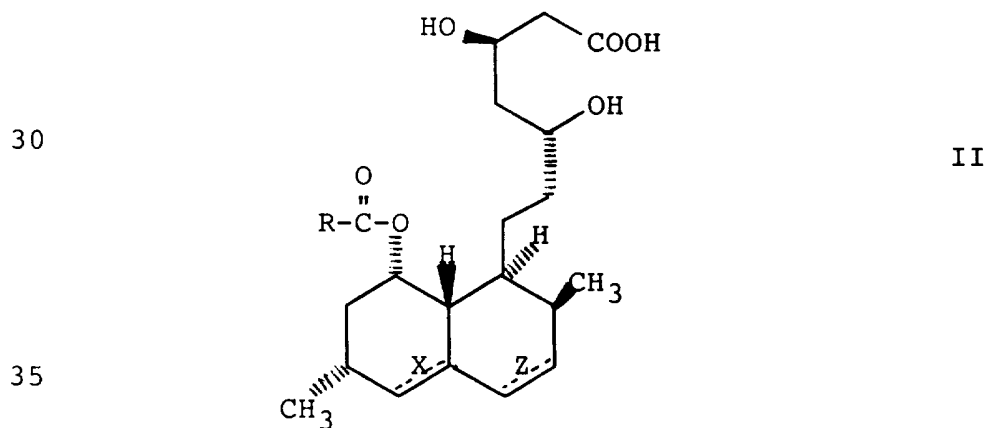
20

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä terapeutisesti aktiivisten 6(R)-[2-(8-asyylioksi-2,6-dimetyyli-polyhydronaftyyli-1)-etyyli]-4(R)-hydroksi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-onien valmistamiseksi, joilla on kaava I

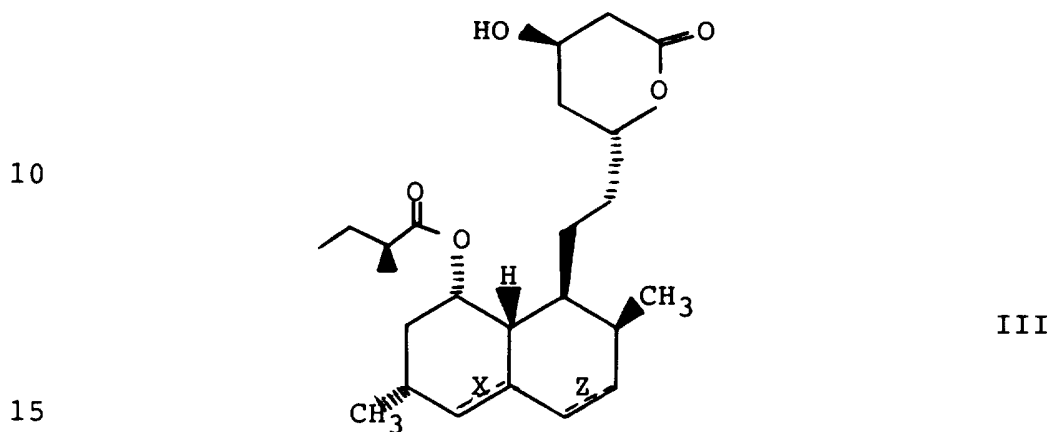


- jossa R on haarautumaton tai haarautunut C₁₋₉-alkyyli paitsi 2-(S)-butyyli, syklopropyyli, adamantyyli, C₄₋₆-alkenyyl, CF₃-substituoitu propyyli, p-fluorifenyyli tai bentsyyli; ja katkoviivat X ja Z tarkoittavat mahdollisia kaksoissidoksia, jotka milloin niitä esiintyy, ovat joko kohdissa X ja Z tai pelkästään kohdassa X; ja vastaavien 7-[8-asyylioksi-2,6-dimetyylipolyhydronaftyyli-1]-3(R),5(R)-dihydroksiheptaanihappojen valmistamiseksi, joilla on kaava II
- 20
- 25
- II

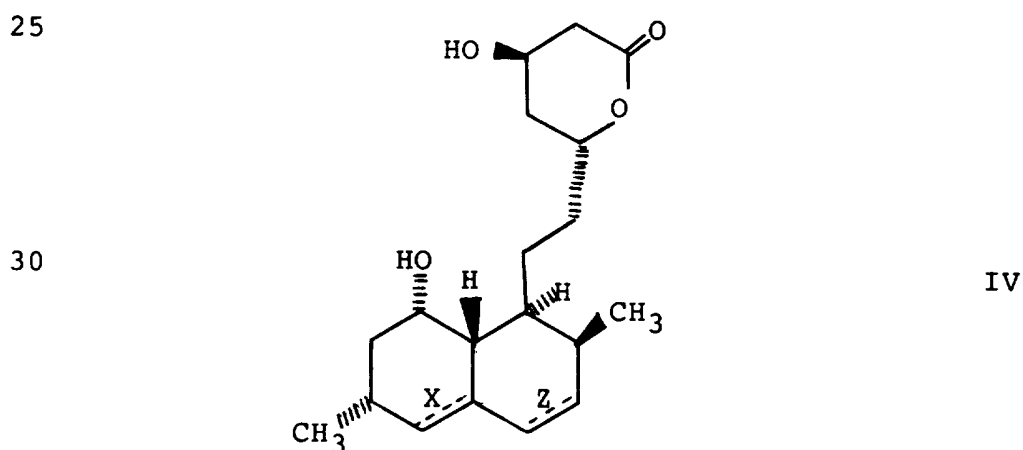


jossa R ja Z tarkoittavat samaa kuin kaavassa I, ja kaavan II mukaisten yhdisteiden alempialkyyliesterien tai 2,3-dihydroksipropyyliesterien valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että

5 1) kaavan III

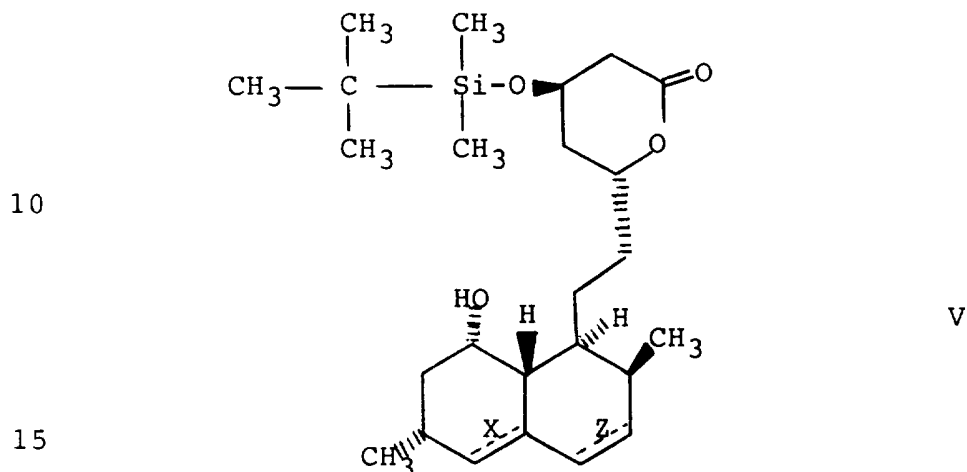


mukaista 6(R)-[2-(8-(2-metyylibutyryylioksi)-2,6-dimetyyli-
polyhydronaftyyli-1)-etyyli]-4(R)-hydroksi-3,4,5,6-tetra-
20 hydro-2H-pyran-2-onia kuumennetaan alkalimetallihydroksi-
din kanssa proottisessa liuottimessa, reaktioseos tehdään
happameksi ja tuote laktonisoidaan 6(R)-[2-(8-hydroksi-2,6-
25 dimetyylipolyhydronaftyyli-1)-etyyli]-4(R)-hydroksi-3,4,5,
6-tetrahydro-2H-pyran-2-oniksi, jolla on kaava IV



35

2) saatu kaavan IV mukainen yhdiste saatetaan reagoimaan tert.-butyylidimetyylikloorisilaanin kanssa inertissä suojakaasussa huoneen lämpötilassa happoa sitovan aineen läsnäollessa vastaavan suojatun yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava V

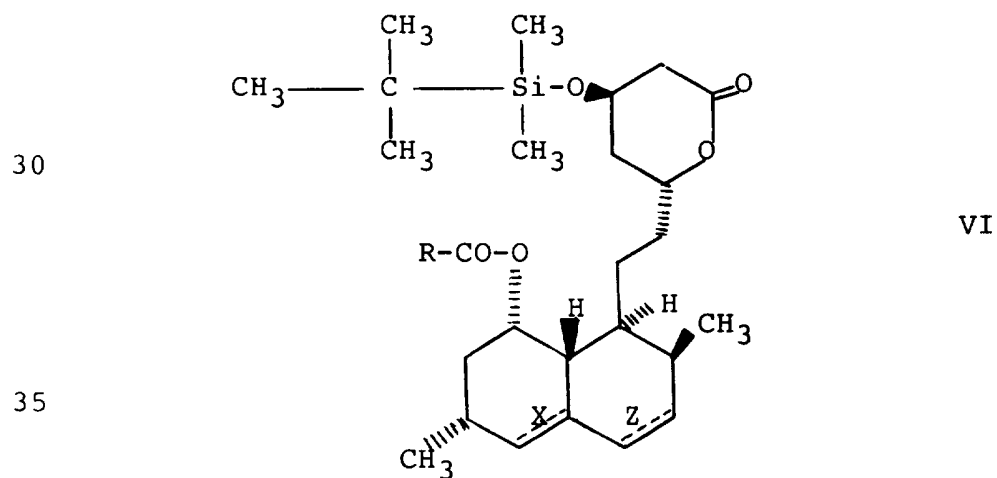


3) saatu kaavan V mukainen 4-tert.-butyylidimetyylisilyylioksiyhdiste asyloidaan

a) sekoittamalla sitä happokloridin RCOCl kanssa pyridiiniliuoksessa inertissä suojakaasussa asylointikatalysaattorin läsnäollessa, tai

b) sekoittamalla sitä huoneen lämpötilassa hapon RCOOH ja N,N-disykloheksyylikarbodiimidin kanssa liuoksessa asylointikatalysaattorin läsnäollessa, ja

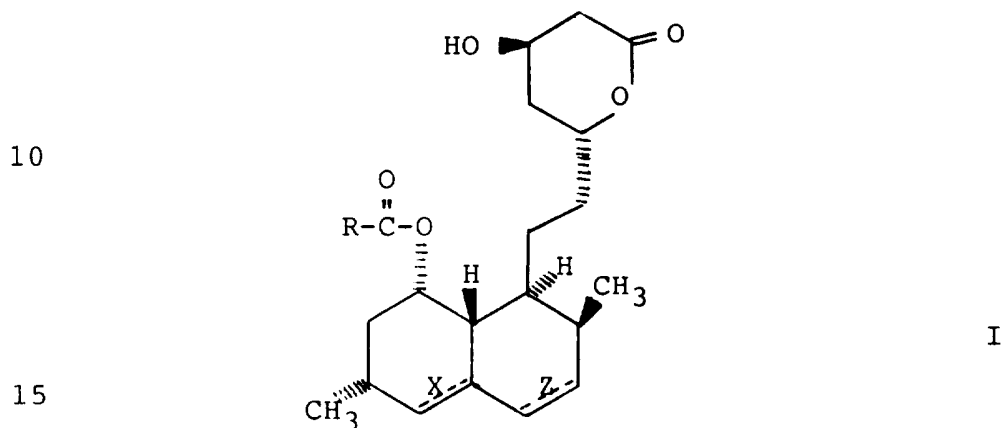
4) saadusta yhdisteestä, jolla on kaava VI



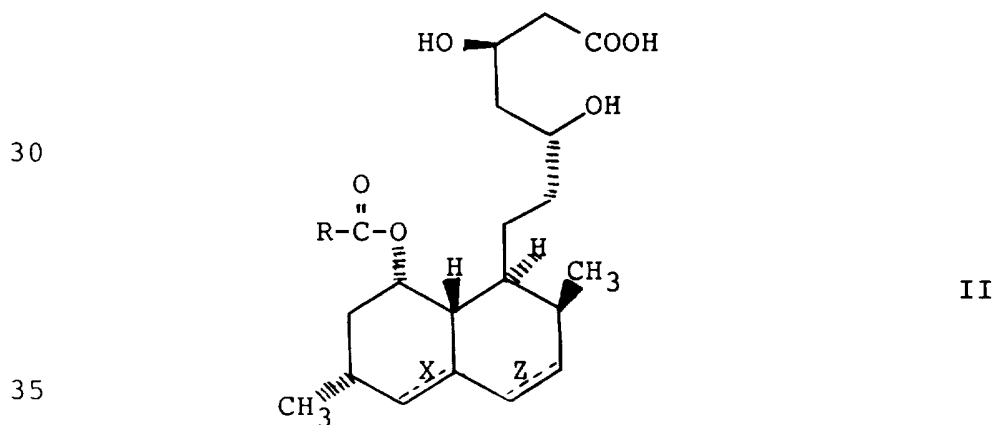
- poistetaan silyyliryhmä sekoittamalla silyyliyhdistettä huoneen lämpötilassa tetrahydrofuraanissa 3 ekvivalentin kanssa tetrabutyyliammoniumfluoridia ja 4 ekvivalentin kanssa etikkahappoa yhtä silyyliyhdisteen ekvivalenttia
- 5 kohti, ja haluttaessa hydrolysoidaan saatu kaavan I mukainen pyranonijohdannainen emäksellä vastaavaksi kaavan II mukaiseksi dihydroksiheptaanihapoksi tai sen suolaksi, ja haluttaessa muutetaan saatu kaavan II mukainen happo
- alempialkyyli- tai 2,3-dihydroksipropyliesterikseen.
- 10 2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n -
n e t t u siitä, että R on 1,1-dimetyylipropyli.
3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että kumpikaan symboleista X ja Z
ei tarkoita kaksoissidosta.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av terapeutiskt ak-
 5 4(R)-hydroxi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-oner med formeln
 I

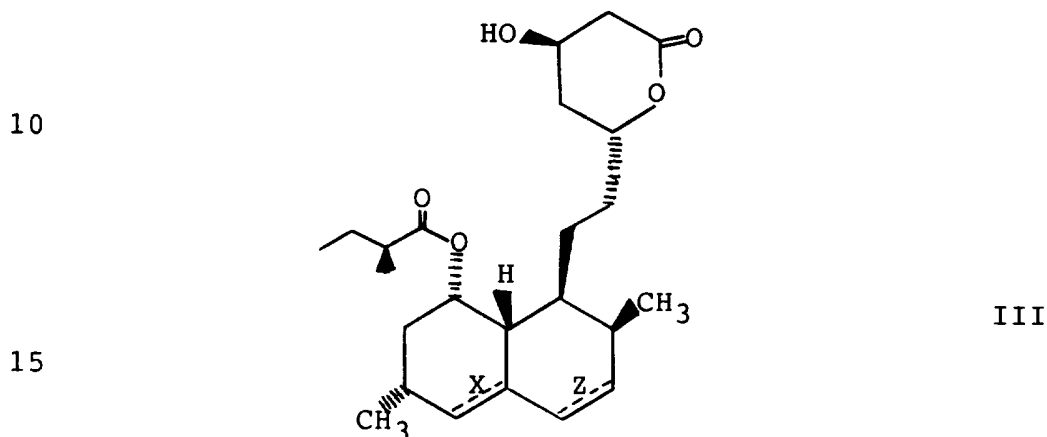


vari R är oförgrenad eller förgrenad C₁₋₉-alkyl förutom
 2-(S)-butyl, cyklopropyl, adamantyl, C₄₋₆-alkenyl, CF₃-
 20 substituerad propyl, p-fluorfenyl eller bensyl, och
 streckade linjerna X och Z betecknar eventuella dubbelbind-
 ningar, varvid nämnda dubbelbindningar, ifall närvarande,
 befinner sig antingen vid X och Z eller vid X allena; och
 motsvarande 7-[8-acyloxi-2,6-dimetylpolyhydronaftyl-1]-
 25 3(R),5(R)-dihydroxiheptansyror med formeln II,

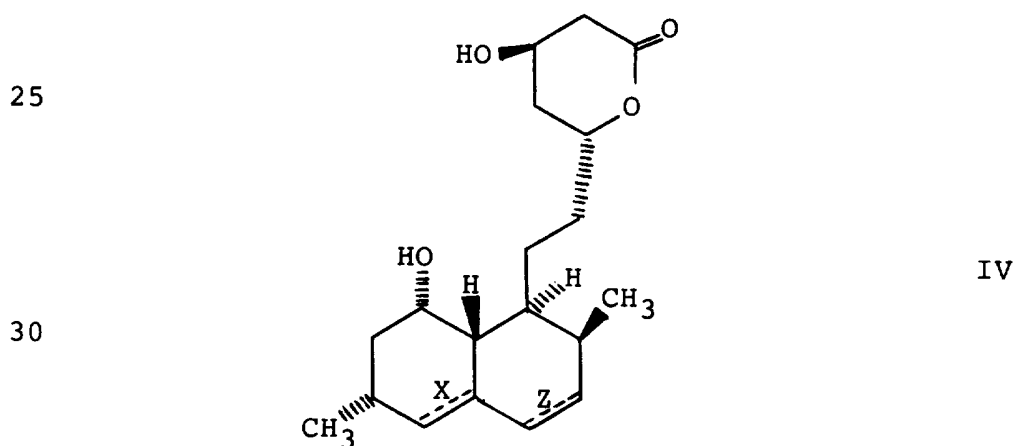


vari R, X och Z betecknar samma som i formeln I, och lägre alkylestrar eller 2,3-dihydroxipropylestrar av föreningar med formeln II, k ä n n e t e c k n a t d ä r a v , a t t m a n

- 1) uppvärmer 6(R)-[2-(8-(2-metylbutyryloxi)-2,6-dimetylpolyhydronafty-1)-etyl]-4(R)-hydroxi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on med formeln III

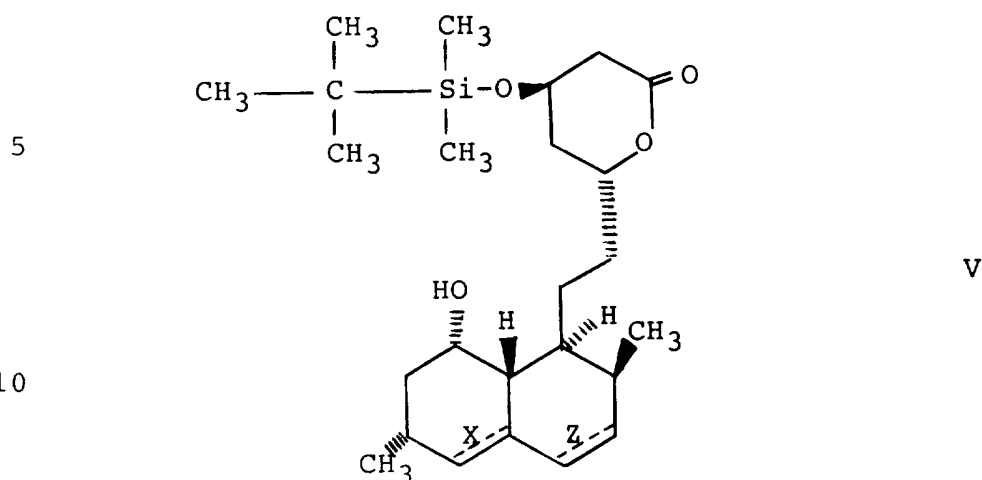


- med en alkalimetallhydroxid i ett protiskt lösningsmedel och surgör reaktionsblandningen och laktoniserar produkten för erhållande av 6(R)-[2-(8-hydroxi-2,6-dimetylpolyhydronafty-1)-etyl]-4(R)-hydroxi-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on med formeln IV



- 2) omsätter den erhållna föreningen med formeln IV med tert.-butyldimetylklorsilan under en inert skyddsgas vid rumstemperatur i närvaro av en syraacceptor för erhåll-

lande av en motsvarande skyddad förening med formeln V



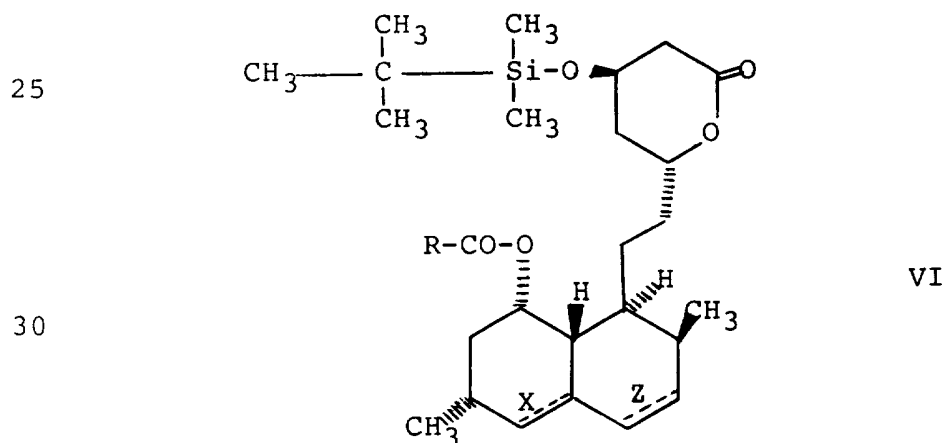
3) acylerar den erhållna 4-tert.-butyldimetylsilyloxiföreningen genom

15 a) omrörande av densamma i en lösning med en syraklorid RCOCl , i pyridinlösning i en inert skyddsgas i närvaro av en acyleringskatalysator, eller

b) omrörande av densamma i en lösning vid rumstemperatur med en syra RCOOH och N,N -dicyklohexylkarbodiimid i närvaro av en acyleringskatalysator, och

20

4) avlägsnar silylgruppen från den erhållna föreningen med formeln VI



35 genom omröring av silylföreningen vid rumstemperatur i tetrahydrofuran med 3 ekvivalenter av tetrabutylammoniumfluorid och 4 ekvivalenter av ättiksyra per en ekvivalent av

silylföreningen, och om så önskas, hydrolyserar det erhållna pyranonderivatet med formeln I med en bas till den motsvarande dihydroxiheptansyran eller ett salt därav, och om så önskas förvandlar den erhållna syran med formeln II till
5 en lägre alkyl- eller 2,3-dihydroxi-propylester därav.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att R är 1,1-dimetylpropyl.

3. Förfarande enligt patentkraven 1 eller 2,
k ä n n e t e c k n a t därav, att ingen av symbolerna X
10 och Z betecknar en dubbelbindning.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

-