



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP



(21) Patentansøgning nr.: 0461/81

(51) Int.Cl.⁴

C 07 C 69/30

C 07 D 309/30

(22) Indleveringsdag: 03 feb 1981

(41) Alm. tilgængelig: 05 aug 1981

(44) Fremlagt: 04 dec 1989

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 04 feb 1980 US 118049 04 feb 1980 US 118051 05 aug 1980 US 175232

05 aug 1980 US 175460

(71) Ansøger: *MERCK & CO. INC.; Rahway; New Jersey, US

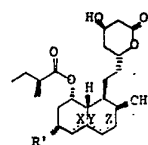
(72) Opfinder: Alvin K. *Willard; US, Robert L. *Smith; US, William F. *Hoffman; US

(74) Fuldmægtig: Plougmann & Vingtoft Patentbureau

(54) Fremgangsmåde til fremstilling af 6(R)-(2-(8'-acyloxy-2'-methyl-6'-methyl-(eller hydrogen)-polyhydronaphthyl-1'-)ethyl)-4-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-oner eller tilsvarende hydroxy syrer eller farmaceutisk acceptable salte af hydroxysyrerne eller C1-4alkylestere deraf eller phenyl-, dimethylamino- eller acetylaminosubstituerede alkylestere deraf

(56) Fremdragne publikationer

DK ans. nr. 2553/75 (136485)
EP off. g. skrift nr. 22478
DE off. g. skrift nr. 3006216
US pat. nr. 4137322, 4231938

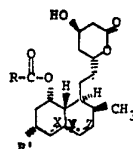


III

(57) Sammen drag:

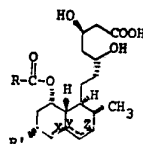
461-81

Pyranoner med formlen



I

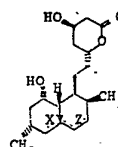
og de tilsvarende dihydroxysyrer med formlen



II

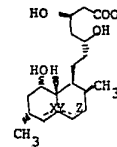
hvor R' er H eller CH₃, R er alkyl, cycloalkyl, alkenyl, trifluormethylsubstitueret alkyl, phenyl, halogenphenyl, eventuelt med halogen, alkyl eller alkoxy substitueret phenylalkyl, de stiplede linier ved X, Y og Z betegner eventuelle dobbeltbindinger, samt salte og estere af syrerne, fremstilles ved opvarmning af en forbindelse med formlen

med et alkalimetaldhydroxid efterfulgt af syring og lactonisering og herefter omsætning med t-butyldimethylchlorsilan, katalytisk acylering med enten et syrechlorid RCOCl eller en syre RCOOH og N,N-dichlorhexylcarbodiimid, efterfulgt af fjernelse af silylgruppen med tetrabutylammoniumfluorid og eddikesyre. Forbindelserne I og II inhiberer biosyntesen af kolesterol og er således nyttige antihypercholesterolemiske midler til behandling af atherosclerose og hyperlipæmia, og de er endvidere nyttige plantefungicider. Forbindelserne med formlerne



IV a-e

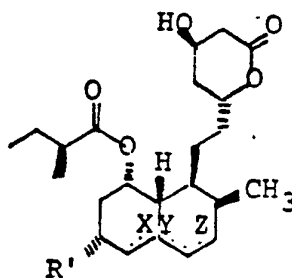
og



IV' a-e

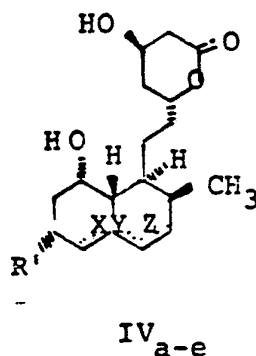
er nyttige mellemprodukter til brug ved fremstilling af de ovenfor definerede 8'-acyloxyforbindelser ved ovennævnte fremgangsmåde.

1) opvarmer en forbindelse med formlen III_{a-e}:



5 hvor R', X, Y og Z har de ovennævnte betydninger,
med et alkalimetallhydroxid i et protisk opløsningsmiddel efterfulgt
af syring og lactonisering til opnåelse af en forbindelse med form-
len IV_{a-e},

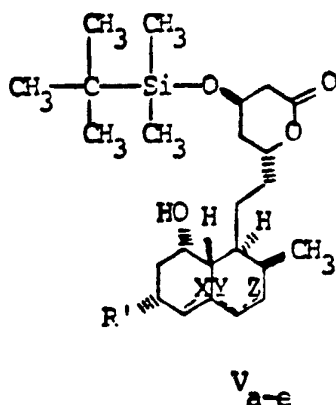
2) omsætter den dannede forbindelse med formlen IV_{a-e}:



10

hvor R', X, Y og Z har de ovennævnte betydninger,
med t-butyldimethylchlørsilan under en inert atmosfære ved omgivel-
sernes temperatur i nærværelse af en syreacceptor,

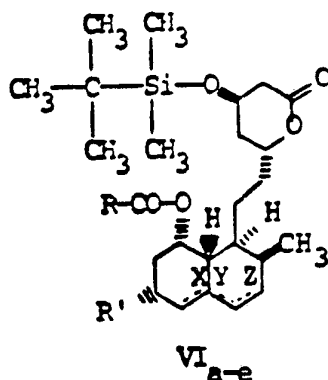
3) acylerer den resulterende 4-t-butyldimethylsilyloxyforbindelse med
15 formlen V_{a-e}



hvor R', X, Y og Z har de ovennævnte betydninger, ved

- 5 a) omrøring deraf i en opløsning med et syrechlorid med form-
len RCOCl, hvor R har den ovennævnte betydning, i pyridin i
en inert atmosfære i nærværelse af en acyleringskatalysa-
tor, eller
- 10 b) omrøring deraf i opløsning ved omgivelsernes temperatur med
en syre med formlen RCOOH, hvor R har den ovennævnte be-
tydning, og N,N'-dicyclohexylcarbodiimid i nærværelse af en
acyleringskatalysator, og

4) fjerner silylgruppen fra den dannede forbindelse med formlen VI_{a-e}



- 15 hvor R, R', X, Y og Z har de ovennævnte betydninger,
ved omrøring ved omgivelsernes temperatur i tetrahydrofuran i nærvæ-
relse af tre ækvivalenter tetrabutylammoniumchlorid og fire ækviva-
lenter eddikesyre pr. ca. 1 ækvivalent silylforbindelse til dannelse

af en forbindelse med formlen I_{a-e} som vist ovenfor, hvorpå man om ønsket hydrolyserer en forbindelse med formlen I_{a-e} med en base til opnåelse af et tilsvarende salt af den tilsvarende dihydroxysyre med den ovenfor angivne formel II_{a-e} , syrner et således dannet salt til
5 opnåelse af en tilsvarende fri dihydroxysyre, eller behandler en forbindelse med formlen I_{a-e} under sur eller basisk katalyse med en C_{1-4} -alkanol eller med en phenyl-, dimethylamino- eller acetylami-
noalkanol med 1-4 carbonatomer i alkylgruppen til dannelse af en tilsvarende ester af den tilsvarende dihydroxysyre med den ovenfor
10 angivne formel II_{a-e} .

Det er kendt, at visse mevalonatderivater inhiberer biosyntesen af kolesterol, jvf. F.M. Singer et al., Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 102, 370 (1959) og F.H. Hulcher, Arch. Biochem. Biophys., 146, 422 (1971). Ikke desto mindre har aktiviteten af disse kendte forbindel-
15 ser ikke altid vist sig at være tilfredsstillende, så de har ikke fundet praktisk anvendelse.

For nylig rapporterede Endo et al. (U.S. patentskrift nr. 4.049.495, patentskrift nr. 4.137.322 og patentskrift nr. 3.983.140) fremstillingen af fermenteringsprodukter, der var ret aktive ved inhiberingen
20 af kolesterol-biosyntese. Den mest aktive fra denne gruppe af naturligt forekommende produkter, nu benævnt compactin, III_a ($R'=H$), vist i tabel I, blev rapporteret af Brown et al. (J. Chem. Soc. Perkin I 1165 (1976)) som værende af kompleks mevalonolacton-struktur.

Senere rapporterede Monaghan et al. i U.S. patentskrift nr.
25 4.231.938, hvortil der henvises, en inhibitor, betegnet MK-803 og med formlen III_a ($R'=CH_3$ i tabel I, som blev isoleret fra en helt anden fermentering. Albers-Schonberg et al. (USSN 154.157, indleveret 28. maj 1980) beskrev et dihydroderivat af MK-803, betegnet III_d ($R'=CH_3$) i tabel I, med lige så stor styrke som MK-803, isoleret fra
30 samme fermentering som MK-803. Patchett et al. (USSN 118.050, indleveret 4. februar 1980) beskriver dihydro- og tetrahydroderivater af MK-803 med forskellige formler ($III_{b,c}$ og e ($R'=CH_3$) i tabel I), fremstillet ved katalytisk hydrogenering af MK-803.

I DK patentansøgning nr. 2553/75 beskrives fremstillingen af en forbindelse med betegnelsen ML236B ved dyrkning af *Penicillium citrinum*, hvilken forbindelse i én af betydningerne af R, hvor R er 2-methylbutyryloxy ($R' = H$), svarer til den som udgangsmateriale anvendte forbindelse med formlen III_a ($R' = H$). I USA patentskrift nr. 4.137.322 beskrives dihydroxysyrer af forbindelsen ML236B. I USA patentskrift nr. 4.231.938 beskrives fremstilling af en forbindelse med betegnelsen MSD803 (der også betegnes MK803) ved dyrkning af *Aspergillus terreus*, hvilken forbindelse svarer til forbindelsen med betegnelsen ML236B bortset fra, at R' er lig med CH_3 . I tysk offentliggørelsesskrift nr. 30 06 216 beskrives fremstillingen af en forbindelse med betegnelsen Monacholin K, der er den samme forbindelse som forbindelsen med betegnelsen MSD803, men som fås ved dyrkning af *Monascus ruber*. I europæisk offentliggørelsesskrift nr. 22478 beskrives fremstillingen af forbindelser svarende til ML236B og MSD803 samt dihydroxysyrer deraf.

I de fremdragne modhold beskrives således forbindelser, der anvendes som udgangsmaterialer til fremstilling af forbindelser med formlen I. For forbindelserne med formlen I er det påvist, at forbindelserne har en uventet nyttig virkning i forhold til den kendte forbindelse MSD803 (der også betegnes MK803) og de tilsvarende kendte derivater af denne forbindelse, jfr. tabel VI nedenfor.

En tetrahydro-analog III_e ($R'=H$) til compactin blev rapporteret og offentliggjort i japansk patentansøgning (Kokai) 55009-024.

Endnu senere blev en dihydro-analog af compactin med formlen III_d ($R=H$) isoleret fra compactin-fermenteringssubstrater som rapporteret af Gullo et al., (U.S. patentansøgning nr. 207.508, indleveret 17. november 1980).

Udgangsmaterialerne III_a og III_d ($R'=CH_3$) fremstilles som produkter fra fermentering af stammen *Aspergillus terreus*, ATCC nr. 20542, betegnet MF-4845 i kultursamlingen hos Merck & Co., Inc., Rahway, New Jersey, U.S.A.

Fremstilling af forbindelser III_a og III_d (R'=CH₃)

A. Fermentering

Et rør med lyofiliseret kultur MF-4845 blev åbnet aseptisk og indholdet suspenderet i en Erlenmeyer-kolbe på 250 ml (podekolbe) indeholdende ca. 10 ml medium, som havde følgende sammensætning:

	Majsstøbevaske	5 g
	Tomatpasta	40 g
	Havremel	10 g
	Glucose	10 g
10	Sporstofopløsning	10 g
	Destilleret vand	1000 ml
	pH 6,8 med NaOH	

Sporstofopløsning:

	FeSO ₄ ·7H ₂ O	1000 mg
15	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
20	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	200 mg
	Destilleret afioniseret vand	1000 ml

Den podede kolbe blev inkuberet i 24 timer ved 28°C på en omryster ved 220 omdr./min. (5 cm udslag). En 2 liters Erlenmeyer-kolbe indeholdende 500 ml af mediet blev derpå podet med 10 ml fra første trins fermenteringsvækst fra podeblandingen. Denne blev også omrystet i 24 timer ved 28°C.

En fermenteringsbeholder på 757 l af rustfrit stål blev derpå fyldt med 485 liter af et medium indeholdende:

Cerelose	4,5% vægt/vol.
Peptoniseret mælk	2,5% vægt/vol.
Autolyseret gær	0,25% vægt/vol.
Polyglycol P2000	0,25 vol.%

5 hvis pH var indstillet til 7,0. Der blev steriliseret 15 minutter ved 121°C. 1 liter fra det andet trin i det foregående blev derpå tilsat, og blandingen blev inkuberet ved 85 omdr./min. i 12 timer og derpå ved 130 omdr./min. i 84 timer ved 28°C med en luftstrøm af 2,36 l/s i 12 timer efterfulgt af 4,72 l/s i 84 timer.

10 B. Isolation

1. Ekstraktion

To portioner på 378,5 l helpræparat blev kombineret, syrnede under omrøring til pH 4,1 ved omhyggelig tilsætning af 800 ml koncentreret saltsyre, ekstraheret ved tilsætning af 284 l ethylacetat og yderligere omrøring i 2 timer.

Der blev derpå tilsat ca. 11,3 kg siliciumoxid-filterhjælp, og den totale opslæmning blev pumpet gennem en 61 cm filterpresse. Yderligere 284 l ethylacetat blev anvendt til at vaske pressekagen med og fortsatte ekstraktionen ved at vende pumperetningen gennem pressen fire gange. Derpå blev alt vaskeopløsningsmiddel udtaget fra pressen og kombineret med det første filtrat. Tofase-filtratet fik lov at sætte sig, og vandlaget blev fjernet. Ethylacetatlaget blev vasket med 38 l afioniseret vand, faserne fik lov at adskille, og ethylacetatekstrakterne blev koncentreret under vakuum til en rest på ca. 38 l.

2. Lactonisering

Ethylacetatekstrakter fra yderligere 1135,5 l substrat eller helpræparat blev sat til ovennævnte ekstrakt, og volumenet blev reduceret til ca. 114 l ved vakuumdestillation. Ca. 189 l toluen blev tilsat, og portionen blev koncentreret under vakuum til 121 l; dette trin blev gentaget; derpå blev der tilsat en tilstrækkelig mængde

frisk toluen til at bringe volumenet op på 284 l. Uden vakuum blev portionen bragt til tilbagesvaling og holdt der i 2 timer ved en temperatur over 106°C.

Denne opløsning blev derpå koncentreret under vakuum til et lille
5 volumen, som blev yderligere koncentreret til en olieagtig rest i en stor roterende inddamper under vakuum.

3. *Chromatografi på silicagel*

Den i det foregående opnåede ekstrakt blev skyllet fri for andre opløsningsmidler ved tilsætning af 7,6 l methylenchlorid og rekonsen-
10 trering til en olie.

Den olieagtige rest blev opløst i ca. 19 l ethylacetat/methylenchlorid (30/70, vol./vol.) blanding, og en opslæmning blev fremstillet ved tilsætning af 2,8 kg silicagel. Opslæmningen blev som et lag ført til toppen af en 30,5 cm x 127 cm silicagel-søjle pakket i samme opløsningsmiddelblanding.
15

Der blev elueret med ethylacetat/methylenchlorid (40/60, vol./vol.) ved 800 ml/min. Der var et forløb på 38 l efterfulgt af yderligere fraktioner på hver 15 l, der blev opsamlet.

Fraktionerne 6 til 10 inklusive blev koncentreret under vakuum til en
20 olieagtig rest, som blev opløst i varm ethylacetat, behandlet med aktivt kul, filtreret varmt og afkølet. Krystaller af forbindelse III₂ (R'=CH₃) blev frafiltreret og moderluden blev koncentreret til en olie til yderligere chromatografi. Ren III₂ (R'=CH₃) har et smeltepunkt på 170-171°C.

25 4. *Rechromatografi på silicagel*

Moderludsresterne fra tilsvarende helpræparatekstrat-oparbejdnings-
svarende til yderligere 2271 l fermenteringsproduktion blev kombineret med ovennævnte i methylenchloridopløsning. Halvdelen af denne opløsning blev udtaget til yderligere silicagel-chromatografi. En
30 lille alikvot viste et totalt indhold af fast stof på 325 g. Opløs-

ningen blev behandlet med 40 g aktivt kul, filtreret og filterkagen skyllet med methylenchlorid. Kombinationen af filtrat og vaskevæske blev koncentreret under vakuum til en olieagtig rest. Denne blev genopløst i 800 ml ethylacetat/methylenchlorid (30/70, vol./vol.) og opslåmmet med 225 g silicagel. Opslæmningen blev ført til toppen af et 14 x 36 cm søjleleje af silicagel pakket i samme opløsningsmiddelblanding. Udvikling skete med ethylacetat/methylenchlorid (40/60, vol./vol.). Et forløb på 3 liter blev sat til side, hvorpå fraktioner på hver 800 ml blev samlet.

10 5. *Chromatografi på omvendt-fase pakning*

40 ml fra fraktion 12 fra ovennævnte chromatografi blev koncentreret til en olie, der vejede 500 mg, og olien blev genopløst i 5 ml acetonitril. Denne acetonitrilopløsning blev ført til en 1,6 cm (ydre diameter) x 183 cm lang chromatografikolonne af rustfrit stål pakket med præparativ omvendt-fase væskechromatografi-kolonnepakningsmateriale "Bondapak C18/PorasilB" (Waters Associates, Inc., Milford, Mass. 01757). Kolonnen blev elueret med en blanding bestående af 55 vol.% acetonitril og 45 vol.% 0,05 M ammoniumphosphat pH 3. Elueringsvolumenet mellem 1360 ml og 1700 ml blev kombineret på basis af refraktionsindexbestemmelse. Det organiske opløsningsmiddel blev fjernet i vakuum, og den resterende vandige opløsning blev ekstraheret med ethylacetat. Fjernelse i vakuum af ethylacetat efterlod 120 mg af en forbindelse, som udkrystalliserede fra en koncentreret acetonitrilopløsning, hvilket gav krystaller af forbindelse III_d (R'=CH₃), smp. 129-131°C.

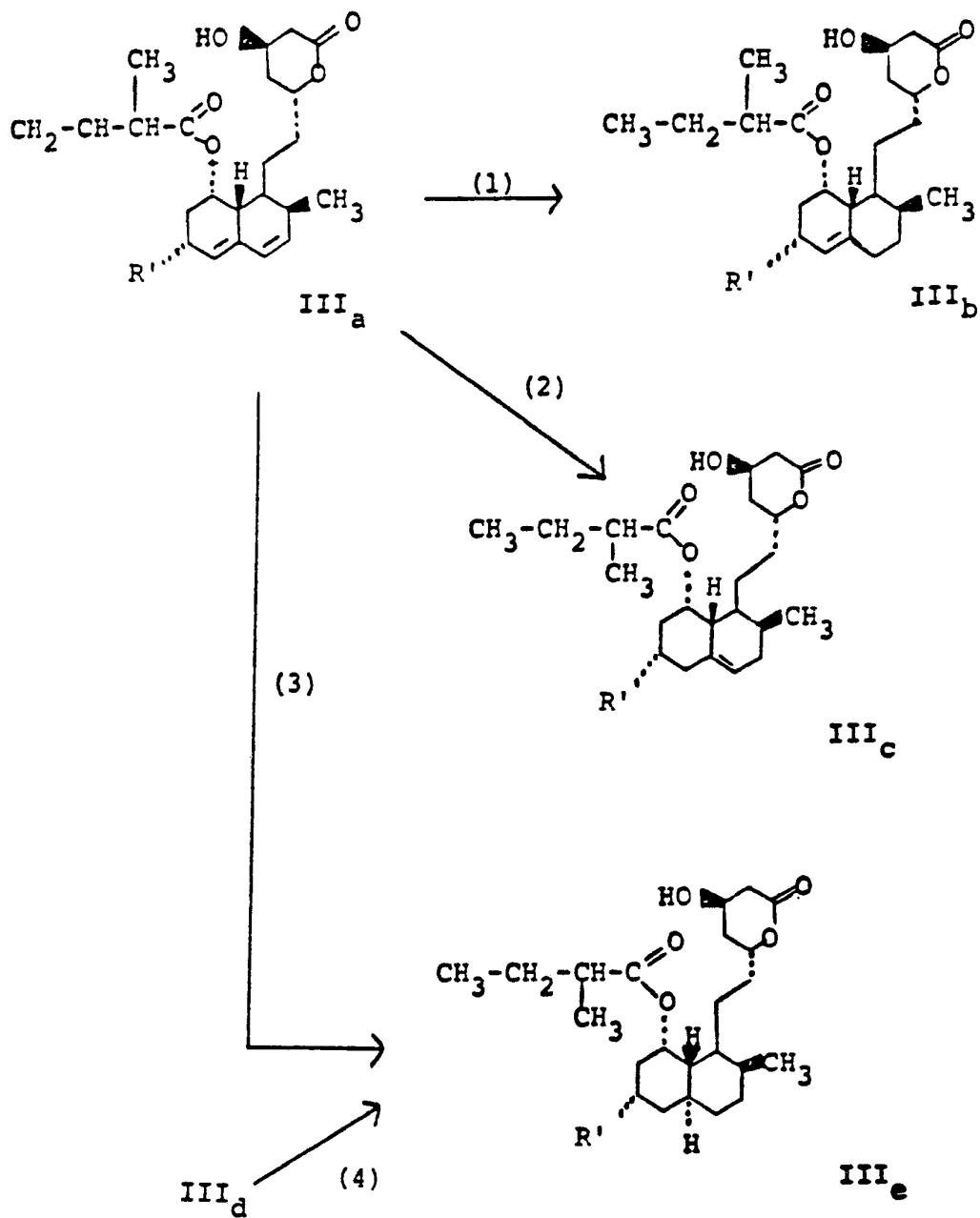
Fremstilling af forbindelser III_{b,c,e}

Udgangsmaterialer III_b, III_c og III_e (R'=CH₃) fremstilles efter følgende reaktionsskema og præparative metoder.

De desmethylanaloge III_b, III_c og III_e (R'=H) opnås i det væsentlige som beskrevet af Fatchett et al., men ud fra III_a (R'=H) i hvert tilfælde.

Til fremstilling af forbindelse III_e er det fordelagtigt at reducere forbindelse III_d, eftersom den ønskede transfusion af perhydronaphthalenringen, der er til stede i udgangsmaterialerne, bibeholdes i slutproduktet, og man behøver ikke adskille isomere.

REAKTIONSSKEMA



Reaktioner og reagenser

1. Hydrogenering ved ca. 20-75°C og omtrent atmosfærisk tryk til ca. 4 atmosfærer over tris(triphenylphosphin)chlorrhodium i et aromatisk opløsningsmiddel, såsom benzen, toluen eller xylen, foretrukket 5 toluen. Foretrukne betingelser er ca. 40°C og ca. 2-7 atmosfærer i toluen.
2. Hydrogenering ved ca. 20-25°C og omkring atmosfærisk tryk over 5%'s palladium på calciumcarbonat i en lavere alkanol, såsom en alkanol med 1-3 carbonatomer, specielt ethanol.
- 10 3. Hydrogenering ved ca. 20-25°C og atmosfærisk tryk over platinoxid i ethylacetat.
4. Hydrogenering ved 20-25°C og atmosfærisk tryk over 10%'s palladium på kul i ethylacetat.

Hydrogeneringen forklares nærmere ved hjælp af de efterfølgende 15 eksempler.

EKSEMPEL A

$6\alpha[2-(8'\beta-2-(S)\text{-methylbutyryloxy-}2'\beta,6'\alpha\text{-dimethyl-}1',2',3',4',6',7',-8',8a'\text{-octahydronaphthyl-}1)\text{ethyl}]-4\beta\text{-hydroxy-}3,4,5,6\text{-tetrahydro-}2H\text{-pyran-}2\text{-on, III}_b (R'=\text{CH}_3)$.

- 20 En blanding af 50 mg (0,1236 mmol) forbindelse III_a (R'=CH₃) og en lige så stor molar mængde (114,35 mg, 0,1236 mmol) tris(triphenylphosphin)chlorrhodium i 10 ml tør toluen blev hydrogeneret ved stuetemperatur i 6 dage med en total optagelse af 14,6 ml hydrogen. Blandingen blev inddampet til tørhed i vakuum. Den røde rest blev 25 underkastet præparativ tyndtlagschromatografi på sølvnitratimprægnerede silicagelplader og blev udviklet to gange i 10%'s ethylacetat/ether-system. Udbyttet af forbindelse III_b (R'=CH₃) var 22,3 mg.

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

NMR (CDCl₃, 300 MHz)

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

EKSEMPEL B

10 6α[2-(8'β-2-(S)-methylbutyryloxy-2'β,6'α-dimethyl-1',2',3',5',6',7',-
 8a'-octahydronaphthyl-1)ethyl]-4β-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-
 pyran-2-on, III_C (R'=CH₃).

En opløsning af 80,91 mg (0,2 mmol) forbindelse III_a (R'=CH=) i 10 ml
 absolut ethanol blev i nærværelse af en lige så stor vægtmængde 5%'s
 15 Pd-på-CaCO₃ hydrogeneret ved 1 atmosfære indtil en optagelse af 1
 molækvivalent hydrogen var iagttaget. Katalysatoren blev derpå fjer-
 net ved filtrering, og filtratet blev inddampet til tørhed (81 mg).
 Efter rensning ved præparativ tyndtlagschromatografi til fjernelse af
 en lille smule biprodukt af tetrahydroforbindelsen blev der isoleret
 20 72 mg af 1,4-reduktionsproduktet under III_C (R'=CH₃).

Massespektrum (M/e) 406 (m⁺)
 304 (m-102)
 286 (304-H₂O)

NMR (CDCl₃, 300 MHz)

25 δ 4,38 (m, 1H)
 4,64 (m, 1H)
 5,28 (d af t, J = 3,5 Hz, 1H)
 5,48 (m, 1H)

EKSEMPEL C

6 α -[2-(8' β -2(S)-methylbutyryloxy-2' α ,6' β -dimethyl-1',2',3',4',4' $\alpha\alpha$, -5',6',7',8',8a'-decahydronaphthyl-1)-ethyl]-4 β -hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, III_e (R'=CH₃).

- 5 En opløsning af 80,91 g (0,2 mmol) forbindelse III_a (R'=CH₃) i 10 ml ethylacetat blev hydrogenet i nærværelse af en lige så stor vægtmængde platinoxid ved 1 atmosfæres tryk. Inden 1 time var der optaget nøjagtig 2 molækvivalenter hydrogen. Katalysatoren blev fjernet ved filtrering, og filtratet blev koncentreret til tørhed til opnåelse af
- 10 en olie. De cis- og trans-isomere blev adskilt ved præparativ tyndtlagschromatografi på silicagelplader (10%'s ethylacetat/ethersystem, bånd iagttaget ved vandpåsprøjtning). Den trans-isomere III_e (R'=CH₃) forekommer som den mere polære plet, sammenlignet med den cis-isomere, og der blev isoleret 60 mg.

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

NMR (CDCl₃, 300 MHz)

	δ	4,36 (bred singlet, 1H)
20		4,59 (m, 1H)
		5,19 (d af t, J = 2,5 Hz, 1H)

EKSEMPEL D

Fermentativ produktion af forbindelse III_d (R'=H)

- 25 Et naturligt isolat af *Penicillium citrinum*, NRRL 8082 blev anvendt til fremstilling af en gær/malt-ekstrakt (YME) skråkultur, som blev inkuberet i 2 uger ved 28°C.

En del af skråkulturen (en femtedel) (MF-4870a) blev anvendt til at pøde hver af 5 podekolber (250 ml) indeholdende 44 ml KF-podemedium med CaCl₂. De blev inkuberet i 3 dage ved 28°C og 220 omdr./min. En

portion af podevæksten (ca. 1,5 ml) blev anvendt til at pode hver af 100 produktionsmediumkolber (250 ml uden ledeplader) indeholdende 40 ml LM-produktionsmedium uden maltekstrakt. Produktionskolberne blev inkuberet i 4 dage ved 25°C.

- 5 En anden gruppe produktionsmediumkolber (140), hver indeholdende 40 ml LM-produktionsmedium uden modifikation blev podet og inkuberet under samme betingelser som tidligere beskrevet. Substraterne eller fermenteringspræparaterne fra begge fermenteringer blev kombineret.

De forskellige medier, der er anvendt i de foregående fermenteringer er:

YME-skråkultur

	Dextrose	4 g/liter
	Maltekstrakt	10 g/liter
	Gærekstrakt	4 g/liter
15	Agar	20 g/liter
	Destilleret vand	til 1 liter
	pH	7,0

KF-podemedie med CaCl₂

	CaCl ₂	10 g
20	Majsstøbevæske	5 g
	Tomatpasta	40 g
	Havremel	10 g
	Cerelose	10 g
	Sporstofblanding	10 ml
25	Destilleret vand	1000 ml
	pH	6,8

Sporstofblanding

	FeSO ₄ ·7H ₂ O	1 g
	MnSO ₄ ·4H ₂ O	1 g
	CuCl ₂ ·2H ₂ O	25 mg
5	CaCl ₂	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
	Destilleret vand	1000 ml

10 *LM-produktionsmedium uden maltekstrakt*

	Dextrose	20 g
	Glycerol	20 ml
	Ardamin pH	10 g
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	8 mg
15	Polyglycol p 2000	0,25%
	Destilleret vand	1000 ml
	pH	7,0

LM-produktionsmedium uden modifikation

	Dextrose	20 g
20	Glycerol	20 ml
	Ardamin pH	10 g
	Maltekstrakt	20 g
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	8 mg
	Polyglycol p 2000	0,25%
25	Destilleret vand	1000 ml
	pH	7,0

B. Isolation

30 Det kombinerede helpræparat (10,3 liter) blev filtreret, og myceliekagen blev vasket med 2,5 liter afioniseret vand. Kombinationen af filtrat og vaskevæske blev indstillet til pH 4 med 1 N saltsyre. Den vandige opløsning blev ekstraheret med 7 liter ethylacetat, og ekstrakten blev vasket tilbage med 3 x 2 liter vandig natriumhydroxidopløsning. Den kombinerede natriumhydroxidopløsning blev indstillet til pH 3,8 med 1 N saltsyre og ekstraheret med 2 liter og 1 liter ethyl-

acetat. Den kombinerede ethylacetatopløsning blev tørret over vandfri Na_2SO_4 , filtreret og koncentreret til tørhed. Den olieagtige rest blev opløst i toluen og kogt under tilbagesvaling i 1 time. Toluenuopløsningen blev koncentreret til tørhed, og resten blev opløst i 18 ml af en blanding af n-hexan/toluen/methanol (4/1/1 efter volumen). Denne opløsning blev ført til en 30 mm (ID) x 40 cm Sephadex® LH20 søjle bragt i ligevægt i samme opløsningsmiddelsystem. Efter eluering med 300 ml opløsningsmiddel blev der opnået en 10 ml fraktion, som blev koncentreret til en olie. HPLC-chromatografi på en ES Industries "Chromega"® søjle eller kolonne (9 mm x 50 cm) under anvendelse af en blanding af acetonitril/vand (60/40 efter volumen) som elueringsmiddel gav 45 mg dihydrocompactin (forbindelse III_d, R'=H), molvægt 392,2560 ved massespektrum (beregnet for $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_5$, 392,2558).

I KBr er hoved IR-spidserne fra en Fourier Transform -IR (FTIR, Nicolet, model 7199) ved 1724, 1704, 1258, 1078 og 1070 cm^{-1} . Af betydning er en spids ved 3005 cm^{-1} og fraværet af en spids ved 3030 cm^{-1} .

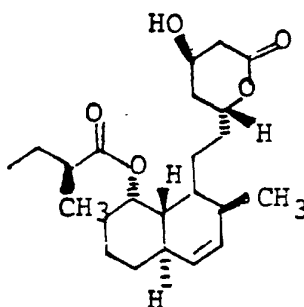
NMR spektrum blev opnået i CDCl_3 (ca. 1 mg/0,5 ml) på et Varian SC-300 superledende NMR-spektrometer. I det følgende angives spidspositionerne i ppm (δ) i forhold til den indre reference tetramethylsilan (TMS).

	δ	Tilskrives
	5,62 d,d,d (2,17, 4,5, 10,0)	H ₃ ' (eller 4')
	5,43 d (10)	H ₄ ' (eller 3')
5	5,20 m	H ₈ '
	4,63 m	H ₆
	4,39 m	H ₄
	2,75 d,d (17,5, 5,5)	
	2,63 d,d,d (17,5, 4,0, 1,5)	3-CH ₂
10	2,39 m	CH ₃ HCC=O
	2,29 m	H _{4a} ' + H ₂ '
	1,14 d	CH ₃ CHC=O
	0,90 t	CH ₃ CH ₂
	0,84 d	2'-CH ₃

15

d: doublet; m: multiplet; t: triplet

Sandsynligheden indikerer, at strukturen er:



- 20 Det har nu vist sig, at α -methylbutyrylgruppen i forbindelse III_a og hydroderivater III_{b-e}, kan fjernes helt til fremstilling af en række 6(R)-[2-(8-hydroxy-2-methyl-6-methyl-(eller hydrogen)-polyhydrønaphthyl-1)ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-oner, som er yderst nyttige som mellemprodukter til fremstillingen af de her om-
- 25 handlede hidtil ukendte estere, der er endnu kraftigere til inhibering af kolesterol syntese.

Fremstillingen af de hidtil ukendte alkoholer udføres ved at opvarme estrene III_{a-e} (R'=CH₃) med et alkalimetahydroxid, såsom lithiumhydroxid, kaliumhydroxid eller natriumhydroxid i et protisk opløs-

ningsmiddel, såsom vand eller alkoholer i forlænget tid. Foretrukket er lithiumhydroxid i vand ved tilbagesvaling i 50 til 72 timer eller under tryk ved højere temperaturer på 120 til 180°C i kortere tidsrum på 8 til 24 timer.

- 5 Pyranonringen åbnes let, men fjernelsen af sidekæde-acylgruppen udføres ikke let. Opvarmningen må være forlænget, og/eller der må anvendes tryk. En inert atmosfære er også til hjælp. Det er helt uventet, at molekyler med så mange yderst følsomme funktionelle centre kan modstå de hårde betingelser, der er nødvendige til fjernelse af den i
- 10 høj grad hindrede α -methylbutyrylgruppe. Det er specielt uventet at finde de høje udbytter.

I tilfældet med forbindelser III_{a-e} (R'=H) er hydrolysen af 8'-estrene dog meget lettere at udføre til fuldendelse på ca. 20 timer til opnåelse af IV_{a-e} (R'=H).

- 15 Forbindelsen IV_a (R'=H) er kendt som ML-236A som rapporteret af Endo et al. i US patentskrift nr. 3 983 140. ML-236A fås ved dyrkning af en mikroorganisme tilhørende slægten *Penicillium* (SANK 18767) i et dyrkningsmedium og isolering af forbindelsen fra dyrkningsvæsken.

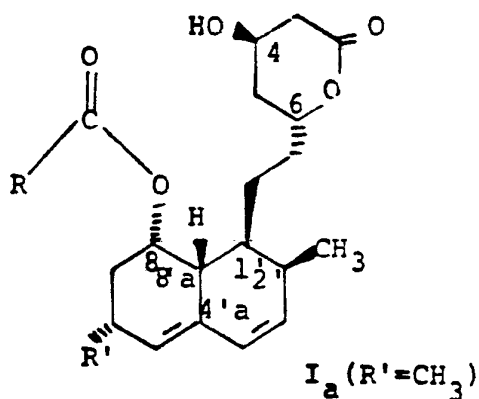
- 20 Produkterne kan isoleres ved syrning og ekstraktion med organiske opløsningsmidler, som giver trihydroxysyren af forbindelserne IV_{a-e}. Disse trihydroxysyrer genlactoniseres, fx ved opvarmning af en opløsning af syren i et passende organisk opløsningsmiddel, såsom toluen eller benzen, i et apparatur, der tillader kontinuerlig fraskillelse af det dannede vand.

- 25 Disse alkoholer har formlerne IV_{a-e}.

Det har vist sig, at 8'-hydroxyforbindelserne med formlen IV kan acyleres til opnåelse af en hidtil ukendt række 8-acyloxyforbindelser med formlerne I og II med tilhørende definitioner. Disse hidtil ukendte forbindelser er inhibitorer for kolesterol-syntese in vivo.

- 30 Den absolutte konfiguration af disse forbindelser kendes fra røntgen-diffraktionsanalyse. Tabel I giver en tabelopstilling af disse struk-

turer og deres stereokemiske forhold. Referencetallene til de forskellige forbindelser, herunder dem til de forskellige rækker polyhydronaphthyl-formler, forbliver de samme i hele beskrivelsen. Hver af estrene I_{a-e} ($R'=CH_3$) fremstillet ifølge opfindelsen indeholder 7 eller 8 kirale centre. Den relative og absolutte konfiguration af disse asymmetriske centre er angivet i tabel I. For ester I_a ($R'=CH_3$) er Cahn, Ingold, Prelog-betegnelserne for de absolutte konfigurationer specifikt angivet som 4(R), 6(R), 1'(S), 2'(S), 6'(R), 8'(S) og 8a'(R) [R.S. Cahn, C. Ingold and V. Prelog, Angew. Chem. Int. Ed., 5, 385 (1966)].

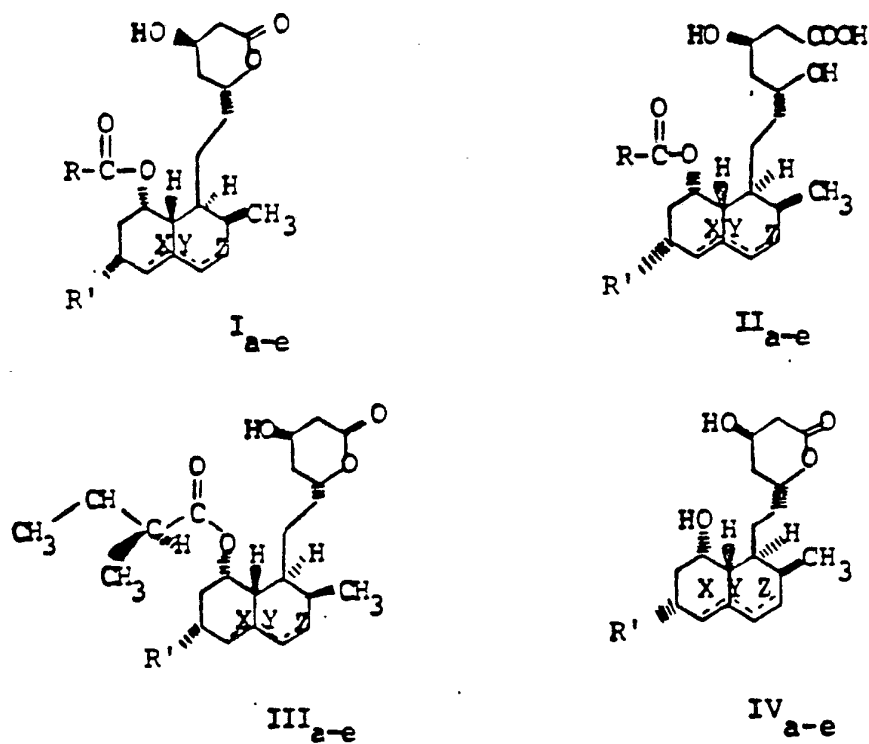


Som angivet i formlerne I_{a-e} har alle disse forbindelser samme rumorientering for grupper ved hvert kiralt carbonatom og tilhører derfor samme stereokemiske række. R-S-betegnelsen for hvert center behøver ikke være identisk med den, der findes for esteren I_a ($R'=CH_3$) på grund af detaljerne for sekvensreglerne, der er anvendt ved den bestemmelse. I de to estere I_d og I_e , som har et yderligere kiralt carbonatom, der ikke findes i esteren I_a , er hydrogenatomet ved 4a' nedadrettet (eller i α -stilling) som vist i tabel I, hvilket giver trans-ringkonfiguration.

TABEL I

Forbindelserne fremstillet ifølge opfindelsen,
udgangsmaterialerne og nogle af mellemprodukterne
og deres stereokemiske forhold

5



R' = H eller CH₃

Stereokemi for hydronaphthylrækken

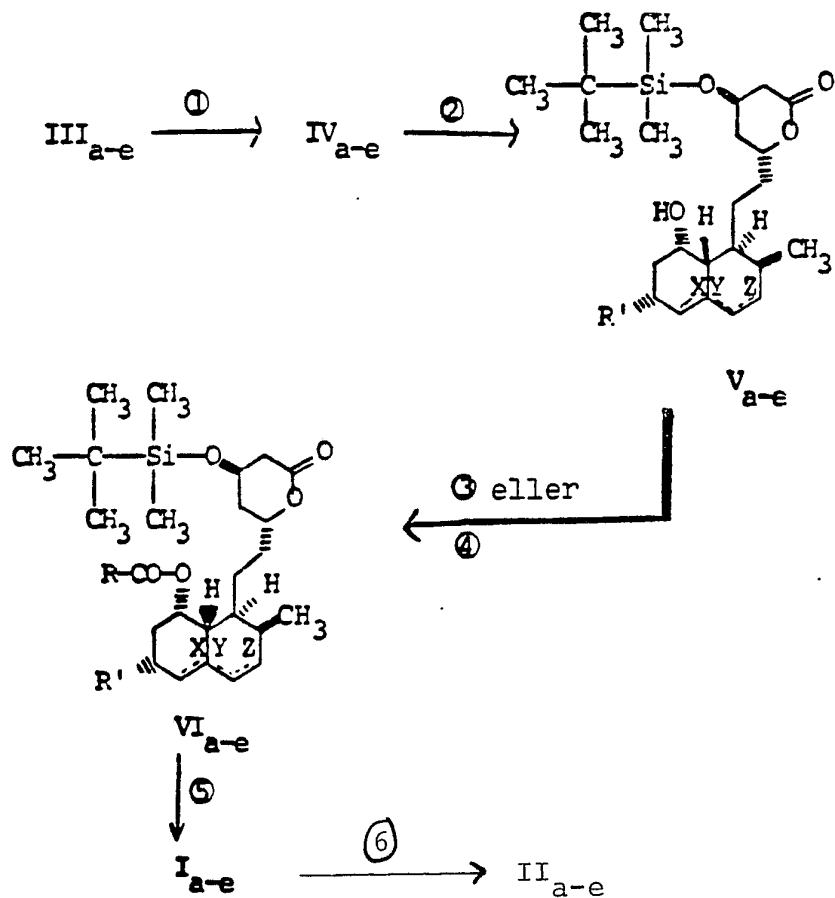
Række	Dobbelbindinger	Struktur
10	a	X og Z
	b	X
	c	Y
	d	Z
	e	ingen

De ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen fremstillede 8'-acyloxyforbindelser, hvor R er lige eller forgrenet alkyl med 1-10 carbonatomer, er nyttige som antihypercholesterolæmiske midler til behandling af atherosclerose, hyperlipæmia og lignende lidelser hos mennesker.

- 5 De kan administreres oralt eller parenteralt i form af en kapsel, en tablet, et injicerbart præparat eller lignende. Det er sædvanligvis ønskeligt at anvende den orale vej. Doser kan afhængigt af alderen, alvoren, legemsvægten og andre tilstande hos patienterne varieres, men daglige doser for voksne ligger i området ca. 2 til 2000 mg
- 10 (foretrukket 10 til 100 mg) indgivet i tre eller fire opdelte doser. Højere doser kan med fordel anvendes efter behov.

Fremstillingen af forbindelserne fremstillet ifølge opfindelsen beskrives ved hjælp af reaktionsskema A.

REAKTIONSSKEMA A



Definitioner - X, Y, Z, R og R' har den tidligere angivne betydning,
 5 og a - e er defineret i forbindelse med tabel I.

Reaktioner

- 1) Alkalimetallhydroxid, opvarmning i et protisk opløsningsmiddel, syrning og lactonisering.
- 2) t-Butyldimethylchlorsilan ved omgivelsernes temperatur i en inert
 10 atmosfære i nærværelse af en syreacceptør.
- 3) Behandling med RCOCl i pyridinopløsning i nærværelse af en acyle-
 ringskatalysator under en inert atmosfære.

4) Behandling med RCOOH og N,N'-dicyclohexylcarbodiimid i nærværelse af en acyleringskatalysator, foretrukket under en inert atmosfære.

5) Tre ækvivalenter tetrabutylammoniumfluorid og fire ækvivalenter eddikesyre pr. ca. 1 ækvivalent ester i tetrahydrofuran, foretrukket i en inert atmosfære.

6) Vandig alkali efterfulgt af omhyggelig syrning med fortyndet syre.

Med den nye fremgangsmåde ifølge opfindelsen beskyttes 4-hydroxylgruppen på pyranonringen i alkoholerne IV_{a-e} først med en t-butyldimethylsilylgruppe ved omsætning med t-butyldimethylchlorsilan i en inert atmosfære ved omgivelsernes temperatur i nærværelse af en syre-acceptor, såsom imidazol, til tilvejebringelse af de beskyttede alkoholer V_{a-e}. 8-hydroxylgruppen på polyhydronaphthylringen acyleres derpå på én af to måder. Den første omfatter behandling med syrechloridet af den ønskede acylgruppe i pyridin, fx i nærværelse af 4-dimethylaminopyridin som katalysator. Den anden omfatter behandling af 8'-polyhydronaphtholen med den frie syre af den ønskede acylgruppe og N,N'-dicyclohexylcarbodiimid, fx med 4-pyrrolidinopyridin som katalysator i dichlormethan. Disse procedurer giver de beskyttende estre VI_{a-e}. Fjernelsen af silyl-beskyttelsesgruppen fra 4-hydroxylgruppen i pyranonringen udføres derpå under anvendelse af tre ækvivalenter tetrabutylammoniumfluorid og fire ækvivalenter eddikesyre pr. ækvivalent estere VI_{a-e}, til opnåelse af de ønskede forbindelser I_{a-e}. Forholdet mellem reagenser i sidste reaktion er kritisk for udbyttet for processen og renheden for produkterne.

25 De acylgrupper, der således påføres 8'-hydroxylgruppen, er sådanne, hvori R er lige eller forgrenet alkyl med 1 til 10 carbonatomer, bortset fra (S)-2-butyl.

Det foretrakkes, at R' er CH₃. Foretrukne definitioner for R er:

for-grenet alkyl med 3-10 carbonatomer, bortset fra (S)-2-butyl.

30 Foretrukne forbindelser er de, hvori R er 1,1-diethylpropyl, 1-ethyl-1-methylpropyl eller 1,1-dimethylpropyl. Det er særligt foretrukket,

at ingen af symbolerne X, Y eller Z er en dobbeltbinding. Alternativt er X og Z begge dobbeltbindinger.

Forbindelser I_{a-e} kan hydrolyseres med baser, såsom NaOH, til opnåelse af saltene, såsom natriumsaltet af forbindelser II_{a-e} . Anvendelsen af baser med andre farmaceutisk acceptable kationer giver salte af disse kationer. Omhyggelig syrning af saltene giver hydroxysyrerne II_{a-e} , som vender tilbage til forbindelserne I_{a-e} ved surt pH. Behandling af forbindelse I_{a-e} under sur eller basisk katalyse med methanol, ethanol, propanol eller butanol eller med phenyl-, dimethylamino- eller acetylaminoalkanoler med 1-4 carbonatomer i alkylgruppen giver de tilsvarende estere af forbindelser II_{a-e} , som også er fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen.

De farmaceutisk acceptable salte af forbindelserne fremstillet ifølge opfindelsen omfatter sådanne dannet ud fra kationer, som natrium, kalium, aluminium, calcium, lithium, magnesium, zink og tetramethylammonium, såvel som de salté, der dannes af ammoniak eller aminer, såsom ethylendiamin, N-methylglucamin, lysin, arginin, ornithin, cholin, N,N'-dibenzylethylendiamin, chlorprocain, diethanolamin, procain, N-benzylphenethylamin, 1-p-chlorbenzyl-2-pyrrolidin-1'-ylmethylbenzimidazol, diethylamin, piperazin og tris(hydroxymethyl)aminomethan.

Opfindelsen forklares nærmere ved hjælp af de efterfølgende eksempler.

EKSEMPEL 1

6(R)-[2-(8'(S)-2",2"-dimethylpropanoyloxy-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',6',7',8',8'a(R)-hexahydronaphthyl-1'(S))ethyl]-4-(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on.

Trin A: 6(R)-[2-(8'(S)-hydroxy-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',6',7',-
8',8a'(R)-hexahydronaphthyl-1'(S))ethyl]-4(R)-hydroxy-
3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, IV_a (R'=CH₃)

En blanding af 8,0 g (19,78 mmol) MK-803 (III_a, R'=CH₃) og 8,31 g
5 (197,8 mmol) LiOH.H₂O i 600 ml vand blev omrørt ved tilbagesvaling
under en nitrogenatmosfære i 56 timer. Reaktionsblandingen blev af-
kølet til 0°C og under omrøring behandlet med 20 ml koncentreret
saltsyre. Blandingen blev derpå ekstraheret med tre portioner ether
på hver 250 ml, og de kombinerede ekstrakter blev vasket successivt
10 med tre portioner vand på hver 200 ml og derpå med 200 ml mattet
saltvand. Efter tørring over MgSO₄ blev den organiske opløsning fil-
treret og opløsningsmidlet indampet i vakuum til opnåelse af en
olieagtig rest. Denne rest blev opløst i 200 ml toluen og opvarmet
ved tilbagesvaling under en nitrogenatmosfære i 2 timer med kontinu-
15 erlig fraskillelse af vand til bevirkning af relactonisering. Af-
dampning af toluenen og triturerering af resten med hexan gav 5,15 g
(81%) af titelforbindelsen IV_a (R'=CH₃) som et hvidt fast stof, som
ikke kræver yderligere rensning.

En analytisk prøve blev fremstillet ved omkrystallisering af en del
20 af dette materiale fra butylchlorid til opnåelse af hvide klynger
eller klaser, smp. 128-131°C (vakuum);

NMR (CDCl₃) δ 0,87 (d, 3, J = 7Hz, CH₃),
1,16 (d, 3, J = 7Hz, CH₃),
2,64 (m, 2, pyran C₃H'er),
25 4,27 (brm, 1, naphthalen C₈H),
4,37 (m, 1, pyran C₄H),
4,71 (m, 1, pyran C₆H),
5,56 (m, 1, naphthalen C₅H),
5,79 (dd, 1, J = 6,10 Hz, naphthalen C₃H),
30 6,03 (d, 1, J = 10 Hz, naphthalen C₄H);

IR (CHCl₃) 3400 (OH), 1725 (C=O),
1240, 1120, 1080 cm⁻¹.

Analyse beregnet for $C_{19}H_{28}O_4, 0,1C_4H_9Cl$: C 70,67, H 8,84

Fundet: C 70,77, H 8,75

Alternativ fremstilling af 6(R)-[2-[8'(S)-hydroxy-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',6',7',8',8a'(R)-hexahydronaphthyl-1'(S)]ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, IV_a (R'=CH₃)

En suspension af 188 mg (0,463 mmol) MK-803 (III_a, R'=CH₃) i 5 ml (5 mmol) vandig 1 N LiOH-opløsning omrystes 12 timer ved 135°C i en trykbeholder på 30 ml og af rustfrit stål. Den afkølede reaktionsblanding syrnes med 1 M H₃PO₄ og ekstraheres med ethylacetat. Ethylacetatopløsningen tørres (MgSO₄) og filtreres, og opløsningsmidlet afdampes. Resten opløses i 20 ml toluen, som opvarmes til tilbagesvaling i 4 timer i et Dean-Stark-apparat til bevirkning af genlactonisering. Afdampning af toluenen giver titelforbindelsen.

Trin B: Fremstilling af 6(R)-[2-(8'(S)-hydroxy-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',6',7',8',8'a(R)-hexahydronaphthyl-1'(S))ethyl]-4(R)-(dimethyl-tert.-butylsilyloxy)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, V_a (R'=CH₃).

En blanding af alkoholen IV_a (R'=CH₃) (18,3 g, 57,1 mmol) fra trin A, 21,5 g (142,8 mmol) tert-butyldimethylchlorsilan og 19,4 g (285,6 mmol) imidazol i 200 ml N,N-dimethylformamid blev omrørt ved 20°C under nitrogenatmosfære i 18 timer. Reaktionsblandingen blev derpå fortyndet med 1500 ml ether og vasket successivt med vand, 2%'s vandig saltsyre, vand og mættet natriumbicarbonat. Etheropløsningen blev tørret over MgSO₄, filtreret og reduceret til et volumen på 1 liter. Efter tilsætning af 600 ml hexan blev volumenet reduceret til 600 ml på et dampbad. Produktet udkrystalliserede ved stuetemperatur; efter isolering og lufttørring gav dette 13,7 g af et hvidt vatagtigt fast stof. Moderluden blev reduceret til 250 ml, og der blev isoleret et andet hold krystaller efter denne opløsnings henstand ved 0°C natten over. Det kombinerede udbytte var 17,13 g (69%) af titelforbindelsen som et hvidt vatagtigt fast stof, smp. 142-144°C (vakuum);

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, pyran C₃H'er), 4,3 (m, 2, pyran C₄H og naphthalen C₈H), 4,70 (m, 1, pyran C₆H), 5,57 (m, 1, naphthalen C₅H), 5,58 (dd, 1, J = 6,10 Hz, naphthalen C₃H), 6,03 (d, 1, J = 10 Hz, naphthalen C₄H).

Analyse beregnet for C₂₅H₄₂O₄Si:

C 69,08 H 9,74

Fundet: C 69,46 H 9,83

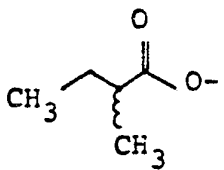
Trin C: Fremstilling af 6(R)-[2-(8'(S)-2",2"-dimethylpropanoyloxy-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',6',7',8',8'a(R)-hexahydronaphthyl-1'(S))ethyl]-4(R)-(dimethyl-tert-butylsilyloxy)-3,4,-5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, VI_a (R'=CH₃)

En opløsning af 6,0 g (13,8 mmol) af alkoholen V_a (R'=CH₃) fra trin B og 200 mg 4-dimethylaminopyridin i 50 ml pyridin blev afkølet til 0°C under en nitrogenatmosfære. Til den omrørte opløsning blev der sat 6,8 ml (6,65 g, 55,2 mmol) pivaloylchlorid i løbet af 15 minutter. Reaktionsblandingen blev omrørt ved 0°C i 1 time og derpå ved 20°C i 4 dage. Reaktionsblandingen blev fortyndet med 750 ml ether og vasket med 2%'s vandig saltsyre, indtil vaskevasken var sur, og med mættet NaHCO₃-opløsning. Efter tørring over MgSO₄ blev opløsningen filtreret og inddampet til opnåelse af 7,81 g af titelforbindelsen som en let orangefarvet olie:

NMR (CDCl₃) δ 0,09 (s, 6 (CH₃)₂Si),
0,88 (s, 9, (CH₃)₃CSi),
1,28 (s, 9, (CH₃)₃CCO₂-),
2,57 (d, 2, J = 4 Hz, pyran C₃H'er),
4,32 (m, 1, pyran C₄H),
4,63 (m, 1, pyran C₆H),
5,34 (m, 1, naphthalen C₈H),
5,54 (m, 1, naphthalen C₅H),
5,78 (dd, 1, J = 6,10 Hz, naphthalen C₃H),
6,03 (d, 1, J = 10 Hz, naphthalen C₄H).

Under anvendelse af en procedure som i det væsentlige beskrevet i eksempel 1, trin C, men ved at erstatte det deri anvendte pivaloylchlorid med en ækvimolekylær mængde af syrechloridet med formlen $R-COCl$ fremstilles esterne med formlen VI_a ($R'=CH_3$), der er angivet i tabel II.

Tabel II

$\begin{array}{c} O \\ \\ R-C-O \end{array}$	<u>NMR (CDCl₃, δ)</u>
$CH_3CO_2^-$	2,02 (s, 3, $CH_3CO_2^-$)
	1,19 (d, J=7Hz, $\alpha-CH_3$ ester) 1,21 (d, J=7Hz, $\alpha-CH_3$ ester) Total 3H
$(CH_3)_2CHCH_2CO_2^-$	0,83 (d, 6, J=6Hz, $(CH_3)_2CH-$)
$(CH_3)_2CHCO_2^-$	1,13 (d, 6, J=6Hz $(CH_3)_2CH$)
$CH_3(CH_2)_3CO_2^-$	0,95 (t, 3, J=7Hz, $CH_3-(CH_2)_3^-$)

10 Trin D: Fremstilling af 6(R)-[2-(8'(S)-2",2"-dimethylpropanoyloxy-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',6',7',8',8'a(R)-hexahydronaphthyl-1'(S))ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, I_a ($R'=CH_3$).

15 Til en opløsning af 10,0 g (31,7 mmol) $Bu_4N^+F^- \cdot 3H_2O$ og 2,4 ml (2,5 g, 42,3 mmol) eddikesyre i 50 ml tetrahydrofuran blev der sat 7,81 g (13,8 mmol) af silyletheren VI_a ($R'=CH_3$) fra trin C i 50 ml tetrahydrofuran. Denne blanding blev omrørt ved 20°C under en nitrogenatmosfære i 18 timer.

20 Reaktionsblandingen blev fortyndet med 700 ml ether og vasket succesivt med 2%'s vandig saltsyre, vand og mættet vandig $NaHCO_3$. Den organiske opløsning blev tørret ($MgSO_4$) og filtreret. Afdampning af opløsningsmidlet efterlod 6,45 g af et off-white stof. Dette materia-

le blev udkrystalliseret fra 100 ml butylchlorid, og de isolerede krystaller blev tørret ved 35°C/0,01 mm Hg i 4 timer til opnåelse af 4,0 g (72%) af titelforbindelsen som næsten hvide nåle, smp. 167,5-170,5°C (vakuum);

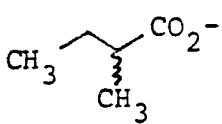
5	NMR (CDCl ₃)	δ	0,88 (d, 3, J = 7 Hz, CH ₃)
			1,08 (d, 3, J = 7 Hz, CH ₃)
			1,19 (s, 9, (CH ₃) ₃ C)
			2,67 (d, 2, J = 4 Hz, pyran C ₃ H'er)
			4,39 (m, 1, pyran C ₄ H)
10			4,65 (m, 1, pyran C ₆ H)
			5,36 (m, 1, naphthalen C ₈ H)
			5,55 (m, 1, naphthalen C ₅ H)
			5,80 (dd, 1, J = 6,10 Hz, naphthalen C ₃ H)
			6,04 (d, 1, J = 10 Hz, naphthalen C ₄ H)

15 HPLC (4,6 mm x 25 cm Partisil 10 PAC, 10%'s isopropanol/hexan, 4 ml/min.) retentionstid 4,4 min.

Analyse beregnet for C ₂₄ H ₃₆ O ₅ :	C 71,25	H 8,97
Fundet:	C 71,40	H 8,93.

20 Ved at anvende proceduren fra eksempel 1, trin D, men i stedet for 2,2-dimethylpropanoyloxy-silylether forbindelse VI_a (R' = CH₃) at anvende en ækvimolær mængde af de øvrige estere med formlen VI_a (R' = CH₃) som beskrevet i tabel II, fremstilles estere med formlen I_a (R' = CH₃) som angivet i tabel III.

TABEL III

RCO ₂ -	Formel	Smp. (°C)
	C ₂₄ H ₃₆ O ₅	139-148
(CH ₃) ₂ CHCH ₂ CO ₂ ⁻	C ₂₄ H ₃₆ O ₅	126-128
(CH ₃) ₂ CHCO ₂ ⁻	C ₂₃ H ₃₄ O ₅	144-147
CH ₃ CO ₂ ⁻	C ₂₁ H ₃₀ O ₅ · 0.1C ₄ H ₉	153-156 (vac)
5 CH ₃ (CH ₂) ₃ CO ₂ ⁻	C ₂₄ H ₃₆ O ₅	halvfast

EKSEMPEL 2

6(R)-[2-(8'(S)-2"-ethyl-2"-methylbutyryloxy-2'(S),6'(R)-dimethyl-
10 1',2',6',7',8',8a'(R)-hexahydronaphthyl-1'(S))ethyl]-4(R)-hydroxy-
3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on

Trin A: 6(R)-[2-(8'(S)-2"-ethyl-2"-methylbutyryloxy-2'(S),6'(R)-
dimethyl-1',2',6',7',8',8a'(R)-hexahydronaphthyl-1'(S))-
ethyl]-4(R)-(dimethyl-tert-butylsilyloxy)-3,4,5,6-tetrahy-
15 dro-2H-pyran-2-on VI_a (R' = CH₃)

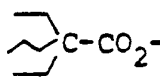
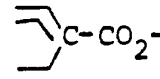
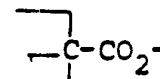
3,0 g 2-ethyl-2-methylbutyrylchlorid (20 mmol) blev sat til en magne-
tisk omrørt opløsning af 2,17 g (5 mmol) alkohol V_a (R' = CH₃) og 74
mg 4-pyrrolidinopyridin i 20 ml pyridin. Denne reaktionsblanding blev
omrørt ved 100°C under en atmosfære af N₂ i 9 timer. Reaktionsblan-
dningen blev fortyndet med 500 ml ether og vasket med 1 N HCl, indtil
20 vaskevasken var sur, og derpå med saltvand (3 x 50 ml). Efter tørring
over MgSO₄ blev opløsningen filtreret og indampet til opnåelse af
4,2 g af en brun olie. Denne olie blev chromatograferet på en 6 x 15

cm søjle af silicagel (37-63 μm). Eluering (under lufttryk) med ether/hexan (1:1, vol./vol.) gav 2,6 g (95%) af titelforbindelsen som en viskos gul olie:

NMR (CDCl_3)	δ	0,08 (s, 6, $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$)
5		0,9 (s, 9, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$)
		2,57 (d, 2, $J = 4 \text{ Hz}$, pyran $\text{C}_3\text{H}'\text{er}$)
		4,30 (m, 1, pyran C_4H)
		4,63 (m, 1, pyran C_6H)
		5,42 (m, 1, naphthalen C_8H)
10		5,53 (m, 1, naphthalen C_5H)
		5,78 (dd, 1, $J = 6,10 \text{ Hz}$, naphthalen C_3H)
		6,03 (d, 1, $J = 10 \text{ Hz}$, naphthalen C_4H).

Under anvendelse af proceduren ifølge eksempel 2, trin A, men i stedet for 2-ethyl-2-methylbutyrylchlorid at anvende en ækvimolær mængde af syrechloridet med formlen R-COCl , fremstilles esterne med formlen VI_a ($\text{R}' = \text{CH}_3$), der er angivet i tabel IV.

TABEL IV

R-CO	<u>NMR(CDCl_3, δ)</u>
	0,87 (m, 9, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{CCO}_2$)
	0,78 (t, 9, $J=7\text{Hz}$, $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{CCO}_2$) 1,48 (q, 6, $J=7\text{Hz}$, $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{CCO}_2$)
	1,12 (s, 6, $(\text{CH}_3)_2\text{CCO}_2$) 0,83 (t, 3, $(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CCO}_2$)

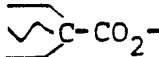
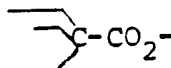
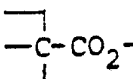
Trin B: 6(R)-[2-(8'(S)-2"-ethyl-2"-methylbutyryloxy-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',6',7',8',8a'(R)-hexahydronaphthyl-1'(S))-ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on

Ved at anvende proceduren som beskrevet i eksempel 1, trin D, men som udgangsmateriale at anvende silyletheren fra eksempel 2, trin A, dannes titelforbindelsen, smp. 111-113°C (C₂₆H₄₀O₅).

Tilsvarende fremstilles estere med formlen I_a som angivet i tabel V ved anvendelse af de øvrige estere VIa (R' = CH₃) som beskrevet i tabel IV som udgangsmaterialer.

10

TABEL V

RCO ₂ -	Formel	Smp. (°C)
	C ₂₈ H ₄₄ O ₅	81-83
	C ₂₇ H ₄₂ O ₅	129-132
	C ₂₅ H ₃₈ O ₅	135-138

15 EKSEMPEL 3

Trin A:

Fremstilling af 6(R)-[2-(8(S)-hydroxy-2(S),6(R)-dimethyl-1,2,6,7,8,8a(R)-hexahydronaphthyl-1(S)ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on (2).

20 En blanding af mevinolin (forbindelse 3, 50,2 g, 0,124 mol) og LiOH.H₂O (52 g, 1,24 mol) i 3 liter vand blev omrørt magnetisk under tilbagesvaling under nitrogenatmosfære i 72 timer. Den omrørte blanding blev afkølet til 0°C (is/acetonebad) og behandlet med 12N HCl (120 ml, 1,44 mol) med en sådan hastighed, at temperaturen ikke oversteg 3°C. Denne blanding blev mættet med fast NaCl og ekstraheret

25

med ether (4 x 500 ml). De kombinerede ekstrakter blev vasket med saltvand (2 x 250 ml), tørret over magnesiumsulfat og inddampet, hvilket gav en orangefarvet olie (31,7 g). Denne olie blev opløst i 250 ml toluen, og opløsningen blev opvarmet under tilbagesvaling under nitrogenatmosfære i 4 timer med kontinuerlig fraskillelse af vandet i et Dean-Stark-apparat for at forårsage relactonisering. Af-dampning af toluenet efterlod en olieagtig remanens, som blev opløst i ether (1,5 liter). Denne opløsning blev vasket med mættet NaHCO₃ (250 ml), 250 ml H₂O og 250 ml saltvand, tørret og inddampet, hvilket gav en fast remanens. Triturering af dette faste stof med 200 ml hexan gav titelforbindelsen som et flødefarvet fast stof (29,7 g, 75%), som ikke krævede yderligere oprensning til synteseformål. Der blev fremstillet en analytisk prøve ved omkrystallisation af en del af det ovennævnte faste stof af n-butylchlorid til dannelse af farveløse klynger, smeltepunkt 128-131°C.

Trin B:

Fremstilling af 6(R)-[2-(8(S)-hydroxy-2(S),6(R)-dimethyl-1,2,6,7,8,8a(R)-hexahydronaphthyl-1(S)ethyl]-4(R)-tert.butyl-dimethylsilyloxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on (3).

En opløsning af alkoholen med formlen IV (18,3 g, 0,057 mol) fremstillet i trin A, tert.butyl-dimethylsilylchlorid (10,3 g, 0,068 mol) og 9,3 g imidazol (0,137 mol) i 200 ml DMF blev omrørt magnetisk ved omgivelsestemperatur under nitrogenatmosfære i 18 timer. Reaktionsblandingen blev fortyndet med 1500 ml ether og vasket successivt med 200 ml vand, 200 ml 2%'s HCl, 200 ml vand, 200 ml mættet NaHCO₃ og 2 x 200 ml vand og tørret over magnesiumsulfat. Den filtrerede etheropløsning blev koncentreret til ether, fortyndet med 600 ml hexan, og den resulterende opløsning blev koncentreret til 600 ml, hvilket gav et fast stof (13,7 g). Man fik et andet udbytte af krystaller (3,4 g) ved at reducere moderluden til 250 ml og opbevare denne ved 0°C natten over. Det kombinerede udbytte var 17,1 g (69%), og det faste stof smeltede ved 142-144°C.

Trin C:

Fremstilling af 6(R)-[2-(8(S)-hydroxy-2(S),6(S)-dimethyl-1,2,3,4,4a(S),5,6,7,8,8a(S)-decahydronaphthyl-1(S)ethyl]-4(R)-tert.butyl-dimethylsilyloxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on (4)

- 5 En blanding af den i trin B vundne silylether (5,0 g, 0,0115 mol) og PtO₂ (1,0 g) i 200 ml ethylacetat blev hydrogeneret i en Paar-lavtrykshydrogenator natten over. Katalysatoren blev fjernet ved filtrering, filtratet blev inddampet til tørhed, hvilket efterlod et hvidt fast stof. Dette faste stof blev chromatograferet på en 80 mm's søjle
10 indeholdende 18 cm silicagel (37-63 μm). Eluering under lufttryk med methylenchlorid/acetone (98:2, v/v, 1,5 liter) gav et indledende gennemløb, som blev kasseret. Fortsat eluering med samme eluent (2 liter) gav titelforbindelsen som et hvidt fast stof (3,4 g, 67%), smeltepunkt 146-147°C.

15 Trin D:

Fremstilling af 6(R)-[2-[8(S)-(2,2-dimethylbutyryloxy)-2(S),6(S)-dimethyl-1,2,3,4,4a(S),5,6,7,8,8a(S)-decahydronaphthyl-1(S)]ethyl]-4(R)-tert.butyl-dimethylsilyloxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on (5).

- 2,2-dimethylbutyrylchlorid (0,067 g, 0,0005 mol) sættes til en magnetisk omrørt opløsning af den i trin C fremstillede forbindelse
20 (0,11 g, 0,00025 mol) og 0,0074 g 4-pyrrolidinopyridin (0,00005 mol) i 2 ml pyridin. Efter opvarmning af denne opløsning ved 100°C i 3 timer under nitrogenatmosfære tilsættes yderligere 0,0335 g 2,2-dimethylbutyrylchlorid, og der tilsættes 0,039 g 4-pyrrolidinopyridin, og
25 opvarmningen fortsatte i yderligere 3 timer.

- Reaktionsblandingen blev afkølet, fortyndet med 50 ml ether og vasket med 2 x 5 ml 3N HCl og 2 x 10 ml saltvand. Etheropløsningen blev tørret over magnesiumsulfat, filtreret og inddampet, hvilket gav en gul olie (0,136 g). Denne olie blev chromatograferet på en 30 mm's
30 søjle indeholdende 15 cm silicagel (37-63 μm). Søjlen blev elueret under lufttryk med CH₂Cl₂ (300 ml) og derefter 100 ml CH₂Cl₂/acetone (98:2, v/v), hvilket gav et indledende gennemløb, som blev kasseret.

Fortsat eluering med $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{acetone}$ (98:2, v/v, 50 ml) gav det ønskede produkt som en bleggul olie (0,081 g, 60%).

Trin E:

5 Fremstilling af 6(R)-[2-[8(S)-(2,2-dimethylbutyryloxy-2(S)-6(S)-dimethyl-1,2,3,4,4a(S),5,6,7,8,8a(S)-decahydronaphthyl-1(S)]ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on.

10 Den i trin D vundne silylether (0,5 g, 0,00093 mol) sættes til 30 ml af en THF-opløsning indeholdende 0,224 g iseddike (0,00372 mol) og 0,88 g tetrabutylammoniumfluorid-trihydrat (0,00279 mol). Denne opløsning blev omrørt magnetisk under nitrogenatmosfære i 48 timer. Reaktionsopløsningen blev fortyndet med 150 ml ether og vasket med 25 ml H_2O og 2 x 75 ml saltvand. Etheropløsningen blev tørret over magnesiumsulfat, filtreret og inddampet, hvilket gav en viskos olie (0,45 g). Denne olie blev chromatograferet på en 40 mm's søjle indeholdende 15 cm silicagel (37-63 μm). Søjlen blev elueret med $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{acetone}$ (85:15, v/v) under lufttryk, og 20 ml's fraktioner blev indsamlet. Fraktionerne 21-37 blev kombineret og koncentreret til tørhed, hvilket gav titelforbindelsen i form af et fast stof (0,37 g, 94%). En analytisk prøve blev fremstillet ved omkrystallisation af 20 det faste stof af ether/hexan, hvilket gav farveløse plader, smeltepunkt 159-160°C.

EKSEMPEL 4

25 6(R)-{2-[8(S)(2"-ethyl-2"-methylbutyryloxy)-2'(S),6'(S)-dimethyl-1',2',3',4',4a'(S),5',6',7',8',8a'(S)-decahydronaphthyl-1'(S)]ethyl}-4(R)hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, I_e ($\text{R}' = \text{CH}_3$)

Trin A: 6(R)-[2-(8'(S)hydroxy-2'(S),6'(S)-dimethyl-1',2',3',4',4a'(S),5',6',7',8',8a'(S)-decahydronaphthyl-1'(S))ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on IV_e ($\text{R}' = \text{CH}_3$)

30 En opløsning af 2,0 g (6,2 mmol) af alkoholen IV_a ($\text{R}' = \text{CH}_3$) i 100 ml ethylacetat blev hydrogeneret i nærvær af platinoxid (1 g) ved 18

kg's tryk, indtil optagelsen af 2 molækvivalenter hydrogen blev iagttaget. Katalysatoren blev fjernet ved filtrering, og filtratet blev inddampet til tørhed til tilvejebringelse af et hvidt fast stof (1,9 g), som blev chromatograferet på en 6 x 20 cm søjle af silicagel (37-63 μm). Eluering (under lufttryk) med acetone/methylenchlorid (3:7, vol./vol.) gav 1,0 g (50%) af titelforbindelsen som et farveløst fast stof.

En analytisk prøve blev fremstillet ved omkrystallisering af en del af materialet fra chloroform til opnåelse af et hvidt vatagtigt fast stof, smp. 166-168°C.

Trin B: 6(R)-[2-(8'(S)-hydroxy-2'(S),6'(S)-dimethyl-1',2',3',4',4a'(S),5',6',7',8',8a'(S)-decahydronaphthyl-1'(S)-ethyl]-4(R)-(dimethyl-tert-butylsilyloxy)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, V_e ($R' = \text{CH}_3$)

En opløsning af alkoholen IV_e ($R' = \text{CH}_3$) (1,0 g, 3,1 mmol), imidazol (1,05 g, 15,4 mmol) og tert-butyltrimethylchlorsilan (1,16 g, 7,7 mmol) i 20 ml N,N-dimethylformamid blev omrørt ved 20°C under en nitrogenatmosfære i 18 timer. Reaktionsopløsningen blev fortyndet med 200 ml ether og vasket successivt med vand, 2%'s vandig saltsyre og saltvand. Ether-opløsningen blev tørret over MgSO_4 og inddampet til opnåelse af et hvidt fast stof (1,8 g), som blev chromatograferet på en 6 x 20 cm søjle af silicagel (37-63 μm). Eluering under lufttryk med acetone/methylenchlorid (1:19, vol./vol.) gav 1,0 g (74%) af titelforbindelsen som et hvidt fast stof, smp. 136-138°C.

Trin C: 6(R)-(2[8'(S)(2"-ethyl-2"-methylbutyryloxy)-2'(S),6'(S)-dimethyl-1',2',3',4',4a'(S),5',6',7',8',8a'(S)-decahydronaphthyl-1'(S)]ethyl)-4(R)(dimethyl-tert-butylsilyloxy)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, VI_e ($R' = \text{CH}_3$)

Ved i trin A i eksempel 2 at erstatte alkoholen V_a ($R' = \text{CH}_3$) med en ækvimolær mængde alkohol V_e ($R' = \text{CH}_3$) og ved at gå frem efter proceduren i trin A i eksempel 2 opnåedes en tilsvarende mængde af titelforbindelsen, VI_e ($R' = \text{CH}_3$) som en gul olie.

NMR (CDCl ₃)	δ	0,08 (s, 6, (CH ₃) ₂ Si)
		0,90 (s, 9, (CH ₃) ₃ CSi)
		1,13 (s, 6, (CH ₃) ₂ CO ₂)
		2,63 (m, 2, pyran C ₃ H'er)
5		4,33 (m, 1, pyran C ₄ H)
		4,60 (m, 1, pyran C ₆ H)
		5,23 (m, 1, naphthalen C ₈ H).

Trin D: 6(R)-{2-[8'(S)(2"-ethyl-2"-methylbutyryloxy)-2'(S),6(S)-dimethyl-1',2',3',4',4a'(S),5',6',7',8',8a'(S)-decahydro-naphthyl-1'(S)]ethyl}-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, I_e (R' = CH₃)

Ved i eksempel 1, trin C, at erstatte silyletheren med en ækvimolær mængde af silyletheren VI_e (R' = CH₃) fra eksempel 4, trin C og ved at gå frem efter proceduren ifølge trin C i eksempel 1 opnåedes en tilsvarende mængde af titelforbindelsen som et fast stof.

Der blev fremstillet en analytisk prøve ved omkrystallisering af materialet fra hexan til opnåelse af hvide nåle, smp. 146-147°C.

EKSEMPEL 5

6(R)-{2-[8'(S)-(2"-ethyl-2"-methylbutyryloxy)-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',3',4',6',7',8a'(S)-octahydronaphthyl-1'(S)]ethyl}-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, I_b (R' = CH₃)

Trin A: 6(R)-[2-(8'(S)-hydroxy-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',3',4',-6',7',8a'(S)-octahydronaphthyl-1'(S)-ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, IV_b (R' = CH₃)

Ved at anvende proceduren som beskrevet for udgangsmaterialet IV_a (R' = CH₃) ved hydrolyse af MK-803 ved kogning under tilbagesvaling med vandig LiOH.H₂O i 56 timer, men i stedet for MK-803 at anvende en ækvimolær mængde forbindelse III_b (R' = CH₃) opnås i sammenligneligt udbytte titelforbindelsen IV_b (R' = CH₃), smp. 136-139°C.

Ved at gå frem efter proceduren i eksempel 4, trin B, C og D, men i stedet for forbindelsen IV_e (R' = CH₃) i trin A at anvende en ækvimolær mængde forbindelse IV_b (R' = CH₃) fra trin A i dette eksempel opnås i sammenlignelige udbytter følgende forbindelser:

5 Trin B: 6(R)-[2-(8'(S)-hydroxy-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',3',4',-6',7',8a'(S)-octahydronaphthyl-1'(S)-ethyl]-4(R)-(dimethyl-tert-butylsilyloxy)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, V_b (R' = CH₃), smp. 140-142°C.

10 Trin C: 6(R){-2-[(8'(S)-(2"-ethyl-2"-methylbutyryloxy)-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',3',4',6',7',8a'(S)-octahydronaphthyl-1'(S)]ethyl}-4(R)-(dimethyl-tert-butylsilyloxy)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, VI_b (R' = CH₃), hvori



15 Trin D: 6(R)-{2-[8'(S)(2"-ethyl-2"-methylbutyryloxy)-2'(S),6'(R)-dimethyl-1',2',3',4',6',7',8a'(S)-octahydronaphthyl-1'(S)]-ethyl]-4(R)hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on, I_b (R' = CH₃), smp. 129-131°C, hvori



20

EKSEMPEL 6

Forbindelser fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, hvor R betegner 1,1-dimethylpropyl, blev testet for deres HMG-CoA-reduc-taseinhiberende virkning, der blev sammenlignet med virkningen af den 25 kendte forbindelse MSD803 og kendte derivater af denne.

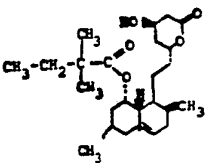
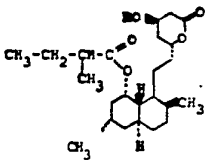
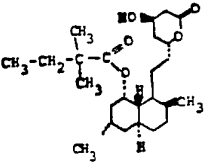
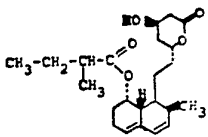
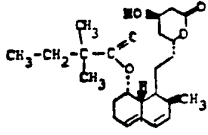
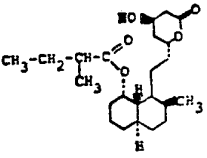
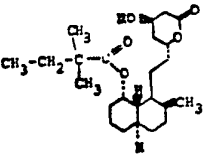
Resultaterne er vist i tabel VI nedenfor, hvor den enzyminhiberende virkning er angivet som IC₅₀(inhiberende koncentration)₅₀ (nM).

Tabel VI

Indvirkningen af erstatning af α -methylbutanoat-sidekæden med α -dimethylbutanoat på inhiberingen af HMG-CoA-reductase

L nr. ^a		IC ₅₀ -værdi ^b (nM)	Relativ styrke ^c
L-154,803-00G07		1,9	
L-644,128-00U01		0,89	2,1
L-154,883-00W01		1,6	
L-648,243-00Y01		1,3	1,2
L-154,855-00L03		2,0	
L-648,239-00H01		1,4	1,4
L-154,847-00L02		32,6	

Tabel VI fortsat

L-648,240-00X01		16,2	2,0
L-154,856-00V02		4,7	
L-647,318-00E01		3,1	1,5
L-637,312-00N08		3,6	
L-648,234-00P01		1,1	3,3
L-648,233-00F01		16,4	
648,232-00X01		5,7	2,9

- a - Forbindelserne blev analyseret som natriumsaltet af den åbne
5 hydroxysyre. De blev fremstillet som 4 mg/ml's opløsninger i 10% ethanol. Fortyndinger blev fremstillet i DMSO før analysen.
- b - IC₅₀-Værdier blev bestemt under anvendelse af fire niveauer af hver inhibitor ved HMG-CoA-reductaseforsøg, som var en smule

modificeret i forhold til de tidligere beskrevne (A.W. Alberts et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1980, s. 3957-3961).

Ved den reviderede protokol blev enzymet inkuberet i 5 minutter med inhibitor og NADPH før initiering af reaktionen med [^{14}C]-HMG-CoA (12,5 μM , 5,9 $\mu\text{Ci}/\mu\text{mol}$). IC_{50} -værdier blev beregnet ud fra den procentvise inhibering under anvendelse af "kurve"-programmet i en HP-85-computer.

c - Bestemt for hvert par af forbindelser ved sammenligning af IC_{50} -værdierne af α -methylbutanoatesteren med den tilsvarende α -dimethylbutanoatester.

Af tabel VI fremgår det, at forbindelser, hvor R er 1,1-dimethylpropyl, har en inhiberende virkning på enzymet HMG-CoA-reductase, hvilken virkning er 1,2-3,3 gange stærkere end den naturligt forekommende forbindelses virkning.

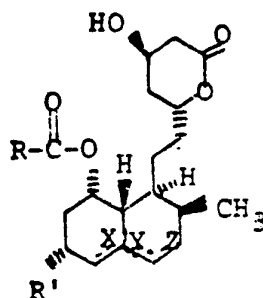
15 EKSEMPEL 7

Typiske formuleringer for fyldning af en hård gelatinekapsel nr. 0 er 3,125, 6,25, 12,5, 25 eller 50 mg af en af de hidtil ukendte forbindelser, fx produkterne fra eksempel 1, trin D eller eksempel 2, trin B, og en tilstrækkelig mængde findelt lactose til at give et totalt kapselindhold på ca. 580-590 mg.

PATENTKRAV

1. Fremgangsmåde til fremstilling af en 6(R)-[2-(8'-acyloxy-2'-methyl-6'-methyl-(eller hydrogen)-polyhydronaphthyl-1')-ethyl]-4(R)-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-on med formlen I_{a-e}:

5

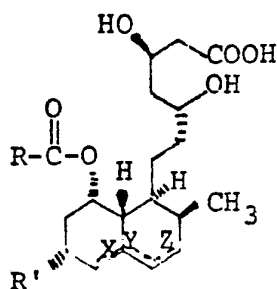


hvor R' er H eller CH₃,

R er lige eller forgrenet alkyl med 1-10 carbonatomer, undtagen 2-(S)-butyl,

10 og de stiplede linier ved X, Y og Z betegner eventuelle dobbeltbindinger, hvilke dobbeltbindinger, når én eller flere er til stede, er enten X og Z i kombination, eller X, Y eller Z alene, eller

de tilsvarende dihydroxysyrer med formlen II_{a-e}:



15

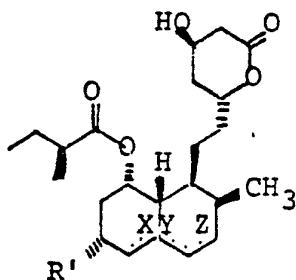
hvor R, R', X, Y og Z har de ovennævnte betydninger,

eller et farmaceutisk acceptabelt salt deraf med en base, en alkylder ester deraf med 1-4 carbonatomer i alkylgruppen eller en phenyl-, dimethylamino- eller acetylaminosubstitueret alkylester med 1-4 carbonatomer i alkylgruppen,

20

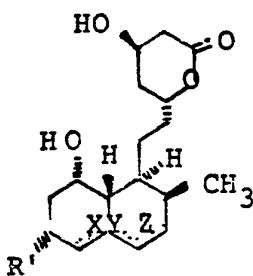
k e n d e t e g n e t ved, at man

1) opvarmer en forbindelse med formlen III_{a-e}:



5 hvor R', X, Y og Z har de ovennævnte betydninger,
med et alkalimetahydroxid i et protisk opløsningsmiddel efterfulgt
af syrning og lactonisering til opnåelse af en forbindelse med form-
len IV_{a-e},

2) omsætter den dannede forbindelse med formlen IV_{a-e}:

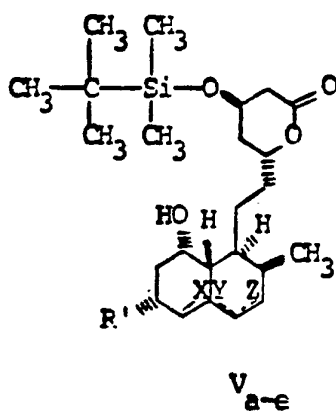


IV_{a-e}

10

hvor R', X, Y og Z har de ovennævnte betydninger,
med t-butyldimethylchlorsilan under en inert atmosfære ved omgivel-
sernes temperatur i nærværelse af en syreacceptor,

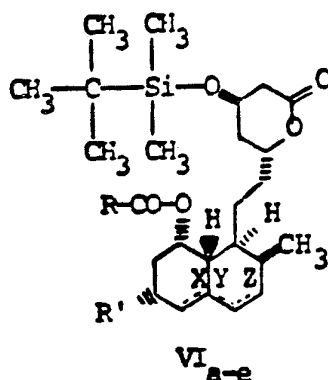
15 3) acylerer den resulterende 4-t-butyldimethylsilyloxyforbindelse med
formlen V_{a-e}



hvor R', X, Y og Z har de ovennævnte betydninger, ved

- 5 a) omrøring deraf i en opløsning med et syrechlorid med form-
len RCOCl , hvor R har den ovennævnte betydning, i pyridin i
en inert atmosfære i nærværelse af en acyleringskatalysa-
tor, eller
- 10 b) omrøring deraf i opløsning ved omgivelsernes temperatur med
en syre med formlen RCOOH , hvor R har den ovennævnte be-
tydning, og N,N'-dicyclohexylcarbodiimid i nærværelse af en
acyleringskatalysator, og

4) fjerner silylgruppen fra den dannede forbindelse med formlen VI_{a-e}



- 15 hvor R, R', X, Y og Z har de ovennævnte betydninger,
ved omrøring ved omgivelsernes temperatur i tetrahydrofuran i nærvæ-
relse af tre ækvivalenter tetrabutylammoniumchlorid og fire ækviva-
lenter eddikesyre pr. ca. 1 ækvivalent silylforbindelse til dannelse

af en forbindelse med formlen I_{a-e} som vist ovenfor, hvorpå man om ønsket hydrolyserer en forbindelse med formlen I_{a-e} med en base til opnåelse af et tilsvarende salt af den tilsvarende dihydroxysyre med den ovenfor angivne formel II_{a-e} , syrner et således dannet salt til
5 opnåelse af en tilsvarende fri dihydroxysyre, eller behandler en forbindelse med formlen I_{a-e} under sur eller basisk katalyse med en C_{1-4} -alkanol eller med en phenyl-, dimethylamino- eller acetylami-
noalkanol med 1-4 carbonatomer i alkylgruppen til dannelse af en tilsvarende ester af den tilsvarende dihydroxysyre med den ovenfor
10 angivne formel II_{a-e} .

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1,
k e n d e t e g n e t ved, at R' er CH_3 .

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1 eller 2,
k e n d e t e g n e t ved, at R er forgrenet alkyl med 3-10 carbon-
15 atomer, bortset fra 2(S)-butyl, især 1-ethyl-1-methylpropyl, 1,1-di-
ethylpropyl eller 1,1-dimethylpropyl.

4. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst af de foregående krav,
k e n d e t e g n e t ved, at hverken X , Y eller Z er en dobbelt-
binding.

20 5. Fremgangsmåde ifølge krav 1,
k e n d e t e g n e t ved, at R' betegner CH_3 , R betegner forgrenet
alkyl med 3-10 carbonatomer, bortset fra 2(S)-butyl, især 1-ethyl-1-
methylpropyl, 1,1-diethylpropyl eller 1,1-dimethylpropyl, og at X og
 Z er dobbeltbindinger.