

**Atovakonin, parvakonin ja buparvakonin syntetiikka,
rakennemääritys sekä lääketieteellinen käyttö**

Pro Gradu -tutkielma
Jyväskylän yliopisto
Kemian laitos
Organisen kemian osasto
30.1.2008
Timo Pohja

TIIVISTELMÄ

Atovakoni, parvakoni ja buparvakoni ovat patentinalaisia 2-hydroksi-1,4-naftokinoneita, joilla on lääketieteellisiä sovellutuksia. Tutkielmassa käsitellään yhdisteiden eri synteesimenetelmiä, rakennemäärittystä ja lääketieteellistä käyttöä sekä ihmisillä että eläimillä. Patentinalaisuudesta johtuen yhdisteistä on saatavilla niukanlaisesti kemiallista tietoa. Lisäksi ainoastaan atovakonia on tutkittu laajalti lääketieteellisestä näkökulmasta johtuen sen monikäyttöisyydestä ihmisten lääkkeenä. Tästä syystä tutkielmassa on käsitelty vähemmän parvakonia ja buparvakonia.

Kokeellisessa osassa yritettiin valmistaa parvakonin ja sappihapon konjugaatti esteröimällä, eetteröimällä ja Friedel-Crafts -asyloinnilla. Mikäli konjugointimenetelmä onnistuisi, voitaisiin sitä soveltaa myös heikosti elimistössä imeytyvään atovakoniin yhdisteiden samankaltaisuuden vuoksi. Tämä tavoite jäi kuitenkin saavuttamatta ja havaittiin, että parvakoni on inertti yhdiste.

ESIPUHE

Tämän tutkielman kokeellinen osa on tehty lukuvuoden 2006-2007 aikana Jyväskylän yliopiston orgaanisen kemian laitoksella. Kirjallinen osa on tehty syyslukukauden 2007 aikana. Lähdekirjallisuus on etsitty Sci-Finder Scholar -tietokannasta, Jyväskylän yliopiston kirjaston tiedejulkaisuista sekä lääkeainevalmistajien Internet-sivustoilta.

Erityiset kiitokset kuuluvat tutkielman valvojalle professori Erkki Kolehmaiselle sekä tutkielman ohjaajalle Arto Valkoselle. Lisäksi tahtoisin kiittää koko orgaanisen kemian henkilökuntaa ohjeistuksesta ja avusta.

Lämpimät kiitokset Jennille, vanhemmilleni ja ystäväilleni tuesta.

SISÄLLYSLUETTELO

TIIVISTELMÄ	i
ESIPUHE	ii
SISÄLLYSLUETTELO	iii
LYHENTEET	vii
A. KIRJALLINEN OSA	1
1 JOHDANTO	2
2 YLEISTÄ ATOVAKONISTA, PARVAKONISTA JA BUPARVAKONISTA	2
3 SYNTETIIKKA	3
3.1 Atovakonin synteetit	3
3.1.1 Syntetisointi 1,4-sykloheksaanidioni-mono-etyleeniketaalista	4
3.1.2 Syntetisointi 4-(4-kloorifenyylisykloheksaani-1-karboksylihapon avulla ...	5
3.2 Parvakonin synteetit	7
3.2.1 Syntetisointi Diels-Alder -reaktiona	7
3.2.1.1 Syntetisointi sykloheksaanikarboksylihaposta	8
3.2.1.2 Syntetisointi sykloheksylibentsokinonista	9
3.2.2 Syntetisointi di-isopropylioksisyklobutendionista	11
3.2.3 Syntetisointi pentakarbonyyli[fenyylialkoksi]karbeeni]kromista	12
3.2.4 Syntetisointi sykloheksaanista	14
3.3 Buparvakonin synteetit	15
3.3.1 Synteetti 2-kloori-1,4-naftokinonista	15
4 RAKENNEMÄÄRITYS	16
4.1 Hydroksinaftokinonien rakennemääritys	16
4.2 NMR-spektroskopia	17
4.3 IR-spektroskopia	18
4.4 Massaspektrometria	18
4.5 Muut karakteristiset tiedot	18
5 LÄÄKETIETEELLINEN KÄYTTÖ	19
5.1 Atovakonin lääketieteellinen käyttö	20
5.1.1 Yleistä	20
5.1.2 Toimintamekanismi	20
5.1.3 Imeytyminen ja metabolia ihmisessä	23

5.1.4 Atovakoni malarian hoidossa.....	24
5.1.5 Atovakoni PCP-infektion hoidossa.....	27
5.1.6 Atovakoni toksoplasmoosin hoidossa.....	29
5.1.7 Atovakoni babesioosin hoidossa.....	30
5.2 Parvakonin lääketieteellinen käyttö.....	30
5.2.1 Yleistä.....	30
5.2.2 Parvakoni theilerioosin hoidossa.....	31
5.2.3 Muita parvakonin lääketieteen sovellutuksia.....	31
5.3. Buparvakonin lääketieteellinen käyttö.....	32
5.3.1 Yleistä.....	32
5.3.2 Buparvakoni theilerioosin hoidossa.....	32
5.3.3 Buparvakoni trooppisen theilerioosin hoidossa.....	33
6 YHTEENVETO.....	34
B. KOKEELLINEN OSA.....	35
7 TYÖN TARKOITUS.....	36
8 MENETELMÄT, LAITTEET JA REAGENSsit.....	37
8.1 Menetelmät ja laitteet.....	37
8.2 Reagenssit ja liuottimet.....	38
9 SYNTEESIT.....	39
9.1 Koolihapon suojaus ja aktivointireaktiot.....	39
9.1.1 3 α ,7 α ,12 α -Triasetoksikoolihappokloridi (4).....	39
9.1.2 3 α ,7 α ,12 α -Tris(trifluoriasetoksi)koolihappo (5).....	40
9.1.3 3 α ,7 α ,12 α -Tris(trifluoriasetoksi)koolihappokloridi (6).....	40
9.2 2-Hydroksi-1,4-naftokinonin esteröintireaktiot.....	41
9.2.1 3 α ,7 α ,12 α -Triasetoksikoolihapon 1,4-diokso-1,4-dihydronaftalen-2-yyliesteri (7) trietyyliamiinin avulla.....	41
9.2.2 3 α ,7 α ,12 α -Triasetoksikoolihapon 1,4-diokso-1,4-dihydronaftalen-2-yyliesteri (7) natriumhydroksidin avulla.....	42
9.3 2-Hydroksi-1,4-naftokinonin muut reaktiot.....	43
9.3.1 2-(2-Hydroksietoksi)-1,4-naftokinoni (9).....	43
9.3.2 2-(1,4-Diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etyyliasetatti (11).....	43
9.3.3 2,2'-(3,3'-Bi(1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi))-dietyyliasetatti (13).....	44
9.3.4 2-Hydroksi-6-(3 α ,7 α ,12 α -tris(trifluoriasetoksi)-5 β -kolan-24-oyyli)-1,4-naftokinoni (14).....	45
9.3.5 2-Hydroksi-3-sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (16).....	46

9.4 Parvakinonin jatkoreaktiot	47
9.4.1 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etyyliasetatti (17)	47
9.4.2 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etikahappo (18) saippuomalla	48
9.4.3 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etikahappo (18) bromietikkahapon avulla	48
9.4.4 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)- <i>N</i> -(2- hydroksietyyli)asetamidi (21) refluksuomalla	49
9.4.5 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)- <i>N</i> -(2- hydroksietyyli)asetamidi (21) huoneenlämmössä	50
9.4.6 3-(2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)asetoksi)- metyylilitokolaatti (23)	50
9.5 -1,4-Naftokinonin reaktiot	51
9.5.1 2-Sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (25)	51
9.5.2 3-Bromi-2-sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (26)	52
9.5.3 2-Sykloheksyyli-3-(2-hydroksietyyliamino)-1,4-naftokinoni (28)	53
9.6 6-Metyyli-1,4-naftokinonijohdannaiset	53
9.6.1 6-Metyyli-1,4-naftokinoni (31)	53
9.6.2 6-Bromimetyyli-1,4-naftokinoni (32)	54
9.6.3 6-Hydroksimetyyli-1,4-naftokinoni (33)	55
9.6.4 2- ja 3-Sykloheksyyli-6-metyyli-1,4-naftokinoni (35) ja (34)	55
9.6.5 6-Karboksi-1,4-naftokinoni (36)	56
10 YHTEENVETO	57
11 SYNTEESIOHJEET	58
11.1 3 α ,7 α ,12 α -Triasetoksikoolihappokloridi (4)	58
11.2 3 α ,7 α ,12 α -Tris(trifluoriasetoksi)koolihappo (5)	58
11.3 3 α ,7 α ,12 α -Tris(trifluoriasetoksi)koolihappokloridi (6)	59
11.4 3 α ,7 α ,12 α -Triasetoksikoolihapon 1,4-diokso-1,4-dihydronaftalen-2-yyliesteri (7) (trietyyliamiinin avulla)	59
11.5 3 α ,7 α ,12 α -Triasetoksikoolihapon 1,4-diokso-1,4-dihydronaftalen-2-yyliesteri (7) (natriumhydroksidin avulla)	60
11.6 2-(2-Hydroksietoksi)-1,4-naftokinoni (9)	60
11.7 2-(1,4-Diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etyyliasetatti (11)	60
11.8 2,2'--(3,3'-Bi(1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-dietyyliasetatti (13) ..	61

11.9 2-Hydroksi-6-(3 α ,7 α ,12 α -tris(trifluoriasetoksi)-5 β -kolan-24-oyyli)-1,4-naftokinoni (14).....	61
11.10 2-Hydroksi-3-sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (16).....	61
11.11 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etyyliasetatti (17).....	62
11.12 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)etikkahappo (18) (saippuoimalla).....	64
11.13 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etikkahappo (18) (bromietikkahapon avulla)	64
11.14 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)- <i>N</i> -(2-hydroksietyyli)asetamidi (21) (refluksoimalla)	64
11.15 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)- <i>N</i> -(2-hydroksietyyli)asetamidi (21) (huoneenlämmössä)	65
11.16 3-(2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)asetoksi)-metyylilitokolaatti (23)	65
11.17 2-Sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (25).....	65
11.18 3-Bromi-2-sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (26)	66
11.19 2-Sykloheksyyli-3-(2-hydroksietyyliamino)-1,4-naftokinoni (28).....	66
11.20 6-Metyyli-1,4-naftokinoni (31).....	66
11.21 6-Bromimetyyli-1,4-naftokinoni (32)	67
11.22 6-Hydroksimetyyli-1,4-naftokinoni (33)	67
11.23 2- ja 3-Sykloheksyyli-6-metyyli-1,4-naftokinoni (35) ja (34).....	68
11.24 6-Karboksi-1,4-naftokinoni (36)	68
12 SYNTETISOIDUT MOLEKYYLIT	69
KIRJALLISUUSLUETTELO	70
LIITTEET	77

LYHENTEET

AIDS	Hankittu immuunipuutosoireyhtymä
ATP	Adenosiinitrifosfaatti
CAN	Seriumammoniumnitraatti
DCM	Dikloorimetaani
DHOD	Dihydro-orotaatti dehydrogenaasi
DSA	Kuivan olomuodon adsorptio
ESI-TOF MS	Sähkösumutus-ionisointi- lentoaikamassaspektrometria
HIV	Ihmisen immuunipuutosvirus
FTIR	Fourier-muunnosinfrapuna
MS	Massaspektrometria
NMR	Ydinmagneettinen resonanssi
s	Singletti
d	Dupletti
t	Tripletti
m	Multipletti
PCP	Pneumokystiskeuhkokuume
PPTS	Pyridinium- <i>p</i> -tolueenisulfonaatti
THF	Tetrahydrofuraani
TFAA	Trifluorietikkahappoanhydridi
TMP-SMX	Trimetopriimi-sulfametoksatsoli

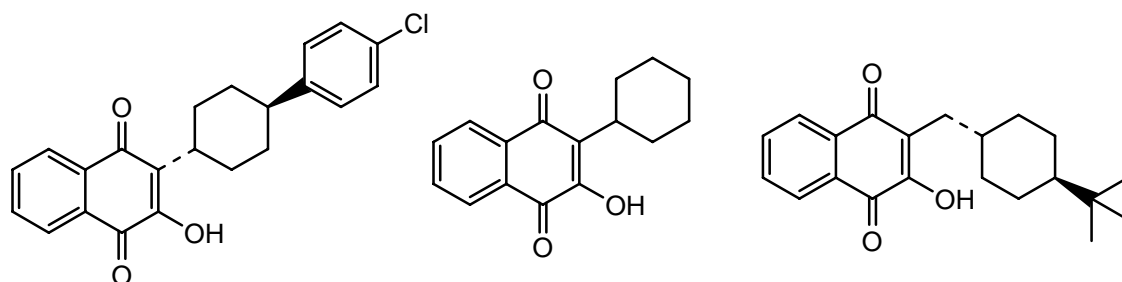
A. KIRJALLINEN OSA

1 JOHDANTO

2-Hydroksi-1,4-naftokinonien (1,4-naftaleenidionien) tutkiminen alkoi 1940-luvulla, kun Fieser ja Richardson¹ etsivät korvaavaa malarialääkettä kiniinille. Tämä johti yhdistelmäluokan laajempaan tutkimiseen, sillä 3-alkyyli-2-hydroksinaftokinoneilla havaittiin olevan alkueläinloisten vastaisia vaikutuksia. Myöhemmin on osoitettu, että yhdisteiden lääkevaikutusmekanismi perustuu loisten mitokondrioiden hengitysketjun inhiboimiseen.^{2,3} Tässä tutkielmassa keskitytään hydroksinaftokinoneista atovakoniin, parvakoniin ja buparvakoniin, koska näillä yhdisteillä on havaittu olevan eniten lääketieteellistä käyttöä.⁴ Atovakonia käytetään ihmisille tarkoitetuissa lääkevalmisteissa Mepron[®] ja Malarone[®].^{5,6} Parvakonia käytetään nautaeläinlääkkeissä Parvexon[®] ja Fruvexon[®].^{7,8} Myös buparvakoni on nautaeläinten lääkeaine ja sitä käytetään Butalex[®]-eläinlääkkeessä.⁹ Yhdisteistä käydään läpi syntetisointireitit, karakterisointi sekä lääketieteelliset sovellutukset.

2 YLEISTÄ ATOVAKONISTA, PARVAKONISTA JA BUPARVAKONISTA

Atovakoni, parvakoni ja buparvakoni (kuva 1) ovat 2-hydroksi-1,4-naftokinoneja, joiden 3-hiileen on liittynyt sykloheksyylijohdannaisryhmä. Hydroksinaftokinonit ovat bisyklisiä aromaattisia yhdisteitä, jotka ovat hyvin hydrofobisia ja liukenevat lähinnä vain poolittomiin liuottimiin ja rasvaliukoisiin aineisiin.



Kuva 1. Atovakoni, parvakoni ja buparvakoni.

Atovakonin 3-hiileen on substituoinut 4-(4-kloorifenyylisykloheksyyli)ryhmä ja molekyylin IUPAC-nimi on 3-[*trans*-4-(4-kloorifenyylisykloheksyyli)-2-hydroksi-1,4-naftokinoni. Se tunnetaan myös nimellä 566C80. Sen molekyylimassa on 366,837 g/mol ja molekyylikaava $C_{22}H_{19}ClO_3$. Molekyylin on patentoinut GlaxoSmithKline-lääkeyhtiö, joka käyttää sitä Mepron[®]- ja Malarone[®]-lääkkeissään (kohta 5.1.1).^{5,6} Atovakonin *cis*-isomeeri ei ole lääkinnällisesti aktiivinen.¹⁰

Parvakonin 3-hiileen on substituoinut sykloheksyyli-ryhmä. Yhdiste on IUPAC-nimeltään 3-sykloheksyyli-2-hydroksi-1,4-naftaleenidioni. Parvakonia kutsuttiin ennen 993C:ksi. Sen molekyylimassa on 256,296 g/mol ja molekyylikaava $C_{16}H_{16}O_3$. Parvakonia käytetään patentinalaisesti karjalääkkeissä Parvexon[®] ja Fruvexon[®], joita valmistaa Bimeda Export Ltd -lääkeyhtiö (kohta 5.2.1).^{7,8}

Buparvakonin IUPAC-nimi on 3-*trans*-[(4-*tert*-butyyli) sykloheksyyli)metyyli]-2-hydroksi-1,4-naftokinoni (tunnettiin ennen myös nimellä BW720C). Sen 3-hiileen on substituoinut *trans*-1-*tert*-butyyli-4-metyylisykloheksaaniryhmä. Yhdisteen molekyylimassa on 326,43 g/mol. Sarabhai Zydus Animal Health Limited -lääkeyhtiö käyttää buparvakonia Butalex[®]-lääkkeessään (kohta 5.3.1).⁹

3 SYNTETIIKKA

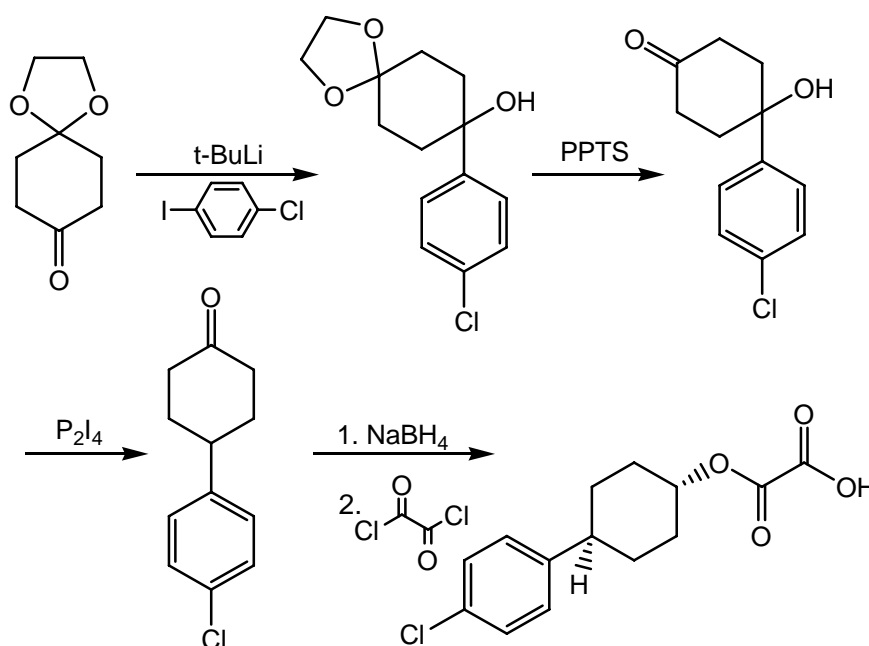
Tässä luvussa kuvataan vain *trans*-isomeerien synteeseireitit, sillä *cis*-yhdisteet eivät ole bioaktiivisia.¹⁰

3.1 Atovakonin synteetit

Atovakonin synteetille löytyy lähdeaineistosta kaksi synteeseireittiä.^{11,12} Ensimmäinen synteeseireitti (3.1.1) on kolmivaiheinen ja seitsenosainen. Se tuottaa 29 % kokonaissaannon.¹¹ Toinen synteeseireitti (3.1.2) on kolmivaiheinen ja viisiosainen, mutta sen kokonaissaanto on selkeästi edellistä heikompi. Ensimmäisen vaiheen saantoa ei ole ilmoitettu, mutta toisen vaiheen saanto on vain 9 % joten kokonaissaanto on alle 9 %.¹²

3.1.1 Syntetisointi 1,4-sykloheksaanidioni-mono-etyleeniketaalista

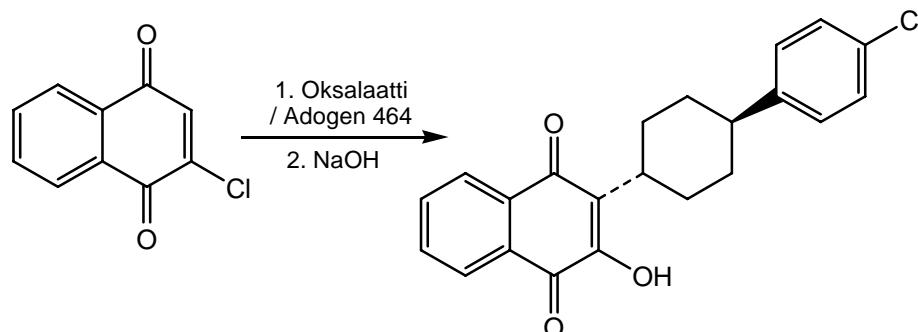
Antamalla 1-jodi-4-klooribentseenin reagoida butyyllitiumin kanssa halogeeni-metallivaihdon avulla $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa saadaan aryyllitiumkompleksi, joka toimii karbonyyliadditioreaktiossa nukleofiilinä.¹¹ Aryyllitiumkompleksi reagoitetaan 1,4-sykloheksaanidioni-mono-etyleeniketaalin kanssa, jolloin muodostuu tertiaarinen alkoholi 83 % saannolla (kuva 2). Reaktio voidaan tehdä myös aryyllitiumkompleksin sijaan vastaavalla Grignardin reagenssilla, mutta tällöin saannoksi saadaan vain 45-55 %. Refluksoidamalla tuotetta PPTS:n kanssa 10 % asetoni-vesi-seoksessa miedolla happohydrolyysillä saadaan 98 % saannolla ketonimuoto, joka reagoitetaan difosforitetrajodidin kanssa, jolloin ketonimuodosta poistuu alkoholihappi¹³ ja muodostuu sykloheksanonijohdannainen.¹¹ Pelkistämällä sykloheksanonijohdannaista natriumboorihydridillä saadaan *trans*-4-(4-kloorifenyyl)-1-sykloheksanoli, joka asyloidaan oksalyylikloridilla nopeasti jäädyttäen *trans*-4-(4-kloorifenyyl)-sykloheksyylioksaalihapoksi.



Kuva 2. Synteesi *trans*-4-(4-kloorifenyyl)-sykloheksyylioksaalihapoksi.¹¹

Kun oksaaliappojohdannaista hapetetaan ammoniumpersulfaatilla käyttäen hopeanitraattia katalyyttinä 2-kloori-1,4-naftokinonin kanssa $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ -seoksessa ja apuna käytetään faasinsiirtokatalyyttia metyyliatrialkyyli($\text{C}_8\text{-C}_{10}$)ammoniumkloridia (Adogen[®] 464), saadaan 43 % saannolla atovakonin prekursoria, jossa atovakonin 2-hydroksidiryhmän tilalla on kloori.¹¹ Tämä muutetaan

kolmannessa vaiheessa atovakoniksi metanolissa refluksoiden kaliumhydroksidin avulla (kuva 3).¹⁴ Tuote kiteytetään uudelleen kuumasta asetonitriilistä. Viimeisen vaiheen saanto on 94 % ja kokonaissaanto 29 %.^{11,14}



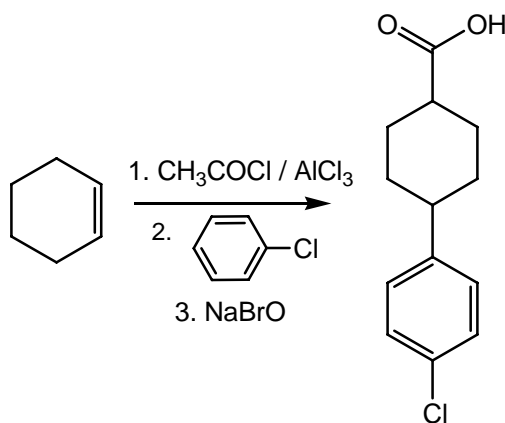
Kuva 3. Atovakonin valmistus oksaalihappojohdannaisesta ja 2-kloorinaftokinonista.^{11,14}

3.1.2 Syntetisointi 4-(4-kloorifenyylisykloheksaani-1-karboksyylihapon avulla

Atovakoni voidaan syntetisoida myös valmistamalla 4-(4-kloorifenyylisykloheksaani-1-karboksyylihappoa, joka reagoitetaan 2-kloori-1,4-naftokinonin kanssa. Synteesi on kolmivaiheinen. Ensimmäisessä vaiheessa muodostetaan karboksyylihappo, toisessa vaiheessa komponentit yhdistetään ja viimeisessä vaiheessa klooriryhmä muutetaan hydroksyyli ryhmäksi. Hudson¹² kuvaa tämän synteesireitin vuoden 1989 patentissaan.

4-(4-Kloorifenyylisykloheksaani-1-karboksyylihapon valmistus aloitetaan asyloimalla syklohekseeni. Asetyylikloridin ja alumiinikloridin seosta sekoitetaan -50 °C:ssa CO₂/oksitoli-hauteessa ja seokseen lisätään -50 asteista syklohekseeniä tipoitain 10 minuutin aikana.¹² Seoksen lämpötila ei saa ylittää -20 °C:tta lisäyksen aikana. Seosta sekoitetaan 60 minuuttia, Tämän jälkeen liuotin dekantoidaan pois, jolloin jää jäljelle sykloheksaanikarboksyylihappo. Väli tuotteeseen lisätään klooribentseeniä ja syntynyttä liuosta kuumennetaan sekoittaen 40 °C:ssa kolme tuntia. Muodostunut seos kaadetaan jäiden ja väkevän suolahapon seokseen. Orgaaninen faasi erotetaan ja pestään 2 M suolahapolla, 2 M natriumhydroksidilla ja vedellä. Kuivattu tuote tislataan vakuuissa, laimennetaan petroleetterillä, jäähdytetään -6 °C:een ja kuplitetaan typpikaasulla, kunnes muodostuu kiinteä tuote, 1-(4-kloorifenyylisykloheksaani-1-karboksyylimetyyliketoni).

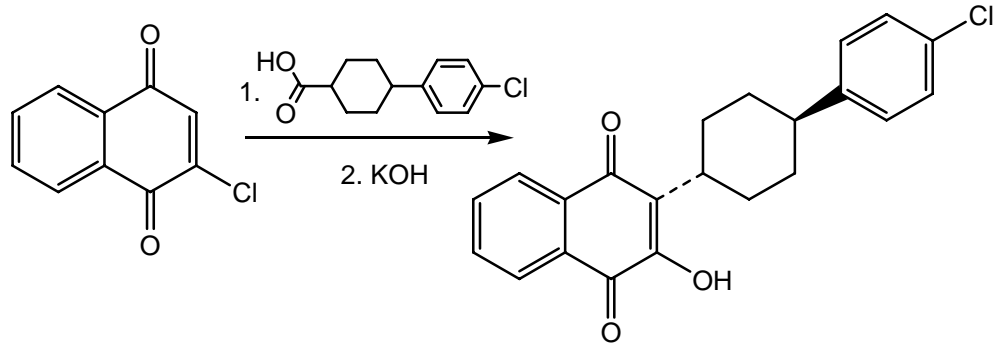
Ketonyhdiste muutetaan natriumbromaatin avulla 4-(4-kloorifenyylisykloheksaani-1-karboksyylihapoksi (kuva 4).^{12,15} Ketonituote liuotetaan dioksaaniin ja 0 °C natriumbromaattia lisätään liuokseen ja samalla huolehditaan, ettei seoksen lämpötila ylitä 20 °C. Seosta sekoitetaan kuusi tuntia huoneenlämmössä ja sen annetaan seistä yön yli. Ylimääräinen natriumbromaatti tuhoetaan natriummetabisulfaatilla ja seos tehdään happamaksi, jolloin syntyy väritöntä tuotetta, joka suodatetaan ja kiteytetään uudelleen etanolista.¹² Vaiheen saantoa ei ole ilmoitettu.



Kuva 4. 4-(4-Kloorifenyylisykloheksaani-1-karboksyylihapon valmistus.¹²

Synteesin toisessa vaiheessa 2-kloori-1,4-naftokinoni liitetään nukleofiilisen addition avulla 4-(4-kloorifenyylisykloheksaani-1-karboksyylihapon kanssa.¹² Ensimmäisen vaiheen tuotetta, 2-kloori-1,4-naftokinonia, ja hopeanitraattia refluksoidaan sekoittaen asetonitriilissä. Veteen liuotettua ammoniumpersulfaattia lisätään tipoitain tunnin ajan ja refluksoidaan kolme tuntia. Liuotin suodatetaan pois ja jäljelle jäänyttä tahmeaa kiinteää ainetta uutetaan kahdesti kiehuvalle kloroformilla. Kloroformi poistetaan haihduttamalla ja jäännös liuotetaan kiehuvaan asetonitriiliin ja jäljelle jääneet epäpuhtaudet suodatetaan pois. Jäähtyessä muodostuu 2-[4-(4-kloorifenyylisykloheksyyli)-3-kloori-1,4-naftokinonia 7 % saannolla.

Atovakoni saadaan edellisestä välituotteesta hydroksyloimalla.¹² Naftokinonin dikloorijohdannaista refluksoidaan metanolissa ja veteen liuotettua kaliumhydroksidia tiputetaan liuokseen 15 minuutin ajan. Kun liuos on muuttunut punaiseksi noin kuuden tunnin kuluttua, siihen lisätään hieman väkevää suolahappoa tipoitain. Syntynyt sakka suodatetaan ja tuote kiteytetään uudelleen asetonitriilistä. Vaiheen saannoksi saadaan 91 % (kuva 5).



Kuva 5. Atovakonisynteesin toinen ja kolmas vaihe.¹²

3.2 Parvakonin synteesit

Parvakonin valmistamiseen löytyy lähteaineistosta neljä eri synteesireittiä.¹⁶⁻¹⁹ Kaksivaiheisen ja viisiosaisen Diels-Alder -reaktion kautta voidaan valmistaa parvakonia 71 % kokonaissaannolla (kohta 3.2.1.2).¹⁶ Myös 14 % saannon tuottava Diels-Alder -reitti on mahdollinen (kohta 3.2.1.1).

Parvakonia voidaan valmistaa di-isopropyylioksisyklobutendionista Grignardin reaktion kautta 26 % kokonaissaannolla (kohta 3.2.2).¹⁷ Synteesireitti on kolmivaiheinen ja kahdeksanosainen. Pentakarbonyyli[fenyyli(alkoksi)karbeeni]kromia lähtöaineena käytettäessä parvakonia voidaan valmistaa kolmen eri menetelmän kautta (kohta 3.2.3).¹⁸ Kukin menetelmä on kaksivaiheinen ja kolmiosainen. Parhaan tuloksen antaa ultraäänimenetelmä kun käytetään etoksikromikompleksia lähtöaineena, jolloin kokonaissaannoksi muodostuu 46 %. Yksinkertainen, yhden vaiheen synteesireitti radikaalireaktion avulla sykloheksaanista alkaen tuottaa 53 % kokonaissaannon (kohta 3.2.4).¹⁹

3.2.1 Syntetisointi Diels-Alder -reaktiona

Fieser¹⁶ kehitti 1,4-naftokinonien synteesireittejä 1940-luvulla ja yksi hänen mielenkiintonsa kohteista oli parvakoni. Synteesien tavoitteina oli muodostaa Diels-Alder -reaktion kautta tuotteita mahdollisimman vähin välinvaihein. Parvakoni voidaan muodostaa *p*-bentsokinonista ja butadieenistä Diels-Alder -reaktion kautta syntetisoimalla 2-hydroksi-1,4-naftokinonia¹⁶ (kohta 3.2.1.1), johon liitetään sykloheksyyli-ryhmä 3-kohtaan.^{16,20} Toinen vaihtoehto on syntetisoida sykloheksyyli-*p*-

bentsokinonista ja butadieenistä 2-sykloheksyyli-1,4-naftokinonia (kohta 3.2.1.2), jonka 3-vety vaihdetaan hydroksyyli-ryhmäksi bromauksen kautta.¹⁶

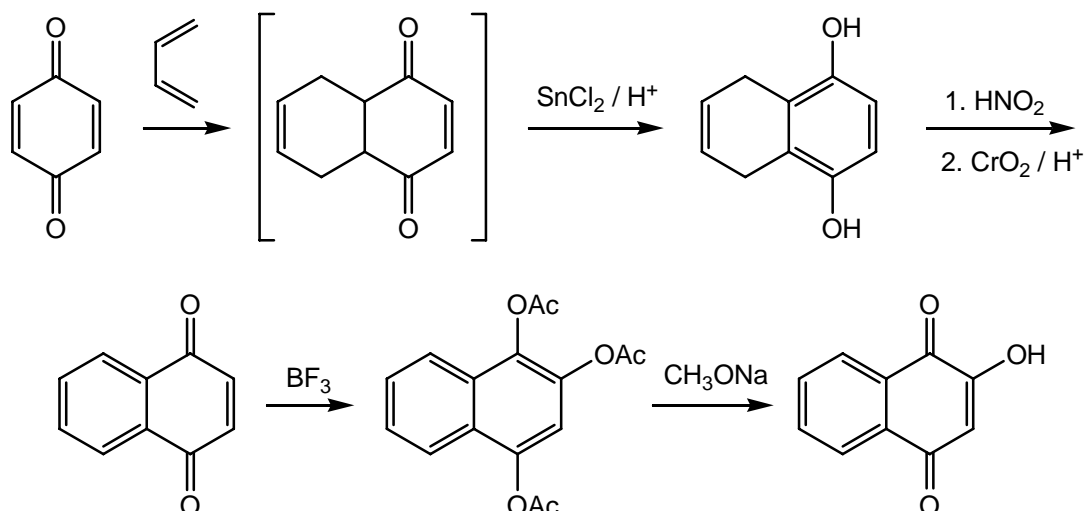
3.2.1.1 Syntetisointi sykloheksaanikarboksyylihaposta

Jäähdytettyyn etikkahappoon liuotettuun *p*-bentsokinoniin lisätään butadieeniä, reaktioastia suljetaan ja liuoksen annetaan seistä kaksi vuorokautta, jolloin syntyy Diels-Alder -reaktion kautta raakaväliuote (kuva 6).¹⁶ Seos suodatetaan ja ylimääräinen butadieeni poistetaan suodoksesta lämmittämällä. Väliuote isomerisoidaan suoraan eristämättä 5,8-dihydro-1,4-naftohydrokinoniksi lisäämällä liuokseen tina(II)kloridia suolahappoliuoksessa ja lämmittämällä liuosta 15 minuuttia.^{16,21} Tuote kerätään suodattamalla ja saannoksi muodostuu 88 %.¹⁶

Saatu väliuote liuotetaan kiehuvaan etikkahappoon. 100 °C:een liuokseen lisätään veteen liuotettua natriumnitraattia, josta osa poistuu kaasumaisina typen oksideina.¹⁶ Siksi nitraattiliuosta täytyy ehkä lisätä uudelleen. Tällöin hydroksyyli-ryhmät hapettuvat. Kun keltainen liuos on muodostunut, annetaan sen jäähtyä 65 °C:een. Samanlämpöistä natriumdikromaatin vesiseosta lisätään liuokseen rikkihappokatalyytin kanssa. Seoksen lämpötila pidetään samana 45 minuutin ajan, jolloin muodostuu diaromaattinen 1,4-naftokinoni. Seos kaadetaan jäävesiseokseen ja puhdistamatonta tuotetta saadaan 88 % saannolla.

Syntynyt 1,4-naftokinoni liuotetaan etikkahappoanhydridiin ja syntyneeseen liuokseen lisätään booritrifluoridia, jolloin Thielen reaktion²² kautta liuokseen alkaa syntyä 1,2,4-triasetoksinaftaleenikiteitä noin kahden tunnin kuluttua.¹⁶ Kiteet kerätään suodattamalla ja kiteytetään uudelleen etikkahaposta. Saannoksi muodostuu 81 %.

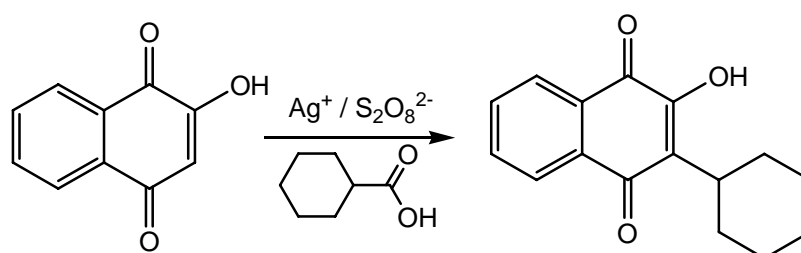
Jäähäuteella jäähdytettyyn metanoliin liuotettuun natriummetoksidiin lisätään triasetoksinaftaleenia. Seosta sekoitetaan tunnin ajan, kunnes muodostuu saippuoinnin tuloksena punainen väri, joka tulee hydroksinaftokinonin natriumsuolasta.¹⁶ Suodatettu suola liuotetaan kuumaan veteen ja happamoitetaan suolahapolla. Jäällä jäähdytettäessä tuote kiteytyy. Tuote kiteytetään uudelleen etikkahaposta, jolloin saannoksi saadaan 88 %.



Kuva 6. 2-Hydroksi-1,4-naftokinonin synteesi Diels-Alder -reaktion kautta.¹⁶

Parvakoni muodostetaan liittämällä 2-hydroksi-1,4-naftokinoniin sykloheksyyliiryhmä sykloheksaanikarboksyylihapon radikaalin hapettavan dekarboksylaation²³ kautta (kuva 7).²⁰ Synteesi on kuvattu kokeellisessa osassa (kohta 9.3.5). Tämän vaiheen heikkous on huonossa saannossa (25 %) sekä vaikeahkossa puhdistamisessa.

Parvakonisynteesin kokonaissaanto on vain 14 % johtuen viimeisen vaiheen heikosta saannosta (25 %).^{16,20}

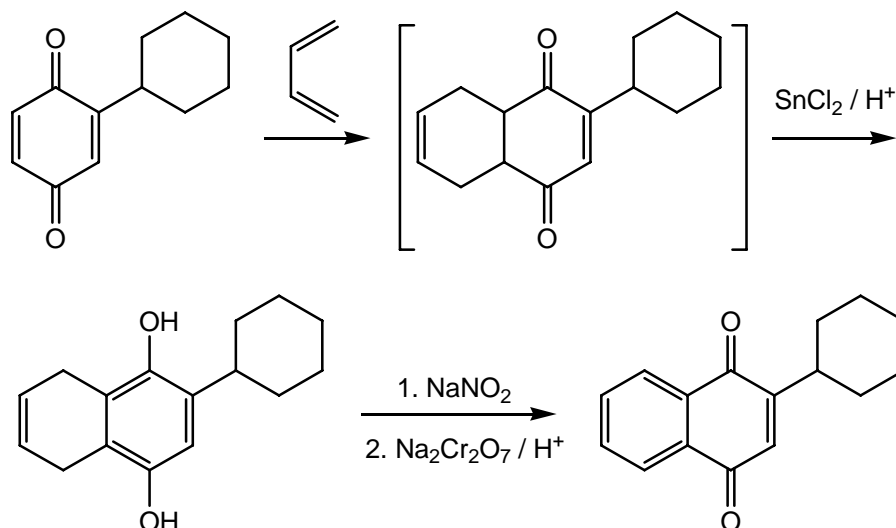


Kuva 7. Parvakonisynteesi sykloheksaanikarboksyylihaposta.²⁰

3.2.1.2 Syntetisointi sykloheksyylibentsokinonista

Synteesin alkuvaiheet ovat samantyyppisiä kuin kohdassa 3.2.1.1. Etikkahappoon liuotettua sykloheksyylibentsokinonia ja butadieeniä reagoitetaan ja välituote isomerisoidaan 2-sykloheksaani-5,8-dihydro-1,4-naftohydrokinoniksi tina(II)kloridin avulla happamissa olosuhteissa (kuva 8) kvantitatiivisella saannolla.¹⁶ Tämä hapetetaan natriumnitriitillä ja natriumdikromaatilla 2-sykloheksyyli-1,4-naftokinoniksi (94 %

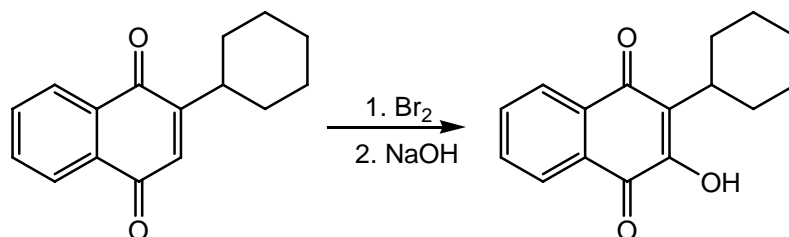
saanto). Naftokinoni voidaan valmistaa myös reagoittamalla bentsokinonia butadieenin kanssa etikkahapossa ja hapettamalla tuotteen natriumnitriitillä ja kromianhydridillä. Tämän synteesin saanto on kuitenkin edellä mainittua heikompi.



Kuva 8. 2-Sykloheksyyli-1,4-naftokinonin synteesi.¹⁶

2-Sykloheksyyli-1,4-naftokinoni ja natriumasetaattia liuotetaan etikkahappoon.¹⁶ Liuokseen lisätään bromia, reaktioastia suljetaan ja seoksen annetaan reagoida seitsemän päivää. Tämän jälkeen tuote saostetaan liuoksesta veden avulla. Uudelleenkiteytyä metanolista tuottaa bromattua tuotetta 80 % saannolla.

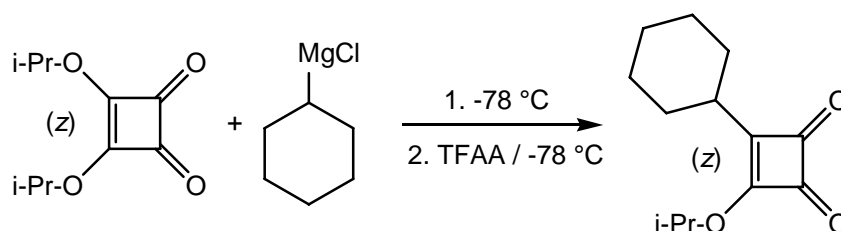
Bromattu naftokinoni muutetaan lopulliseen muotoon, 3-sykloheksyyli-2-hydroksi-1,4-naftokinoniksi, nukleofiilisen aromaattisen substituutioreaktion kautta natriumhydroksidin avulla.¹⁶ Bromattua sykloheksyyli-naftokinonia ja natriumhydroksidia refluksoidaan metanolissa tunnin ajan ja syntynyt parvakonin suola muutetaan lopulliseen muotoonsa tekemällä liuos happamaksi suolahapolla (kuva 9). Saannoksi muodostuu 95 % ja synteesireitin kokonaissaannoksi 71 %. Se on selkeästi parempi kuin edellisen Diels-Alder -synteesireitin 14 % saanto.



Kuva 9. 2-Sykloheksyyli-1,4-naftokinonin muuttaminen parvakoniksi.¹⁶

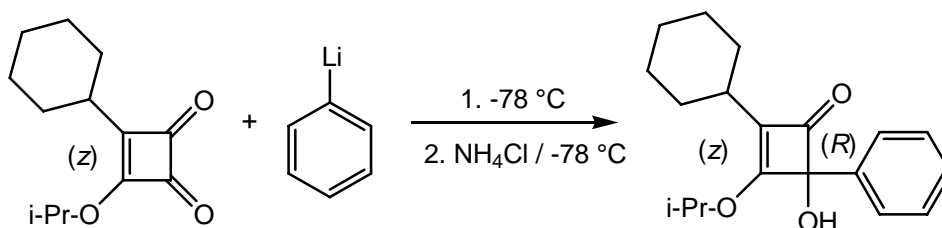
3.2.2 Syntetisointi di-isopropylioksisyklobutendionista

Liebeskindin *et al.*²⁴ kehittämän synteessin avulla valmistettu 1,2-di-*iso*-proppylioksisyklobutendioni (di-*iso*-proppylioksisquaraatti) voidaan reagoittaa sykloheksyyli­magnesiumkloridin kanssa Grignardin reaktiolla ja tästä saatu addukti on mahdollista edelleen reagoittaa fenyylilitiumin kanssa, jolloin saadusta välituotteesta voidaan muokata parvakoni 26 % kokonaissaannolla.^{17,25} THF:aan liuotettuun -78 asteiseen *Z*-1,2-di-*iso*-proppylioksisyklobutendioniliuokseen lisätään sykloheksyyli­magnesiumkloridia.¹⁷ 20 minuutin kuluessa syntyy 1,2-addukti, joka isomeroidaan Folandin *et al.*²⁵ kehittämän menetelmän avulla lisäämällä TFAA:a -78 °C:een liuokseen (kuva 10). Tällöin muodostuu *Z*-1-sykloheksyyli-2-*iso*-proppylioksisyklobutendioni. Liuoksen annetaan lämmetä huoneenlämpöiseksi ja siihen lisätään kylläistä ammoniumkloridiliuosta. Tuote uutetaan eetterillä. Muodostuu keltaista öljyä 93 % saannolla.¹⁷



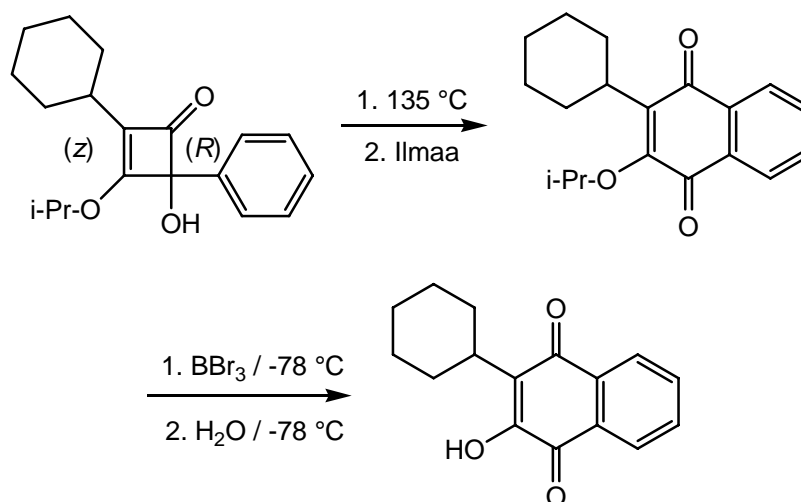
Kuva 10. Squaraatin muokkausreaktiot.^{17,25}

Fenyylilitium liitetään nukleofiilisen addition avulla syklobutendionin 4-karbonyyliryhmään, joka on 3-karbonyyliryhmää elektrofiilisempi.¹⁷ Synteesivaihe suoritetaan samassa lämpötilassa kuin edellinenkin THF:ssä. Vaihe viimeistellään lisäämällä liuokseen kylläistä ammoniumkloridiliuosta. Tuote uutetaan seoksesta eetterillä. Saadaan valkoista kiinteää (*R*)-enantiomeeria (kuva 11) 44 % saannolla.



Kuva 11. Parvakonirungon prekursori.¹⁷

Väliuotteen hajottaminen kuumentamalla 135 °C:ssa 45 minuutin ajan tuottaa diaromaattisen hydrokinonin, joka hapettuu ilman vaikutuksesta välittömästi 3-sykloheksyyli-2-*iso*-propyylioksi-1,4-naftokinoniksi (kuva 12).¹⁷ (R)-enantiomeeria sisältävä kolvi siirretään 135 °C hiekkahauteeseen ja kolvista poistetaan ilma typpivirran avulla. 45 minuutin kuluttua lähtöaine on muuttunut isopropyylioksihydrokinoniksi. Kolvi jäädytetään ja tuotetta sekoitetaan eetteriin liuotettuna kosketuksissa ilman kanssa. Neljän tunnin kuluessa muodostuu isopropyylioksinaftokinoni 77 % saannolla. Edellisen vaiheen tuotteeseen, joka on liuotettu -78 °C:een DCM:ään, lisätään tipoittain booribromidia DCM:ssä. Jäähdytyschaude poistetaan ja liuosta sekoitetaan 40 minuuttia huoneenlämmössä. Vettä lisätään liuokseen ja seosta sekoitetaan 20 minuuttia. Tällöin muodostuu parvakoni hydrolysoinnin kautta 81 % saannolla. Kokonaissaannoksi muodostuu 26 %.



Kuva 12. Parvakonin muodostaminen.¹⁷

3.2.3 Syntetisointi pentakarbonyyli[fenyyli(alkoksi)karbeeni]kromista

Harrity *et al.*¹⁸ tutkivat mahdollisimman hyväsaantoista synteesireittiä parvakonille kromikarbeenikompleksin kautta. He havaitsivat, että Dötzin bentssyklisaatio²⁶ tuottaa hyvällä saannolla kahdesta kaupallisesti saatavasta lähtöaineesta 2-sykloheksyyli-1,4-naftokinonin, joka voidaan hapettaa parvakoniksi.¹⁸

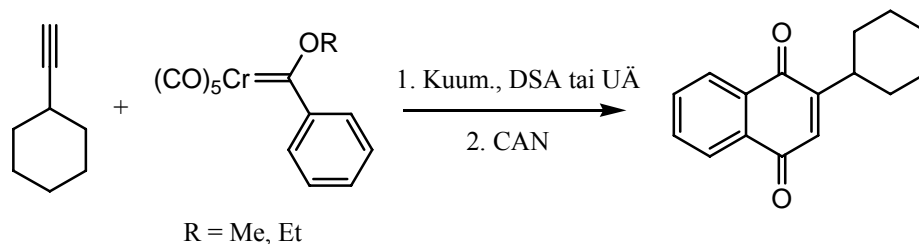
Dötzin bentssyklisaatioreaktiolle parvakonin syntetisoimiseen esitetään kolme erityyppistä reittiä: DSA-menetelmän avulla, ultraäänien avulla tai perinteisesti kuumentamisella.¹⁸ Kaikissa reiteissä on samat reagenssit, vain synteesiolosuhteissa on eroa. Reagoittamalla pentakarbonyyli[fenyyli(metoksi)karbeeni]kromia tai

pentakarbonyyli[fenyyli(etoksi)karbeeni]kromia sykloheksyylietyynin kanssa Harrity *et al.*¹⁸ ovat saaneet syntetisoitua eri olosuhteissa 2-sykloheksyyli-1,4-naftokinonia. Synteisien yhteydessä käytetään 1- ja 4-asemien alkoksi- ja hydroksyyliyhmiin hapettamiseen seriumammoniumnitraattia (CAN). Tämä tehdään ilmoitettujen menetelmien jälkeen ja sisältyy saantoon. Hapetus suoritetaan liuottamalla välituote eetteriin, lisäämällä veteen liuotettua CAN:ia ja sekoittamalla seosta voimakkaasti 30 minuutin ajan huoneenlämpötilassa. Tuote uutetaan eetterillä, kuivataan ja puhdistetaan flash-kromatografialla käyttäen eluentina 2:1 petrooli-DCM-seosta.

DSA-menetelmää käytettäessä metoksikromikompleksia, sykloheksyylietyyniä ja piidioksidia (silikaa) sekoitetaan keskenään eetterissä 5 minuutin ajan.¹⁸ Liuotin poistetaan alipaineessa jäävesihauteen avulla varoen, ettei sykloheksyylietyyniä poistu reaktioasiasta. Jäljelle jäänyttä jauhetta kuumennetaan tyypiatmosfäärissä 50 °C:ssa neljä tuntia, jonka jälkeen muodostuneesta vihertävästä jauheesta uutetaan tuote 10:1 eetteri-metanoli-seoksella. Liuottimet poistetaan ja välituote hapetetaan yllä kuvatun CAN-menetelmän mukaisesti. Muodostuu 2-sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (kuva 13). Vaiheen saanto on 68 %.

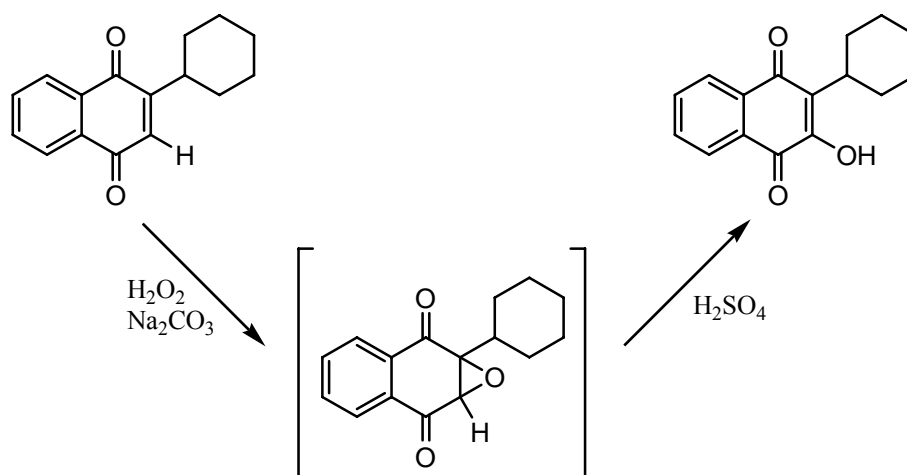
Etoksikromikompleksia käytettäessä menetelmä on muuten samanlainen kuin metoksikromikompleksia käytettäessä, mutta sekoitus aika eetterissä on 10 minuuttia ja jauheosiossa kuumennus tehdään 60 °C:ssa kahden tunnin ajan. Vaiheen saanto on 51 %. Perinteinen kuumennusmenetelmä eli metoksikromikompleksin ja sykloheksyylietyynin kuumennus di-*n*-butyylietterissä 70 °C:ssa 14 tunnin ajan tuottaa 72 % saannon.¹⁸ Etoksikromikompleksille ei ole ilmoitettu synteisiä kuumentamalla.

Käyttämällä ultraäänimenetelmää reaktioajat putoavat ja saannot paranevat. Alkoksikromikompleksia ja sykloheksyylietyyniä lisätään pieneen määrään THF:aa ja seosta käsitellään ultraäänillä 25 minuutin ajan, jolloin saannoiksi saadaan 83 % (lähtöaineena metoksikromikompleksi) ja 91 % (etoksikromikompleksi). Ultraäänimenetelmä tuottaa siis parhaan tuloksen vain pienellä määrällä liuotinta ja nopealla reagoimisajalla.¹⁸



Kuva 13. Parvakonin valmistamiseen soveltuvat Dötzin bentsyyklisaatioreitit.¹⁸

Lopputuote eli parvakoni muodostetaan epoksidaation kautta.¹⁸ Lämpimään etanoliin liuotettua 2-sykloheksyyli-1,4-naftokinonia jäähdytetään, kunnes se alkaa saostua. Veteen liuotettua vetyperoksidia ja natriumkarbonaattia lisätään liuokseen ja seosta sekoitetaan noin 90 minuutin ajan, kunnes keltainen väri katoaa. Liuokseen lisätään vettä, jolloin välituote saostuu valkoisena sakkana. Tämä uutetaan eetterillä, joka poistetaan ja jäljelle jäänyt öljy liuotetaan väkevään rikkihappoon. Tällöin havaitaan värinmuutos valkoisesta tummanpunaiseksi. Liuosta sekoitetaan tunnin ajan, jonka jälkeen siihen lisätään vettä ja liuosta uutetaan eetterillä. Eetteri poistetaan, jolloin jäljelle jää tuote eli parvakoni (kuva 14). Vaiheen saanto on 51 %. Parvakonin kokonaissaannoksi saadaan parhaassa tapauksessa 46 %, kun lähtöaineena käytetään etoksikromikompleksia ja menetelmänä ultraäänisynteesiä.

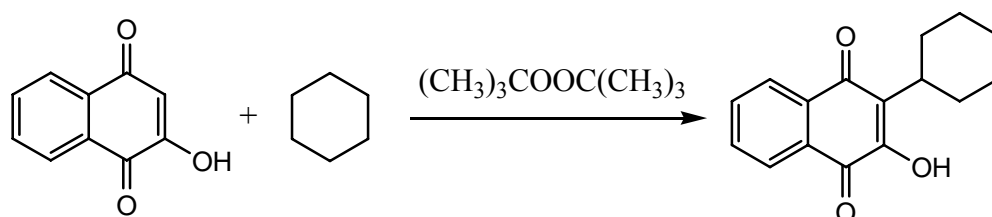


Kuva 14. Epoksidaatioreitti.¹⁸

3.2.4 Syntetisointi sykloheksaanista

Erittäin yksinkertainen parvakonin syntetisointimenetelmä on reagoittaa sykloheksaani ja 2-hydroksi-1,4-naftokinoni di-*tert*-butyyliperoksidin läsnäollessa, jolloin

sykloheksaani liittyy naftokinonin 3-hiileen radikaalireaktion kautta (kuva 15).¹⁹ Lämpö hajottaa di-*tert*-butyyliperoksidin kahdeksi radikaaliksi, joista toinen kaappaa sykloheksaanilta vedyn jättäen jäljelle sykloheksaaniradikaalin. Tämä kiinnittyy 2-hydroksi-1,4-naftokinonin 3-asemaan saaden aikaan uuden radikaalin. Tämän naftokinoniradikaalin reagoidessa ensin di-*tert*-butyyliperoksidin ja sen jälkeen peroksidiradikaalin kanssa muodostuu parvakoni 53 % saannolla.



Kuva 15. Parvakonin radikaalisyntetisointireitti.¹⁹

2-Hydroksi-1,4-naftokinonia, sykloheksaania ja di-*tert*-butyyliperoksidia kuumennetaan 125 °C:ssa 4–7 tuntia, jonka jälkeen ylimääräinen sykloheksaani haihdutetaan pois pyöröhaihduttimella. 2-Hydroksi-1,4-naftokinoni poistetaan liuottamalla tuote kuumaan bentseeniin (johon tuote liukenee) ja suodattamalla. Tuote kiteytetään sykloheksaanista. Parvakonin sisältävä liuos konsentroidaan ja tuote kiteytetään uudelleen sykloheksaanista.

3.3 Buparvakonin synteesit

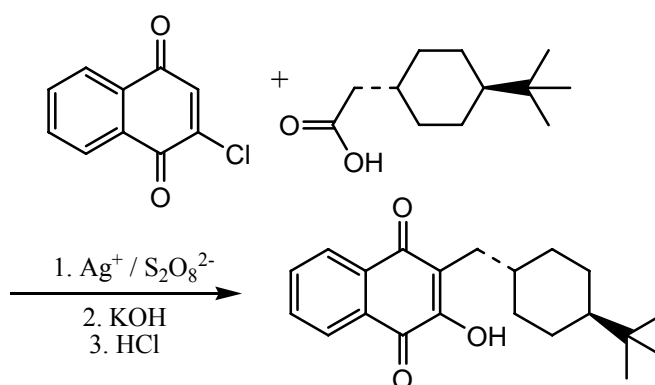
Lähdekirjallisuudesta löytyi vain yksi buparvakonin synteesireitti.²⁷ Menetelmä on yksivaiheinen ja kolmiosainen. Saantoa ei ole ilmoitettu.

3.3.1 Synteesi 2-kloori-1,4-naftokinonista

Buparvakoni voidaan valmistaa Hudsonin *et al.*²⁷ kehittämän menetelmän avulla. Menetelmä on samantyyppinen kuin kohdan 3.2.1.2 parvakonisynteesin toinen vaihe; reaktio tapahtuu radikaalin oksidatiivisen dekarboksylaation kautta.²³

2-Kloori-1,4-naftokinonia, 2-(*trans*-4-*tert*-butyyliisykloheksyyli)etikkahappoa ja hopeanitraattia refluksoidaan voimakkaasti sekoittaen asetonitriilissä. Veteen liuotettua ammoniumpersulfaattia lisätään hitaasti tipoittain seokseen tunnin aikana.²⁷ Tunnin refluksoinnin jälkeen seos jäädytetään ja saatu välituote (2-((*trans*-4'-*tert*-

butyyliisykloheksyyli)metyyli)-3-kloori-1,4-naftokinoni) kaadetaan jäihin. Syntynyt keltainen sakka suodatetaan ja pestään vedellä. Sakka liuotetaan kuumaan etyyliasetaattiin ja liuoksen jäähtyessä välituote kiteytyy. Välituotteen kloori-ryhmä substituoidaan hydroksidiryhmäksi kaliumhydroksidia käyttäen. Vesi-dimetoksietaani-seokseen liuotettua välituotetta refluksoidaan ja liuokseen lisätään veteen liuotettua kaliumhydroksidia 10 minuutin aikana. Refluksointia jatketaan 15 minuutin ajan, jonka jälkeen liuos jäädytetään huoneenlämpötilaan ja tehdään happamaksi väkevällä suolahapolla, jolloin tuote kiteytyy keltaisena sakkana (kuva 16).



Kuva 16. Buparvakonin synteesireitti.²⁷

Jos synteesi tehdään 2-(4-*tert*-butyyliisykloheksyyli)etikkahaposta, syntyy 1:1-suhteella raseeminen *cis/trans*-seos. Tämä voidaan muuttaa lähes täydellisesti *trans*-muotoon.²⁷ Raseeminen seos liuotetaan väkevään rikkihappoon ja kuumennetaan liuosta 70 °C:ssa 21 tuntia. Sen jälkeen seos viilennetään, kaadetaan tipoittain jäävesiseokseen ja lopuksi kiteytetään uudelleen tai puhdistetaan pylväskromatografialla. Tämä prosessi tuottaa 99,9 %:sesti *trans*-isomeeria eli buparvakonia.

4 RAKENNEMÄÄRITYS

4.1 Hydroksinaftokinonien rakennemääritys

Hydroksinaftokinonien rakennemääritystä on tutkittu laajasti. Myös tämän kirjallisuustutkimuksen aiheena olevien molekyylien rakennetta on tutkittu, mutta patentinalaisina niistä löytyy hyvin vähän rakennemääritykseen liittyvää tietoa. Tässä

luvussa tarkastellaan paitsi atovakonin, parvakonin ja buparvakonin myös joidenkin niiden analogien karakteristisia piirteitä.

4.2 NMR-spektroskopia

Atovakonin NMR-tietoja ei ole saatavilla. Solorio-Alvaradon *et al.*¹⁷ synteesiohjeissa ilmoitetaan parvakonin ¹H NMR-siirtymät (CDCl₃, 200 MHz). Sykloheksyyliiryhmän vetyjen piikit näkyvät rykelmänä siirtymällä $\delta = 1.21 - 2.05$ (m, 10 H). Sykloheksyyliiryhmän substituotuneen hiilen vety on vuorovaikutuksessa sykloheksyyliiryhmän aksiaalisten ja ekvatoriaalisten vetyjen kanssa. Siksi se antaa tripletin tripletin siirtymällä $\delta = 3,07$ (tt, 1H). Hydroksyyliiryhmä antaa piikin siirtymällä $\delta = 7.43$ (s, 1H). Naftokinonirungon vedyt näkyvät piikkirykelminä aromaattisella alueella $\delta = 7.60 - 7.80$ (m, 2H) ja $8.02 - 8.16$ (m, 2 H). Myös Harrityn *et al.*¹⁸ synteesiohjeissa ilmoitetut siirtymät (400 MHz, CDCl₃) sekä tämän tutkielman kokeellisessa osuudessa (kohta 11.10; liite 2) ilmoitetut tulokset ovat yhteneviä havaintojen kanssa.

Harrity *et al.*¹⁸ ilmoittavat myös parvakonin ¹³C NMR-siirtymät (100 MHz, CDCl₃). Sykloheksyyliiryhmän hiilet näkyvät siirtymillä $\delta = 26.2, 27.0, 29.4$ ja 32.5 , joista 26.2 ja 27.0 sisältävät kaksi hiiltä. Naftokinonirungon 6,9-hiilet näkyvät aromaattisella alueella $\delta = 126.1$ ja 127.1 ja substituotunut 3-hiili siirtymällä $\delta = 128.1$. Naftokinonirungon vedyttömät 5,10-hiilet tuottavat piikit siirtymillä $\delta = 129.4$ ja 132.9 ja 7,8-hiilet siirtymillä $\delta = 133.4$ ja 135.1 . Hydroksyyliiryhmään kiinnittynyt 2-hiili näkyy siirtymällä $\delta = 153.0$ ja karbonyylihiilet $\delta = 182.2$ (1-hiili) ja 184.8 (4-hiili). Solorio-Alvaradon *et al.*¹⁷ tulokset ja kohdan 11.10 (myös liite 3) ilmoitetut tulokset varmistavat nämä havainnot.

Buparvakonin NMR-tietoja ei ole saatavilla, mutta samankaltaisen molekyylin, 3-(*trans*-4-*tert*-butyyliisyykliheksyyliimetyyli)-2-metoksi-1,4-naftokinonin, ¹H NMR-siirtymät (500 MHz, CDCl₃) on ilmoitettu Mäntylän *et al.*²⁸ artikkelissa, joka käsittelee buparvakonin oksiiimijohdannaisia. Tämän molekyylin tertiaarisen butyyliiryhmän metyyliiryhmät antavat yhden piikin siirtymällä $\delta = 0.81$ (s, 9H). Sykloheksaanirenkään 4-hiilen vety sekä renkaan aksiaaliset vedyt näkyvät siirtymällä $\delta = 0.82 - 1.10$ (m, 5H), 1-hiilen vety $\delta = 1.49$ (m, 1H), ekvatoriaaliset vedyt $\delta = 1.74$ (m, 4H) ja naftokinonin 3-asemassa kiinni olevan metyleenihiilen vedyt $\delta = 2.50$ (d, 2H). Seuraavat tiedot

poikkeavat todennäköisesti buparvakonin NMR-tiedoista, sillä hydroksyyliiryhmän tilalla on metoksiryhmä, joka muuttaa protonien siirtymiä aromaattisella alueella. Metoksiryhmä antaa siirtymän $\delta = 4.11$ (s, 3H) ja naftokinonirungon vedyt $\delta = 7.69$ (m, 2H) sekä $\delta = 8.05$ (m, 2H).

4.3 IR-spektroskopia

Atovakonin ja buparvakonin IR-tietoja ei ole saatavilla. Parvakonin hydroksyyliiryhmä näkyy keskivoimakkaana piikkinä IR-spektrissä alueilla 3680, 3595 ja 3520 cm^{-1} (FTIR, CH_2Cl_2 , ν_{max}).¹⁸ Alifaattiset sykloheksyyliiryhmän C-H-venytykset tuottavat voimakkaat piikit kohtiin 2930 ja 2867 cm^{-1} ja karbonyyliiryhmät näkyvät voimakkaana piikkinä alueella 1671 cm^{-1} . Aromaattiset C=C-venytykset tuottavat voimakkaan piikin alueella 1596 cm^{-1} .

4.4 Massaspektrometria

Parvakonin kaltaisen 2-sykloheksyyli-1,4-naftokinonin massaspekttri on analysoitu kokeellisessa osassa (kohta 11.17), joka on liitteenä 7 (ESI-TOF MS). Yhdisteen molekyyli-ionipiikki on $m/z = 240$. Seuraava iso piikki on kohdassa $m/z = 172$. Toinen iso piikki on kohdassa $m/z = 144$.

4.5 Muut karakteristiset tiedot

Parvakonin sulamispisteeksi ilmoitetaan 133-135 $^{\circ}\text{C}$ ¹⁷ ja 136-137,5 $^{\circ}\text{C}$ ¹⁹. Buparvakonin sulamispiste on 180-182 $^{\circ}\text{C}$.²⁷ Buparvakonin sekä buparvakonin kuparikompleksin röntgenkristallografialla määritetyt yksikiderakenteet tunnetaan.²⁹ Kuparikompleksi muodostuu Cu^{2+} -ionista, kahdesta buparvakoni-ionista ja kahdesta etanolimolekyylistä. Buparvakonin 1-karbonyylihappi ja deprotonoitunut hydroksyylihappi muodostavat sidoksen kupari-ionin kanssa.

5 LÄÄKETIETEELLINEN KÄYTTÖ

Hydroksinaftokinonien tutkiminen lääketieteelliseen käyttöön alkoi 1940-luvulla, kun toisen maailmansodan aiheuttama pula kiniinistä, jota käytettiin malariaa vastaan, johti potentiaalisten uusien malarialääkkeiden kehittämiseen ja tutkimiseen.¹ Noin kolmensadan syntetisoidun kinonin joukosta osan huomattiin olevan parempia malarian yhtä lajia, ankoilla esiintyvää *Plasmodium lophuraeta*, vastaan kuin kiniini. Kinoneista usealla oli oraalisesti nautittuna bioaktiivisuusongelmia: pääasiassa huono absorptio ja aineen nopea metabolisointi elimistössä.^{30,31} Näissä tutkimuksissa ei kuitenkaan käynyt ilmi potentiaalisten lääkeaineiden tehokkuus ihmisen malarialoista *Plasmodium falciparumia* vastaan. Vasta Hudsonin *et al.*³² tekemissä tutkimuksissa 1991 havaittiin, että atovakoni oli ainoa hydroksinaftokinonijohdannainen, joka oli tehokas *P. falciparumia* vastaan *in vitro* -kokeissa sekä inertti ihmisen maksan mikrosomeille. Nykyään atovakonia myydään lääkkeeksi malariaa vastaan Malarone[®]-nimellä.⁵ Valmiste sisältää myös proguaaniilyhdistettä (kohta 5.1.4).^{5,33}

Atovakonia on tutkittu rottakokeilla profylaksina (ennaltaehkäisevänä hoitokeinona) PCP-infektiota eli pneumokystiskeuhkokuumetta vastaan 1980-luvun loppupuolelta alkaen.³⁴ Falloon *et al.*³⁵ ovat todistaneet vuonna 1991, että lääkeaine on tehokas parannuskeino PCP-infektioon ihmisillä. Sitä on käytetty sekä lääkkeenä että profylaksina vuodesta 1992 lähtien Mepron[®]-nimellä (kohta 5.1.5).^{6,35} Atovakonin tehoa myös toksoplasmoosia vastaan on testattu alun perin hiirikokeilla vuonna 1990.³⁶ Onnistuneet tulokset johtivat useisiin kliinisiin tutkimuksiin.³⁷ Nykyään atovakoni on käytössä toksoplasmoosin hoidossa (kohta 5.1.6). Atovakoni on lääkkeenä myös harvinaista babesioosia vastaan (kohta 5.1.6).³⁸

Myös parvakonia on tutkittu 1940-luvulta alkaen, mutta sillä ei ole malarian vastaisia vaikutuksia.¹ Kuitenkin 1970-luvun lopulla sen huomattiin olevan tehokas lääke naudoilla esiintyvää theilerioosia vastaan (kohta 5.2.2).³⁹⁻⁴¹ Muita hoitokohteita sillä ei nykyään ole.

Buparvakoni on parvakonin tapaan tehokas lääkehoito theilerioosiin. Tämän lisäksi sillä voidaan ennaltaehkäistä em. tautia (kohta 5.3.2).^{39,42} Buparvakonilla voidaan myös

hoitaa ja ehkäistä trooppista theilerioosia, joka on niin ikään nautaeläinten sairaus (kohta 5.3.3).^{42,43} Buparvakonilla ei ole muita lääketieteellisiä sovellutuksia.

5.1 Atovakonin lääketieteellinen käyttö

5.1.1 Yleistä

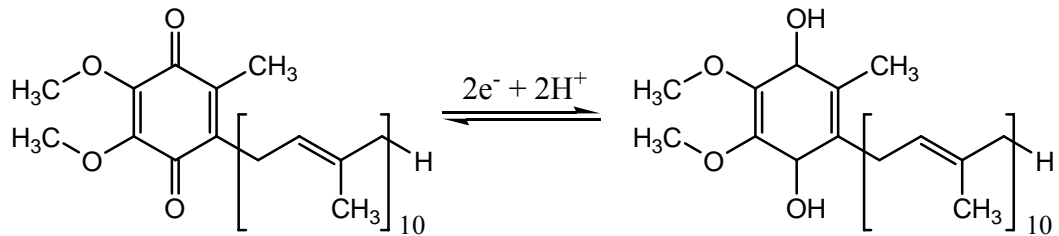
Atovakonin tehoa on tutkittu pääasiassa ihmisillä esiintyviä alkueläinloistauteja vastaan. Tästä johtuen eläinlääketieteellistä informaatiota on niukasti, ja tämä kappale käsittelee vain ihmisillä esiintyviä tauteja.

GlaxoSmithKline-lääkeyhtiö valmistaa ja markkinoi atovakonipohjaista lääkeainetta, jonka kaupallinen nimi on Mepron[®].⁶ Lääke on tarkoitettu PCP-infektion ja toksoplasmoosin hoitoon sekä profylaksiaan. Sama lääkeyhtiö valmistaa myös malarialääkettä Malarone[®], joka sisältää atovakonin lisäksi proguaaniili-yhdistettä.⁵ Atovakonin käyttöä rajoittaa sen kallis hinta. Siksi sitä käytetään yleensä vain, jos halvemmat lääkkeet eivät tehoa.

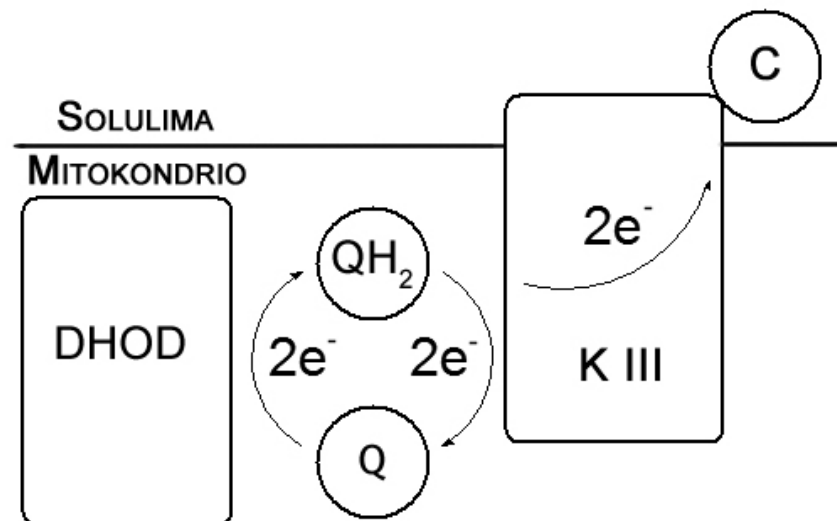
5.1.2 Toimintamekanismi

Atovakoni on tehokas lääkeaine yksisoluisten loisten aiheuttamia sairauksia vastaan.⁴⁴ Sen tehokkuus perustuu loisen mitokondrion sisäkalvolla olevan sytokromi bc_1 -entsyymikompleksin inhibointiin.^{2,3,45} Sytokromi bc_1 -kompleksi eli kompleksi III on mitokondrioiden sisäpinnalla sijaitseva sytokromireitin elektroninsiirtäjä ja oleellinen osa soluhengitystä ja siten energiantuotantoa. Sytokromi bc_1 on sytokromi b :stä ja c_1 :stä koostuva dimeeri, jonka alayksiköiden koostumukset vaihtelevat eliölajeittain. Lisäksi kompleksiin kuuluu mm. Rieske-proteiini, joka sisältää rauta-rikkiosan. Kompleksin inhibointi estää elektronien siirtämisen hengitysketjussa ja romahduttaa mitokondrion kalvopotentialin, jotka estävät malarialoista tuottamasta nukleiinihappoja ja adenosinitrifosfaattia.^{2,3} Inhibointi on erittäin selektiivinen tiettyjen loiseläinten sytokromikomplekseille.² Se ei vaikuta isännän (nisäkkään) omien eikä myöskään esimerkiksi suolistobakteerifaunan mitokondrioiden toimintaan merkittävästi.^{2,3,10}

Atovakoni on ubikinonin eli koentsyymi Q10:n rakenneanalogi (kuva 17).² Ubikinoni on elektroninsiirtäjämolekyyl, joka pelkistyneessä muodossaan (ubikinoli, kuva 17) sitoutuu sytokromi bc_1 -kompleksiin ja siirtää elektroneja mitokondrion sisäkalvolla sijaitsevalle sytokromi c -kompleksille samalla hapettuen ubikinoniksi (kuva 18).⁴⁶ Sytokromi bc_1 katalysoi tätä prosessia ja siirtää samalla protoneja kalvojen läpi.⁴⁷



Kuva 17. Ubikinonin ja ubikinolin rakennekaavat.

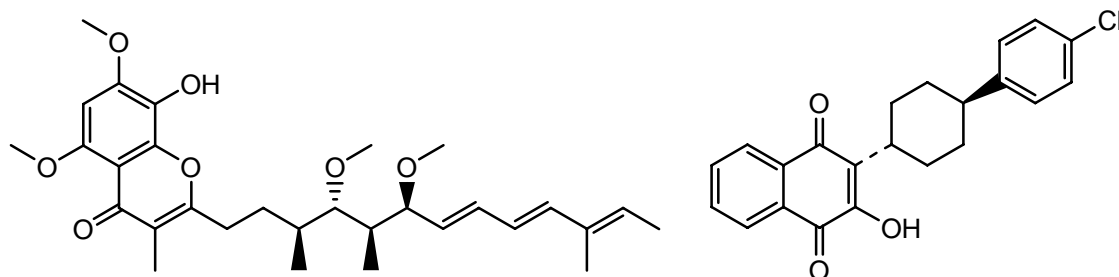


Kuva 18. DHOD luovuttaa kaksi elektronia ja protonia ubikinonille (Q), joka pelkistyy ubikinoliksi (QH_2). Ubikinoli sitoutuu sytokromi bc_1 -kompleksiin (K III), joka katalysoi ubikinolia luovuttamaan kaksi elektronia sytokromi c -kompleksille (C).

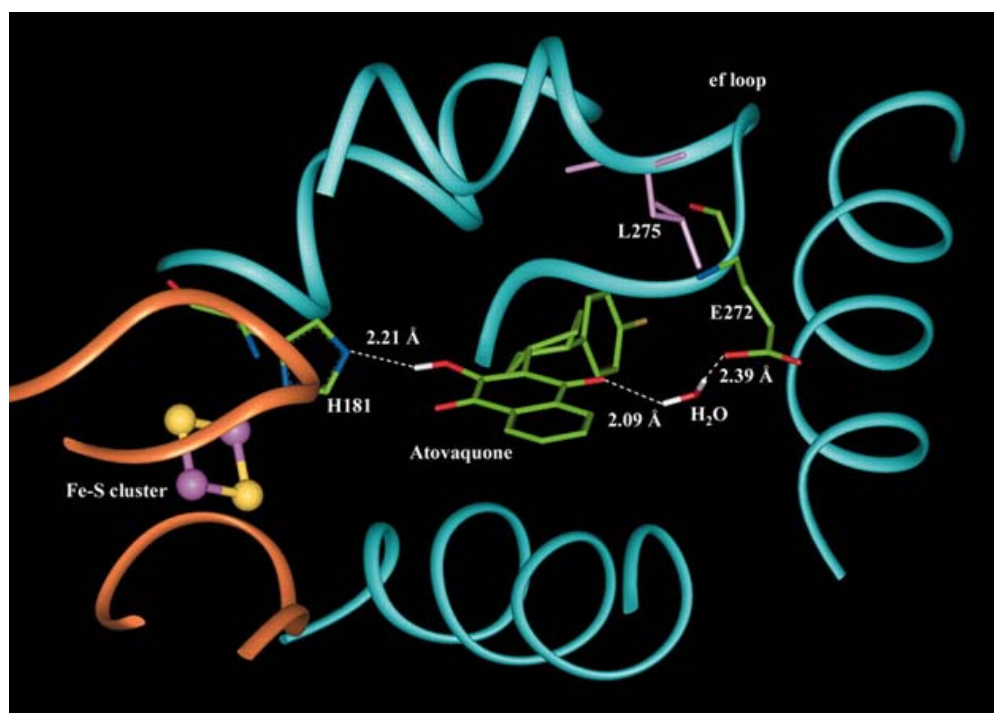
Kessl *et al.*² ovat tutkineet atovakonin sitoutumista sytokromi bc_1 -kompleksiin käyttäen sijaisisäntänä *Saccharomyces cerevisiae* -hiivaa. Hiivan ja *Plasmodiumin* sekä *Pneumocystis jirovecin* sytokromi b :t ovat hyvin samankaltaisia. Lisäksi hiivan entsyymi on helposti puhdistettavissa ja sen kiderakenne on tunnettu.⁴⁸

Stigmatelliini (kuva 19) on kilpaileva inhibiittori, joka sitoutuu ubikinolin sitoutumispaikkaan bc_1 -kompleksissa.² Stigmatelliinin bentsopyranoniossa sitoutuu hiivan bc_1 -kompleksin sytokromi b :n Glu²⁷²-ryhmään hydroksyyliiryhmällään ja

Rieske-proteiinin His¹⁸¹-ryhmään karbonyyliryhmällään.⁴⁸ Atovakoni sitoutuu samankaltaisen rakenteen vuoksi samaan ubikinolin hapetuspaikkaan. Se on siis stigmatelliinin tapaan entsyymin kilpaileva inhibiittori.² Atovakoni sitoutuu *bc*₁ -kompleksiin muodostamalla hydroksyyliiryhmällään vetysidoksen Rieske-proteiinin His¹⁸¹-tyypeen ja 4-karbonyyliryhmällään vesimolekyylin kautta vetysidoksen sytokromi *b*:n Glu²⁷²-ryhmän kanssa (kuva 20). Tämä tarkoittaa, että naftokinonissa pitää olla kiinni 2-hydroksyyliiryhmä, jotta se voisi inhiboida kompleksia.



Kuva 19. Stigmatelliini on atovakonin tapaan hiivan entsyymin kilpaileva inhibiittori.²



Kuva 20. Atovakonin sitoutuminen sytokromi *bc*₁ -kompleksiin.² Sytokromi *b* -kompleksi näkyy kuvassa vaaleansinisenä ja Rieske-proteiini kuparinvärisenä.

Normaalisti elektronit siirtyvät solulimasta sytokromi *bc*₁ -kompleksin kautta mitokondrion sisäosiin. Tämä tuottaa mitokondrion sisä- ja ulkopuolen välisen kalvopotentialin. Kun atovakoni sitoutuu kompleksiin, loisen mitokondrion

kalvopotentiaali romahtaa.⁴⁹ Tämä lakkauttaa ATP-synteesin, joka johtaa loisen kuolemaan.

Atovakoni inhiboi myös pyrimidiinisynteesiä, josta seuraa DNA-synteesin pysähtyminen ja loinen ei pysty enää lisääntymään.⁵⁰ Atovakoni inhiboi dihydro-orotaatti dehydrogenaasia (DHOD, kuva 18), joka normaalisti siirtää elektroneja ja protoneja ubikinonille, joka pelkistyy ubikinoliksi. Tässä tilanteessa ubikinoni ei pysty pelkistymään ja samalla ATP-synteesi hidastuu tai pysähtyy.

Atovakoni on selektiivinen loisen mitokondrioille eikä sillä ole huomattavaa vaikutusta isännän mitokondrioiden kalvopotentiaalille. Se ei siis vaikuta nisäkkäiden mitokondrioiden toimintaan.^{2,3,10} Sytokromientsyymit ovat mitokondrion DNA:sta koodattuja. Mitokondrion DNA-polymeraasi ei oikolue kopioitua DNA-säiettä yhtä tehokkaasti kuin isäntäsolun DNA-polymeraasi replikoidessaan DNA:ta.⁴⁴ Tämä altistaa sytokromit herkästi mutaatioille ja siitä johtuen atovakonia vastaan voi kehittyä nopeasti resistenssi.

5.1.3 Imeytyminen ja metabolia ihmisessä

Atovakonia käytettiin sen ilmestyttyä markkinoille vuodesta 1992 lähtien tablettina, mutta sen huonon ja epäluotettavan biosaatavuuden takia sen annostelemiseen alettiin käyttää pienen partikkelikoon atovakonisuspensiota vuodesta 1999 lähtien Mepron[®]-lääkkeessä.^{6,51} Tämä parantaa atovakonin imeytymistä kaksinkertaisesti tablettimuotoon verrattuna.⁶ Rasvaisen aamiaisen syöminen 45 minuuttia ennen 500 mg atovakonitabletin ottamista lisää atovakonin käyrän alle jäävän alueen (AUC) keskiarvoa veriplasmassa 3,3-kertaisesti ja veriplasman lääkekonsentraatiomaksimia (C_{max}) 5,4-kertaisesti verrattuna ryhmään, joka ei syönyt lääkkeen nauttimisen yhteydessä.⁵¹ Lääkesuspension nauttiminen rasvaisen ruoan kera myös parantaa atovakonin imeytymistä kaksinkertaistaen sen verikonsentraation 15 µg/ml:sta 30 µg/ml:aan 750 – 1500 mg annoksilla verrattuna lääkesuspension nauttimiseen ilman rasvaista materiaalia.^{6,51}

Atovakoni sitoutuu yli 99,9 % veriplasman proteiineihin.⁶ Lääkeaine ei kulkeudu verisuonissa vapaasti vaan kuljetusproteiineihin sitoutuneena. Sen puoliintumisaika pitenee, jolloin lääke vaikuttaa pidemmän aikaa kuin, jos se kulkisi vapaana

verisuonissa. Atovakoni ei kuitenkaan syrjäytä toisia voimakkaasti proteiineihin sitoutuvia lääkeaineita; atovakoni on turvallinen aine käyttää muiden lääkkeiden kanssa.

Atovakoni ei tuhoudu aktiivisesti munuaisissa eikä maksassa ja vain alle yksi prosentti siitä poistuu elimistöstä virtsan mukana.^{6,52} Yli 94 % atovakonista poistuu elimistöstä enterohepaattisen kierron avulla ulosteiden mukana kolmen viikon aikana. Normaaleilla annostuksilla atovakonin puoliintumisaika kehossa on 51–77 tuntia.⁵²

5.1.4 Atovakoni malarian hoidossa

Malaria on *Plasmodium*-suvun alkueläinten eli malarialoisten aiheuttama kuumetauti nisäkkäillä. Ihmisillä malarian aiheuttaa pääasiassa *P. falciparum* -loinen, mutta myös *P. vivax*, *P. ovale* ja *P. malariae* ovat taudin aiheuttavia malarialoisia.⁵³ Malaria on eräs maailman yleisimmistä tartuntataudeista ja sitä esiintyy trooppisissa ja subtrooppisissa osissa Aasiaa, Etelä-Amerikkaa ja Saharan eteläpuoleisessa osassa Afrikkaa.⁵⁴ Malariaan sairastuu vuosittain 400–900 miljoonaa ihmistä, joista yhdestä kolmeen miljoonaa ihmistä kuolee joka vuosi. Tautiin ei ole olemassa rokotusta, vaan malariaa hoidetaan joko ennaltaehkäisevästi tai vasta tartunnan saatua lääkkeillä. Malariaan kuitenkin kehittyä resistenssejä kantoja. Tästä johtuen uusia lääkkeitä ja lääkeyhdistelmiä tutkitaan jatkuvasti.

Kun malariaa kantava hyttynen pistää ihmistä, malarialoiset siirtyvät verenkierron kautta maksasoluihin, joissa ne lisääntyvät suvuttomasti.⁵⁵ Maksasolusta purkautuu tuhansia jälkeläisiä, jotka siirtyvät verenkiertoon ja aloittavat uuden vaiheen malariatartunnassa infektoiden punasoluja. Punasoluissa malarialoiset lisääntyvät taas suvuttomasti ja purkautuvat isäntäpunasoluista tuhoten ne, ja jatkavat tätä sykliä uusissa punasoluissa. Tästä seuraa malarialle tyypilliset anemian tyypiset oireet. Atovakoni tehoa juuri punasoluvaiheen malarialoisia vastaan.

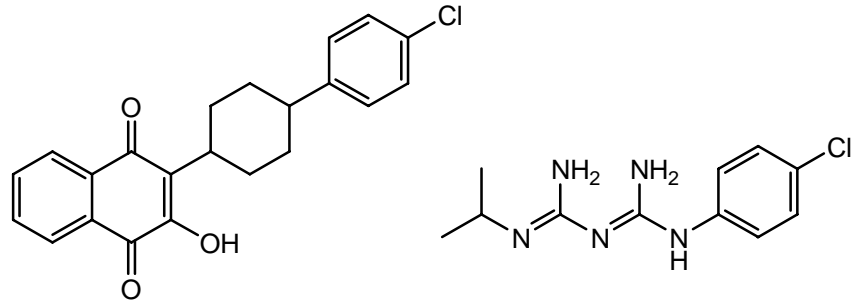
Lääkkeellä todetaan olevan parantava vaikutus malariaa vastaan, kun malarialoista ei löydy verisuonista seitsemän päivän kuluessa hoidon alkamisesta ja tauti ei uusiudu 28 päivän kuluessa.³³ Atovakoni on tehokas lääkeaine malariaa vastaan ja se on todettu tehokkaaksi tautia aiheuttavia *Plasmodium*-suvun alkueläimiä vastaan.

Malarian hoitoon kehitetyt lääkkeet, kuten kiniini, Fansidar (sulfadoksiinin ja pyrimetamiinin seos), meflokiini ja doksisykliini, ovat osoittautuneet ajan myötä joko tehottomiksi tai niillä on liikaa sivuvaikutuksia.⁴⁴ Niiden tilalle on etsitty uutta tehokasta ja turvallista lääkettä. Tämä on johtanut atovakonin kehittämiseen. Atovakoni on tehokas malarialääke, mutta sen käyttäminen yksinään johtaa taudin uusiutumiseen ja mahdollisesti resistanssin syntymiseen.^{33,56} 33 %:lla atovakonilla lääkityistä malariapotilaista malaria uusiutui ja uusiutumisen aiheuttaneiden loisten atovakoninsietokyky oli jopa 1000-kertainen.⁵⁶ Resistenssin aiheuttaa mutaatio CYT *b*-geenissä, joka koodaa sytokromi *b*:tä. Yhteensä 89 potilaalla suoritetussa viidessä eri tutkimuksessa atovakonin parannusteho oli 66 %, joskin keskiarvoa laski 500 mg:n kerta-annoshoito 25 % parannusteholla (taulukko 1).³³

Taulukko 1. Atovakonin tehokkuus malariaa vastaan³³

Tutkimus	Atovakonin annostus (mg)	Koehenkilöitä	Parannusteho (%)
115-003	500 x 1	8	25
115-005	750 x 4 x 4 vrk	25	72
115-003	750 x 4 x 9 vrk	4	75
115-005	750 x 4 x 21 vrk	23	61
115-012	750 x 4 x 21 vrk	29	76
<i>Yhteensä</i>		89	66

Kun atovakonia käytetään toisen malarialääkkeen, proguaniilin (proguaniilihydrokloridi, kuva 21), kanssa, niiden yhteisvaikutus on synerginen ja estää resistenssin syntymistä.^{33,57} Atovakonin ja proguaniilin yhdistelmä on kaupallisesti saatavana lääkkeenä Malarone[®]-nimellä malariaa vastaan. Se sisältää 250 mg atovakonia ja 100 mg proguaniilihydrokloridia per annostabletti. Sen suositeltu annostelu on kolmesti päivässä kolmen päivän ajan.⁵ Malarone[®] on todettu turvalliseksi ja erääksi tehokkaimmaksi nykyiseksi malarialääkkeeksi.³³ 505 potilaalla suoritetuissa tutkimuksissa Malaronen[®] parannusteho akuuttia malariaa vastaan todettiin olevan 99 % (taulukko 2).^{33,44} Malarone[®] on myös erittäin tehokas profylaksi malariaa vastaan (taulukko 3), jossa ennaltaehkäisevä lääkitys on jatkuvaa. Atovakoni-proguaniili-yhdistelmä ei kuitenkaan ole välttämättä tehokas lääke muita *Plasmodium*-suvun loisten aiheuttamaa malariaa vastaan. Esimerkiksi *P. vivax* ja *P. ovale* loisten aiheuttamaan malariaan Malarone[®] tehoaa, mutta tauti uusiutuu ellei ohessa käytetä primakiinifosfaattipohjaista lääkettä.⁴⁴



Kuva 21. Atovakoni ja proguaaniili, Malarone[®]-lääkkeen vaikuttavat aineet.

Taulukko 2. Atovakonin ja proguaaniilin tehokkuus hoitokeinona malariaa vastaan⁴⁴

Tutkimus	Annostus (atovakoni / proguaaniili, mg)	Koehenkilöitä	Parannusteho (%)
Thaimaa, 1996	1000/400 x 3 vrk	24	100
Gabon, 1996	1000/400 x 3 vrk	63	87
Brasilia, 1997	1000/400 x 3 vrk	77	99
Thaimaa, 1998	Painon mukaan x 3 vrk	26	100
Thaimaa, 1999	1000/400 x 3 vrk	79	100
Sambia, 1999	1000/400 x 3 vrk	80	100
Kenia, 1999	Painon mukaan x 3 vrk	81	94
Filippiinit, 1999	Painon mukaan x 3 vrk	54	100
Ei-immuunit turistit, 2000	1000/400 x 3 vrk	21	100
<i>Yhteensä</i>		505	99

Taulukko 3. Atovakonin ja proguaniilin tehokkuus profylaksina⁴⁴

Tutkimus	Annostus (atovakoni / proguaniili, mg)	Koehenkilöitä	Profylaktinen teho (%)
Kenia, 1998	250/100 x 1/vrk	54	100
Gabon, 1998	Painon mukaan x 1/vrk	115	100
Sambia, 1999	250/100 x 1/vrk	102	95
Ei-immuunit turistit, 2000	250/100 x 1/vrk	501	100
Ei-immuunit turistit, 2001	250/100 x 1/vrk	489	100
Etelä-Afrikka, 1999	250/100 x 1/vrk	113	99
<i>Yhteensä</i>		<i>1374</i>	<i>99,8</i>

5.1.5 Atovakoni PCP-infektion hoidossa

Pneumokystiskeuhkokuume (eng. *Pneumocystis pneumonia*, PCP) on *Pneumocystis jiroveci* -hiivamaisen sienen aiheuttama keuhkokuumeinfektio.⁵⁸ Taudinaiheuttaja tunnettiin ennen nimellä *Pneumocystis carinii* rotilla tehtyjen kokeiden perusteella. Myöhemmin ihmisillä esiintyvän eliön todettiin olevan toista lajia. Vaikka ainoastaan *P. jiroveci*:tä esiintyy ihmisissä, kumpaakin nimitystä käytetään vielä yleisesti taudinaiheuttajan nimenä. Taudinaiheuttajan kuviteltiin myös virheellisesti olevan alkueläin. PCP:tä esiintyy pääasiassa vain AIDS:ia sairastavilla tai ihmisillä, joilla on muuten heikko immuunijärjestelmä, kuten aliravituilla vauvoilla ja vanhuksilla. *P. jiroveci*:tä esiintyy kaikkialla maailmassa maaperässä ja vesistöissä. PCP:n ei uskota leviävän ihmisestä ihmiseen, joskaan tätä ei ole pystytty todistamaan.

Ennen kuin AIDS:ia vastaan alettiin käyttää tehokkaita antiretroviruslääkkeitä, jopa 75 % AIDS:ia sairastavista potilaista kärsi PCP:stä jossain sairauden vaiheessa.⁵⁹ Pneumokystiskeuhkokuume on suuri terveysriski HIV-tartunnan saaneille, joiden CD4-soluluku on pudonnut alle 200 soluun/mm³.⁶⁰

Vuonna 1991 ihmisillä suoritetuissa alustavissa tutkimuksissa Falloon *et al.*³⁵ ovat lääkinneet atovakonilla PCP:tä sairastavia ja sen aikaisen tehokkaan PCP-lääkkeen,

trimetopriimin ja sulfametoksatsolin kombinaation (TMP-SMX), voimakkaista sivuoireista kärsiviä AIDS-potilaita. He antoivat koehenkilöille kahdesta neljään kertaan vuorokaudessa 750 mg atovakoniannoksen tabletteina 21 päivän ajan. Tutkimus paransi 79 % potilaista (n = 34), joilla oli lievä tai keskivaikea PC-keuhkokuume. Atovakoni on yhtä tehokas lääke PCP:n hoitoon kuin TMP-SMX (taulukko 4).⁶ Tästä johtuen atovakoni on ollut hyväksytty lääkeaine PCP:n hoitoon vuodesta 1992 lähtien Mepron[®]-nimellä.³⁵ Mepron[®] sisältää 750 mg atovakonia 5 ml suspensiota kohden. Lääkkeen annostus PCP:tä vastaan on 750 mg (5 ml) kahdesti päivässä 21 päivän ajan.⁶

Taulukko 4. Atovakonin parannusteho verrattuna TMP-SMX:ään⁶

	Atovakoni	TMP-SMX
Potilaita tutkimuksessa	160	162
Parantuneita potilaita	99 (62 %)	103 (64 %)
Potilaat, jotka tarvitsivat lisäksi muuta PCP-terapiaa	55 (34 %)	55 (34 %)

Rosenberg *et al.*⁶¹ ovat julkaisseet vuonna 2001 metatutkimuksen, jossa tutkittiin 54 HIV:iä kantavan PCP-potilaan hoitoa atovakonitableteilla (3 x 750 mg päivässä, 20 potilasta) ja -suspensiolla (2 x 750 mg päivässä, 34 potilasta). Tableteilla lääkityistä potilaista 70 % parani ja 30 %:lla lääkitys ei toiminut. Suspensiolla lääkityistä potilaista 74 % parani, 15 %:lla lääkitys ei toiminut ja 15 % joutui lopettamaan lääkityksen muista syistä. Tutkimuksen tuloksena on, että atovakonisuspensio on tehokas ja hyvin siedettävä lääkitys pneumokystiskeuhkokuumeeseen. Myös aiemmat tutkimukset tukevat tuloksia (taulukko 5).⁴⁴ Suspensiota käytetään myös PCP:n ennaltaehkäisemiseen, jos TMP-SMX ei käy. Annos on 1500 mg (10 ml) suspensiona per päivä jatkuvasti.^{6,62}

Taulukko 5. Atovakonin tehokkuus PCP:n hoidossa⁴⁴

Tutkimus	Atovakonin annostus, mg	Koehenkilöitä	Parannusteho (%)
Falloon <i>et al.</i> , 1991	750 x 3 x 5 vrk tai 750 x 2 x 16 vrk	10	90
Falloon <i>et al.</i> , 1991	750 x 3 x 21 vrk	15	87
Falloon <i>et al.</i> , 1991	750 x 4 x 21 vrk	7	71
Hughes <i>et al.</i> , 1993	750 x 3 x 21 vrk	138	62
Dohn <i>et al.</i> , 1994	750 (tabletti) x 3 x 21	50	57

5.1.6 Atovakoni toksoplasmoosin hoidossa

Toksoplasmoosi on *Toxoplasma gondii* -alkueläimen aiheuttama loissairaus, jonka ensisijaisena isäntänä ovat kissaeläimet, mutta sitä esiintyy myös ihmisissä.⁵⁰ Se voi tarttua ihmiseen esimerkiksi ruoasta, juomavedestä tai lemmikkikissan levittämistä *T. gondiin* lepotilassa olevista itiöistä (ookystista). Jopa kolmannes maailman väestöstä kantaa loista. Suurimmalle osalle ihmisistä toksoplasmoosi ilmenee noin kuukauden kestäväenä harmittomana flunssan tyyppisenä sairautena tai sairastava ei huomaa sitä millään tavalla. Kuitenkin raskaana olevalle naiselle *T. gondii* on hyvin haitallinen, sillä se saattaa aiheuttaa sikiölle vaurioita. Immuunikadosta kärsiville, kuten AIDS-potilaille, toksoplasmoosi saattaa ilmetä hengenvaarallisena aivotulehduksena ja silmä- tai hermostovaurioina.

Atovakonin tehokkuutta aivotulehdustyypin toksoplasmoosin hoidossa on tutkittu AIDS-potilailla, joille eivät sovi käytössä olevat lääkkeet. Spencer ja Goa³⁷ ovat verranneet näitä tutkimuksia ja huomanneet, että 750 mg:n atovakonilääkitys neljästi päivässä paransi kokonaan tai osittain 37–87,5 % potilaista (riippuen tutkimuksesta). Parantavan vaikutuksen tuottanutta vastetta pidetään yllä kuukausien tai muutaman vuoden pituisella atovakonikuurilla tai loppuelämän ajan kestäväenä. Pyrimetamiini-lääkeaineen ja atovakonin yhdistelmä tuotti vasteen osalla potilaista, joihin pelkkä atovakoni ei tehonnut. PCP-taudin tapaan atovakonisuspensiota käytetään myös toksoplasmoosin ennaltaehkäisemisessä, jos potilas ei voi käyttää TMP-SMX -yhdistelmä-lääkettä.⁶² Profylaktinen annostus on 1500 mg per päivä.

5.1.7 Atovakoni babesioosin hoidossa

Babesioosi eli piroplasmoosi on malarialoisten tyyppisten *Babesia*-suvun verisolujen sisällä elävien loisten aiheuttama tartuntatauti, jota esiintyy ihmisissä enimmäkseen Yhdysvaltain itärannikolla.⁶³ Yhdysvalloissa taudin aiheuttaa yleensä alun perin rottien loinen *Babesia microti* ja Euroopassa *Babesia divergens*, joskin Euroopassa tauti on hyvin harvinainen. Sitä levittävät *Ixodes*-suvun punkit. Tauti voi olla oireettomana, flunssan tyyppisenä tai hengenvaarallisena malariantyyppisenä infektiona. Babesioosin vakavammat oireet liittyvät yleensä heikkoon immuunijärjestelmään (esim. ikääntymiseen tai AIDS:iin) tai pernan puuttumiseen.

Babesioosin hoitoon käytetään yleisesti lääkkeenä klindamysiini-antibiootin ja kiniinin yhdistelmää.³⁸ Yhdistelmällä on kuitenkin usein (jopa 72 %) sivuvaikutuksia sekä hoito ei aina toimi. Krausen *et al.*³⁸ suorittamassa tutkimuksessa selvisi, että atovakonin ja erään toisen antibiootin, atsitromysiinin, yhdistelmä on yhtä tehokas hoitokeino babesioosiin kuin klindamysiinin ja kiniinin yhdistelmä, mutta se aiheuttaa vähemmän sivuvaikutuksia (15 %). Atovakonin annostus yhdistelmä-lääkkeessä on 750 mg kahdesti päivässä ja atsitromysiinin ensin kertaluonteinen 500 mg annostus ja sen jälkeen 250 mg päivittäin. Molemmat lääkeyhdistelmät parantavat babesioosin kokonaan ilman taudin uusiutumista. Yksistään atovakonia käytettäessä tauti saattaa uusiutua eikä ole yhtä luotettava kuin atsitromysiinin kanssa käytettynä.

5.2 Parvakonin lääketieteellinen käyttö

5.2.1 Yleistä

Parvakonia on saatavilla Parvexon[®]-nimisenä lääkkeenä, joka sisältää 15 % parvakoniliuosta. Sitä valmistaa Bimeda Export Ltd.⁸ Parvakonin oletetaan inhiboivan elektroninsiirtoketjua samantyyppisesti kuin atovakoni.⁶⁴ Oletus perustuu siihen, että atovakoni sitoutuu sytokromi *bc₁*-kompleksiin 2-hydroksi- ja 4-karbonyyliryhmillään, jotka ovat parvakonissa samoissa paikoissa.² Molemmissa molekyyileissä on myös samantyyppiset sivuketjut hiili-3:ssa.

5.2.2 Parvakoni theilerioosin hoidossa

Theilerioosi (eng. myös East Coast fever) on naudoissa esiintyvä *Theileria parva* -alkueläinloisen aiheuttava tauti, joka muuttaa imusolujen ominaisuuksia niin, että ne lisääntyvät hallitsemattomasti.^{65,67} Theilerioosia esiintyy Afrikan keskiosissa, joissa se on eräs nautojen yleisimmistä kuolinsyistä.⁶⁶ Kuitenkin paikallinen karja on jossain määrin resistentti theilerioosille, kun taas lähes 100 % muualta tuodusta karjasta kuolee sairastuttuaan. Tauti tappaa noin miljoona nautaa vuosittain ja sitä levittää *Rhipicephalus appendiculatus* -punkki. Theilerioosin oireita ovat mm. turvonneet imusolmukkeet punkin pureman lähellä, korkea kuume, hengenahdistus ja ödeema.⁶⁵

McHardy³⁹ kokeili vuonna 1979 kahta hydroksinaftokinonia theilerioosin hoitoon ja havaitsi parvakonin tehokkaaksi lääkkeeksi lihakseen pistettynä efektiivisenä annoksena 20 mg/kg kerta-annostuksena tai kaksi 10 mg/kg annostusta kahden vuorokauden välein. Toinen hydroksinaftokinoni, menoktoni, osoittautui parvakonia tehokkaammaksi mutta sen hankala valmistus johti siihen, että parvakonia alettiin tutkia tarkemmin.⁶⁶ Tämän jälkeen parvakonin potentiaalia theilerioosin hoidossa on tutkittu 1980-luvun puolivälissä, kun Mbwambo *et al.*⁴⁰ ovat tutkineet lääkkeen parannustehoa. Parvakonin parannustehoksi saatiin 79 %. He havaitsivat, että mitä aiemmin lääkitys aloitetaan sairauden puhjettua, sen paremmat mahdollisuudet naudalla on parantua. Myös kolmannessa tutkimuksessa⁶⁶ havaittiin, että parvakoni on tehokas lääke theilerioosia vastaan 88 % parannustehollaan.

2000-luvun alussa suoritetussa tutkimuksessa⁴¹ vertailtiin parvakonin sekä parvakonin ja frusemidiyhdistelmän tehoa theilerioosin hoidossa. Parvakoni yksin paransi 80 % sairastuneista naudoista ja parvakonin ja frusemidin yhdistelmä paransi 93 %. Yhdistelmä onkin suositeltavampi hoitomenetelmä kuin parvakoni yksistään. Tällainen lääkeyhdistelmä on Bimeda Export Ltd:n valmistama lihakseen injisoitava Fruvexon[®], jossa yhdessä milligrammassa lääkeliuosta on 150 mg parvakonia ja 55 mg frusemidia.⁷ Sama lääketehdas valmistaa myös pelkkää parvakonia sisältävää liuosta, Parvexonia[®].⁸

5.2.3 Muita parvakonin lääketieteen sovellutuksia

Ball *et al.*⁶⁸ ovat tutkineet naftokinonien tehokkuutta PCP-infektion hoidossa *in vitro* -kokeilla. Heidän kokeissaan parvakoni inhiboi 1 µg/ml konsentraatiolla vain 51 %:sesti

P. jirovecii (artikkelissa *P. carinii*), jota atovakoni inhiboi samalla konsentraatiolla 92 %:sesti. Parvakoni ei siis sovellu PCP-infektion hoitoon. Hoidossa trooppista theilerioosia (kts. 5.3.2) vastaan parvakoni ei ole yhtä tehokas kuin buparvakoni. Niinpä parvakoni ei sovellu taudin hoitamiseen.⁴³ Parvakonin muita lääketieteellisiä sovellutuksia ei ole juuri saatavilla, joten nautojen theilerioosi on luultavasti ainoa parvakonin käyttökohde. Tätä oletusta tukee parvakonia Parvexon[®]-lääkkeen tuoteselostus, jossa ei mainita muita käyttöindikaatioita.⁸

5.3. Buparvakonin lääketieteellinen käyttö

5.3.1 Yleistä

Buparvakoni on todettu tehokkaaksi lääkkeeksi eläimillä esiintyvää theilerioosia ja trooppista theilerioosia vastaan.^{43,66} Myös buparvakonijohdannaisten kupari(II)-, nikkeli(II)-, koboltti(II)-, rauta(II)- ja mangaani(II)kompleksien antimalaria-aktiivisuutta on vastikään alettu tutkia. Varsinkin kuparikompleksi on tuottanut lupaavia tuloksia.²⁹ Buparvakonin toimintamekanismia ei tunneta, mutta hydroksinaftokinonina sen voidaan olettaa perustuvan samaan mekanismiin kuin atovakonin vaikutus.⁶⁴

5.3.2 Buparvakoni theilerioosin hoidossa

Kauppanimellä Butalex[®] kulkeva buparvakoni on yleisesti käytetty lääke theilerioosiin parvakonin (kappale 5.2.2) ohella.^{42,43,66} Se on nautojen lihakseen injisoitava suspensio.

Muraguri *et al.*⁶⁶ ovat verranneet parvakonin ja buparvakonin tehokkuutta theilerioosin hoidossa. He saivat tulokseksi, että molemmat ovat yhtä tehokkaita taudin parantamiseen (taulukko 6). Myös profylaksia on mahdollista; kertaluonteinen 5 mg/kg buparvakonipistos suojaa nautaa ainakin viikon ajan vakavilta oireilta ja saattaa tarjota edullisen ja kestävän immuniteetin riskialueilla.⁴²

Taulukko 6. Parvakonin ja buparvakonin vertailu Muragurin *et al.*⁶⁶ tutkimuksessa

	Parvakoni	Buparvakoni
Lääkitty	50	50
Parani (%)	44 (88%)	45 (90 %)

5.3.3 Buparvakoni trooppisen theilerioosin hoidossa

Theilerioosin lisäksi buparvakoni tehoaa trooppiseen theilerioosiin (eng. myös Mediterranean Coast Fever), joka on *Theileria annulata* -alkueläinloisen aiheuttama theilerioosin tyyppinen nautaeläinten sairaus.⁶⁹ Tautia levittää *Hyalomma*-suvun punkit. Se on levinnyt Välimeren rannikoilta Sudaniin ja Kiinaan saakka. Trooppinen theilerioosi on yksi taloudellisesti merkityksellisimmistä punkkien kautta leviävistä karjojen taudeista. *T. parvan* aiheuttaman theilerioosin tapaan myös trooppinen theilerioosi aikaansaa imusolujen hallitsemattoman lisääntymisen.⁶⁷

Hashemi-Fesharki⁴³ toteaa tutkimuksessaan, että buparvakoni on tehokas hoitokeino nautojen trooppiseen theilerioosiin 2,5 mg/kg annostuksella 89 % paranemisteholla. Myös profylaksia on mahdollista; kertaluonteinen 5 mg/kg buparvakonipistos suojaa nautaa ainakin viikon vakavilta oireilta ja saattaa tarjota edullisen ja kestävän immuniteetin riskialueilla.⁴²

6 YHTEENVETO

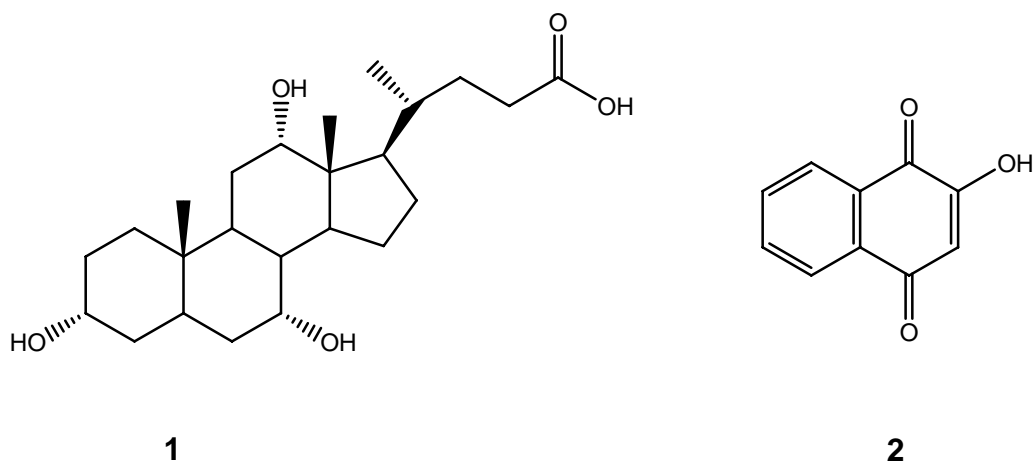
Atovakoni, parvakoni ja buparvakoni ovat hydroksinaftokinoneita, joita käytetään lääkeaineina. Yhdisteitä käytetään alkueläinloisten aiheuttamia sairauksia, kuten malariaa, vastaan. Yhdisteiden tehokkuus perustuu loisten mitokondrioiden soluhengitysketjun inhiboimiseen, joka johtaa energiantuotannon romahtamiseen ja siten eliön kuolemaan. Atovakonia käytetään ihmisillä malariaa vastaan Malarone[®]-lääkkeessä yhdessä proguaniilin kanssa, pneumokystiskeuhkokuumetta ja toksoplasmoosia vastaan Mepron[®]-lääkkeessä sekä babesioosia vastaan yhdessä atsitromysiini-antibiootin kanssa. Parvakonia käytetään naudoilla esiintyvää theilerioosia vastaan Parvexon[®]- ja Fruvexon[®]-lääkkeissä. Buparvakonia käytetään Butalex[®]-lääkkeessä nautojen theilerioosia ja trooppista theilerioosia vastaan. Parvakonilla ja buparvakonilla ei ole ihmislääketieteellisiä sovellutuksia. Mainituista hydroksinaftokinoneista atovakonin lääketieteellisiä ominaisuuksia on tutkittu eniten. Atovakoni on turvallinen mutta kallis lääkeaine. Heikko biosaatavuus rajoittaa sen käyttöä kiinteässä muodossa, joten sitä annostellaan yleensä suspensiona. Parvakoni ja buparvakoni ovat kaupallisesti saatavilla lihakseen pistettävänä suspensioina.

Atovakonia pystytään syntetisoimaan 29 % saannolla jatkamalla kaupallisesti saatavista yhdisteistä, 1,4-sykloheksaanidioni-mono-etyleeniketaalista ja 2-kloori-1,4-naftokinonista. Myös toinen, heikomman saannon tuottava mutta lyhyempi synteesireitti on olemassa. Parvakonia voidaan syntetisoida parhaimmillaan 71 % saannolla moniosaisen Friedel-Crafts -reaktion avulla sykloheksyylibentsokinonista ja butadieenistä. Yksinkertainen radikaalireaktio 2-hydroksi-1,4-naftokinonista ja sykloheksaanista tuottaa parvakonia 53 % saannolla. Lisäksi on olemassa kaksi muuta synteesireittiä, jotka eivät ole yhtä hyviä saannoltaan. Buparvakonia voidaan valmistaa 2-kloori-1,4-naftokinonista ja 1-(*trans*-4-*tert*-butyyli)sykloheksyyli)etikkahaposta tuntemattomalla saannolla. Yhdisteistä on saatavilla vain vähän karakteristista tietoa, johtuen todennäköisesti niiden patentinalaisuuksista.

B. KOKEELLINEN OSA

7 TYÖN TARKOITUS

Erikoistyön tavoitteena oli valmistaa atovakonin (kts. kirjallinen osa), 3-[4-(4-kloorifenyly)sykloheksyyli]-2-hydroksi-1,4-naftokinoni, konjugaatti elimistön sappihappoihin kuuluvan koolihapon ($3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -trihydroksi- 5β -kolaani-24-karboksyylihappo, kuva 1) (**1**) kanssa, jolloin atovakonin heikko oraalinen biosaatavuus paransi sen imeytyessä koolihapon mukana elimistöön suolistosta. Atovakonin hankalan saatavuuden vuoksi tutkimuksessa käytettiin sen prekursoria, 2-hydroksi-1,4-naftokinonia (**2**). 2-Hydroksi-1,4-naftokinonista syntetisoitiin myös parvakoni (kts. kirjallinen osa) (3-sykloheksyyli-2-hydroksi-1,4-naftokinoni) (**16**), sillä sen kemialliset ominaisuudet vastaavat paremmin atovakonin kemiallisia ominaisuuksia kuin 2-hydroksi-1,4-naftokinonin. Koolihapon ja naftokinonijohdosten sitomiseksi yritettiin esteröintiä, eetteröintiä sekä Friedel-Crafts -asylaatiota.



Kuva 1. Yhdistettävät molekyylit koolihappo (**1**) ja 2-hydroksi-1,4-naftokinoni (**2**).

8 MENETELMÄT, LAITTEET JA REAGENSIT

8.1 Menetelmät ja laitteet

Synteesit tehtiin mahdollisimman kuivissa olosuhteissa käyttäen kalsiumkloridiputkea pystyjäähdyttimen päässä sekä molekyyliseuloilla kuivattuja liuottimia. Lämmitykset ja refluksoinnit suoritettiin silikoniöljyhauteella ja magneettisekoituksella. Suodatuksissa käytettiin suodatinpaperia (Whatman medium 9 cm 40) ja suppiloa ellei toisin mainita. Haihduttaminen suoritettiin Büchi Rotavapor R-200 pyöröhaihduttimella ja kiinteä aine kuivattiin vakuuminjastossa. Osassa töitä käytettiin ohutlevy- ja pylväskromatografiaa tuotteiden puhdistamiseen. Ohutlevykromatografiassa käytettiin Macherey-Nagel Alugram Sil G/UV₂₅₄ -ohutlevyjä, ja pylväskromatografiassa Merck Silica gel 60 (partikkelikoko 0,040 - 0,063 mm) -silikageeliä. Synteeseissä 9.2.1 ja 9.2.2 tarvittava argon-atmosfääri muodostettiin päästämällä laitteistoon hetken ajan argon-kaasua pystyjäähdyttimen päähän kiinnitetystä ilmapallosta.

¹H ja ¹³C NMR-spektrit mitattiin Bruker Avance DPX 250 -spektrometrillä. Lisäksi osasta tuotteita mitattiin NMR-spektrit myös Bruker Avance DRX 500 -spektrometrillä. Osasta tuotteita ajettiin myös massaspektrit Micromass LCT ESI-TOF -massaspektrometrillä.

8.2 Reagenssit ja liuottimet

Kokeellisessa osassa käytetyt reagenssit ja liuottimet sekä niiden valmistajat ja puhtausasteet on listattu taulukossa 1.

Taulukko 1. Käytetyt reagenssit ja liuottimet

Nimi (lyhenne)	Valmistaja	Puhtausaste (%)
1,4-Dioksaani	J. T. Baker	99
1,4-Naftokinoni	Fluka	>99
2,2'-Bi(3-hydroksi-1,4-naftokinoni)	Aldrich	98
2-Hydroksi-1,4-naftokinoni	Aldrich	97
Alumiinikloridi	Riedel-de Haën	98
Ammoniumpersulfaatti	Merck	98
Asetoni	BDH	99,36
Asetonitriili	J. T. Baker	HPLC
Atso-2,2'-isobutyronitriili (AIBN)	Merck	99
Bromi	Riedel	99
Bromietikkahappo	Aldrich	99+
Dikloorimetaani (DCM)	Fluka	99,9
Eetteri	J. T. Baker	99,5
Etanoli (EtOH)	Altia	99,5
Etanoliamiini	Aldrich	99+
Etikkahappo	BDH	100
Etyleeniglykoli	Riedel-de Haën	99,5
Etyyliasettaatti	Lab-Scan	99,8
Etyylibromiasetaatti	Aldrich	98
Heksaani	Rathburn	HPLC
Hopeanitraatti	BDH	99,8
Isopreeni	Aldrich	99
Kaliumkarbonaatti	Riedel-de Haën	99
Koolihappo	Aldrich	98
Metanoli	Merck	99,9
<i>N</i> -Bromisukkinimidi (NBS)	Aldrich	99
<i>N,N</i> -Dimetyyliformamidi (DMF)	Fluka	99,8
Natriumasettaatti	J. T. Baker	99
Natriumhydroksidi (NaOH)	Merck	98
<i>p</i> -Bentsokinoni	Aldrich	98
Sykloheksaanikarboksylihappo	Aldrich	98
Tetrahydrofuraani (THF)	Lab-Scan	99,8
Tetrakloorimetaani	J. T. Baker	99,5
Tionyylikloridi	Riedel-de Haën	99
Tolueeni	BDH	99,5
Trietyyliamiini	Merck	99,5
Trifluoretikkahappo	Fluka	98

9 SYNTEESIT

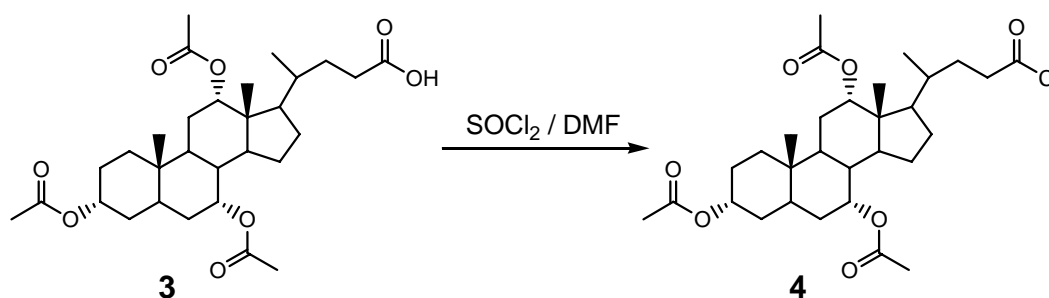
Seuraavassa kappaleessa esitellään tehdyt synteesit sekä niiden tarkoitukset. Tarkat synteesiohjeet on esitetty kappaleessa 11.

9.1 Koolihapon suojaus ja aktivointireaktiot

Koolihapon hydroksyyliyhdykset suojattiin esteröintireaktioilla, sillä happoryhmä muutettiin happokloridimuotoon, joka on happomuotoa reaktiivisempi.

9.1.1 3 α ,7 α ,12 α -Triasetoksikoolihappokloridi (4)

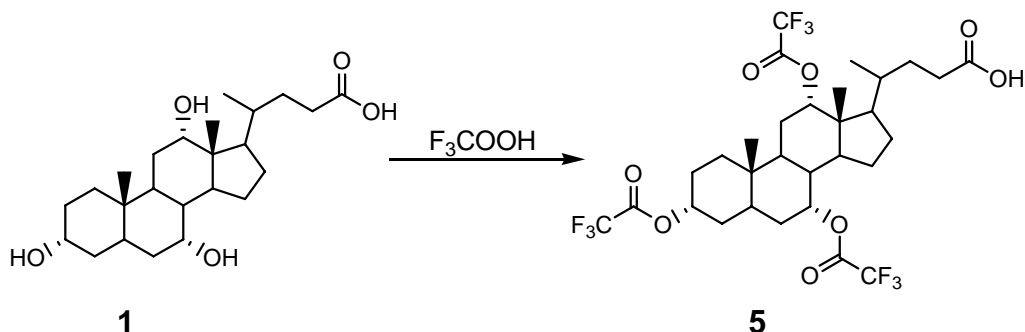
Työssä käytetty 3 α ,7 α ,12 α -triasetoksikoolihappo oli valmiiksi syntetisoitua.



3 α ,7 α ,12 α -Triasetoksikoolihappoa (**3**) liuotettiin reiluun määrään tionyylikloridia, ja *N,N*-dimetyyliformamidia (DMF) lisättiin katalyytiksi. Liuosta refluksottiin 4 tuntia, jonka jälkeen tionyylikloridi poistettiin haihduttamalla. Tuote pestiin kahdesti tolueenilla tionyylikloridijäämien poistamiseksi ja tolueeni poistettiin haihduttamalla. Syntyi ruskeaa, vaahtomaista ainetta. Kuivattua happokloridia (**4**) ei puhdistettu, sillä ^1H NMR-spektristä huomattiin, että se oli suhteellisen puhdasta ja tuote käytettiin sellaisenaan jatkoreaktioissa.

9.1.2 3 α ,7 α ,12 α -Tris(trifluoriasetoksi)koolihappo (5)

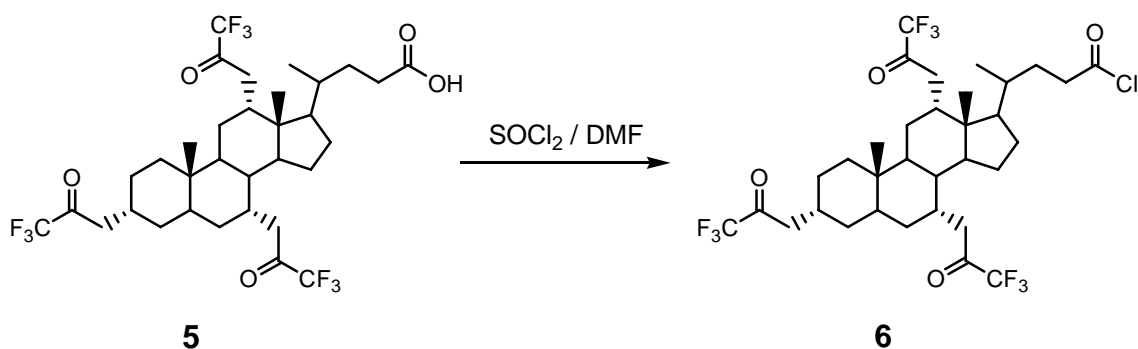
Koolihapon trifluorietikkahappo-suojaus suoritettiin tunnetulla menetelmällä.⁷⁰



Koolihappo (**1**) liuotettiin tetrahydrofuraaniin (THF) ja liuos jäädytettiin -10 °C:een. Trifluorietikkahappo (TFA) tiputettiin liukseen reilusti ylimäärin 15 minuutin aikana. Seosta pidettiin -10 °C:ssa tunnin ajan, jonka jälkeen sitä sekoitettiin huoneenlämmössä 2 tuntia. Seos jätettiin kolviin viikonlopun ylitse. Sen jälkeen se kaadettiin eetteri-jää -seokseen. Eetteriosuus pestiin vedellä, sitten kylläisellä natriumvetykarbonaatti-liuksella, kunnes pesuliuos muuttui hieman emäksiseksi ja lopuksi suolavedellä. Eetteriliuos poistettiin haihduttamalla ja muodostui keltaista, hunajamaista, viskoosia raakatuotetta (**5**), jota ei puhdistettu vaan se käytettiin heti seuraavassa vaiheessa. Mitattu ¹H NMR-spektri varmisti, että haluttua tuotetta oli syntynyt.

9.1.3 3 α ,7 α ,12 α -Tris(trifluoriasetoksi)koolihappokloridi (6)

Synteesi tehtiin samalla periaatteella kuin 3 α ,7 α ,12 α -triasetoksikoolihappokloridin (**4**) valmistus.



Kaikki edellisessä synteesissä (9.1.2) valmistettu 3 α ,7 α ,12 α -tris(trifluoriasetoksi)koolihappo (**5**) liuotettiin tionyylikloridiin. DMF:a lisättiin hieman katalyytiksi. Seosta refluksoitettiin 4 tuntia ja annettiin jäähtyä yön yli. Tionyylikloridi

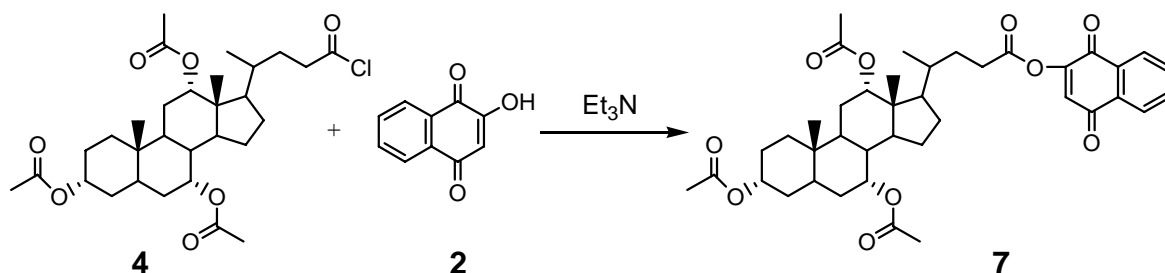
poistettiin haihduttamalla ja sen jäämien poistamiseksi tuote liuotettiin kahdesti tolueniiniin, joka myös haihdutettiin pois. Muodostui tervamaista, tummanruskeaa raakatuotetta (6). ^1H NMR-spektristä varmistettiin, että tuote oli oikeaa.

9.2 2-Hydroksi-1,4-naftokinonin esteröintireaktiot

Yksinkertaisin tavoitekonjugaatti oli 2-hydroksi-1,4-naftokinonin ja suojatun koolihapon välinen esteri. Reaktioissa käytettiin reaktiivista koolihappokloridimuotoa.

9.2.1 $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -Triasetoksikoolihapon 1,4-diookso-1,4-dihydranaftalen-2-yyliesteri (7) trietyyliamiinin avulla

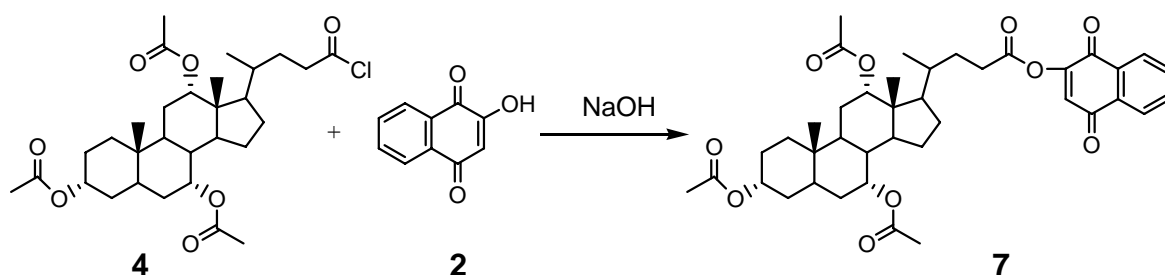
Ensimmäinen yritys esteröidä 2-hydroksi-1,4-naftokinoni (2) ja $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -triasetoksikoolihappokloridi (4) oli käyttää apuna trietyyliamiinia sitomaan syntyvä vetykloridi.



2-Hydroksi-1,4-naftokinonia (2) liuotettiin dikloorimetaaniin (DCM) ja tislattua trietyyliamiinia lisättiin liuokseen. Havaittiin, että 2-hydroksi-1,4-naftokinoni ei liukene hyvin dikloorimetaaniin. $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -Triasetoksikoolihappokloridia (4) lisättiin jäähauteella viilennettyyn seokseen tipoittain argon-atmosfäärissä. Lisäyksen jälkeen jäähaute poistettiin ja seosta sekoitettiin kolmen päivän ajan. Syntynyt liuos pestiin vedellä, 2 molaarisella suolahapolla, vedellä, kylläisellä natriumvetykarbonaattiliuoksella ja lopuksi vedellä. Syntynyt liuos oli väriltään tummanruskeaa. DCM poistettiin haihduttamalla. ^1H NMR-spektristä voitiin todeta, että tuotetta (7) ei ollut syntynyt.

9.2.2 3 α ,7 α ,12 α -Triasetoksikoolihapon 1,4-diokso-1,4-dihydronaftalen-2-yyliesteri (7) natriumhydroksidin avulla

Toinen yritys esteröidä 2-hydroksi-1,4-naftokinoni (2) ja 3 α ,7 α ,12 α -triasetoksikoolihappokloridi (4) oli tehdä 2-hydroksi-1,4-naftokinonista anioni irrottamalla hydroksyyliiryhmän vety natriumhydroksidin avulla, jolloin molekyyli reagoisi todennäköisemmin happokloridin kanssa muodostaen esterin.



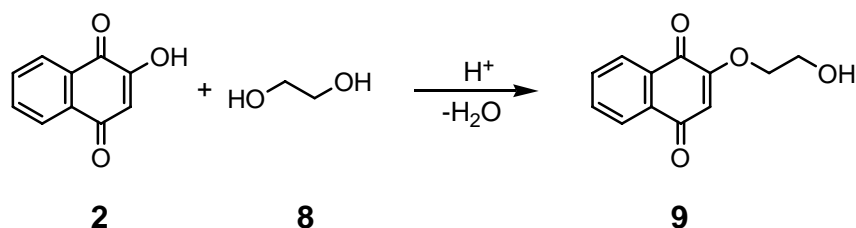
2-Hydroksi-1,4-naftokinonia (2) liuotettiin asetoniin ja murskattua natriumhydroksidia lisättiin liuokseen. Laitteisto suojattiin argon-atmosfäärillä ja liuosta sekoitettiin 75 minuuttia. Tänä aikana 2-hydroksi-1,4-naftokinoni muuttui natriumsuolamuotoon, joka näkyi liuoksen värin muuttumisena keltaisesta punaiseksi. Muodostuneeseen seokseen lisättiin hitaasti 3 α ,7 α ,12 α -triasetoksikoolihappokloridia (4) pienessä määrässä asetonia. Seoksen annettiin reagoida sekoituksella 3 päivää. Muodostunut tumma, punaisenruskea liuos, jossa oli hieman sakkaa, kaadettiin kylläiseen natriumvetykarbonaattiliuokseen. Sekoittaessa liuosta lasisauvalla muodostui sauvaan mustaa, tervamaista ainetta. Nestefaasista menetettiin noin neljäsosin ihmisen virheen takia. Jäljelle jäänyt osuus uutettiin etyyliasetaatilla ja musta tervamainen aine liuotettiin myös etyyliasetaattiin. Etyyliasetaattiliuokset yhdistettiin ja pestiin kylläisellä suolavedellä, jolloin muodostui kolmas faasi vesifaasin ja orgaanisen faasin väliin. Tämä osoittautui ^1H NMR-spektrin avulla 2-hydroksi-1,4-naftokinonin natriumsuolaksi. Orgaaninen liuos haihdutettiin pois. ^1H NMR-spektristä voitiin todeta, että tuotetta ei ollut syntynyt, joten päädyttiin johtopäätökseen, että 2-hydroksi-1,4-naftokinoni ei muodosta esterisidoksia helposti, ainakaan yritetyissä olosuhteissa.

9.3 2-Hydroksi-1,4-naftokinonin muut reaktiot

Seuraavissa synteeseissä 2-hydroksi-1,4-naftokinonia yritettiin muokata reaktiivisempaan muotoon niin, että perusrakenne, joka yhdistää sen ja atovakonin, kuitenkin säilyttäisiin.

9.3.1 2-(2-Hydroksietoksi)-1,4-naftokinoni (9)

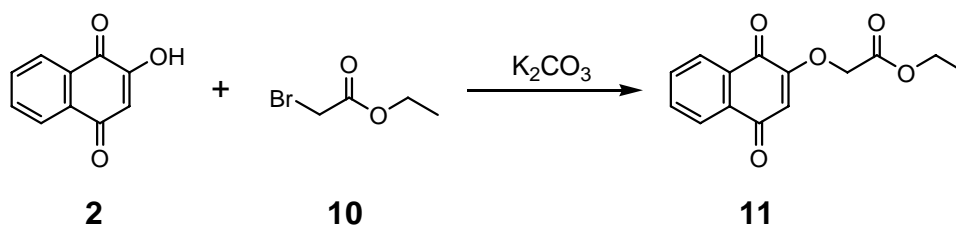
2-hydroksi-1,4-naftokinonia (2) yritettiin reagoittaa etyleeniglykolin kanssa, jolloin muodostuisi 2-(2-hydroksietoksi)-1,4-naftokinoni (9). Tämä molekyyli voitaisiin yrittää esteröidä koolihappojohdannaisen kanssa, sillä kohdan 9.2 reaktioissa epäonnistumisen oletettiin aiheutuvan fenolisen hydroksyyli ryhmän huonosta reaktiivisuudesta.



Etyleeniglykolia (8) liuotettiin tolueeniin. 2-Hydroksi-1,4-naftokinonia (2) liuotettiin tolueeni-kloroformiseokseen, sillä se liukeni siihen paremmin kuin pelkkään tolueeniin, ei kuitenkaan kokonaan. Tämä seos lisättiin etyleeniglykoli-liuokseen tipoittain. Katalyyttinen määrä väkevää rikkihappoa lisättiin seokseen, ja seosta refluksoitiin 5 tuntia. Syntynyt ruskea liuos pestiin vedellä ja liuottimet haihdutettiin pois. Muodostui ruskeaa raakatuotetta. ¹H NMR-spektroskopian ja ohutlevykromatografian avulla havaittiin, että haluttua tuotetta ei muodostunut.

9.3.2 2-(1,4-Diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etyyliasetatti (11)

Synteesin tarkoituksena oli muodostaa 2-(1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etyyliasetatti (11), joka voitaisiin saippuoida happomuotoon. Tämä taas voitaisiin yrittää esteröidä koolihapon hydroksyyli ryhmän kanssa. Synteesi tehtiin artikkelin⁷¹ pohjalta, jossa 2-hydroksi-1,4-naftokinonin (2) tilalla oli käytetty 3-metyyli-2-hydroksi-1,4-naftokinonia.

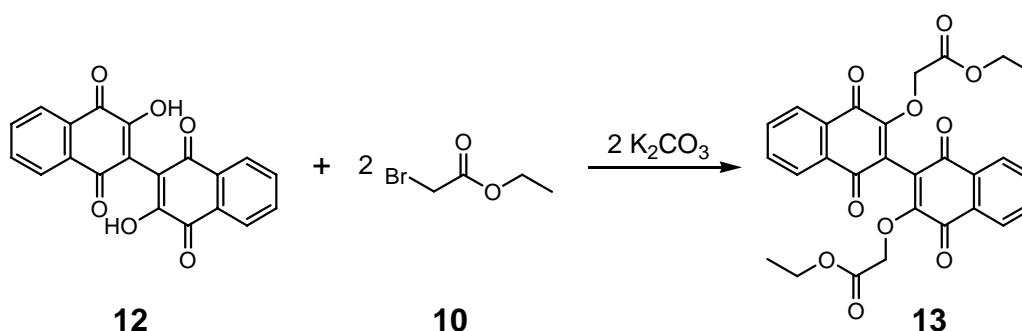


2-Hydroksi-1,4-naftokinonia (2), etyylibromiasetaattia (10) ja vedetöntä kaliumkarbonaattia lisättiin asetoniin ja seosta refluksoitettiin 26 tuntia. Liuoksen punainen väri ei hävinnyt refluksoidessa, vaikka niin piti artikkelin mukaan tapahtua, joten reaktiota ei todennäköisesti tapahtunut. Seos suodatettiin kuumana. Suodatettu mustankeltainen liuos haihdutettiin pieneen tilavuuteen ja se jätettiin kiteytymään yön yli. Suodatinpaperiin jäänyt punainen sakka oli 2-hydroksi-1,4-naftokinonin kaliumsuolaa.

Kiteytyminen ei onnistunut, joten liuotin haihdutettiin pois. Muodostui viskoosia, melkein mustaa raakatuotetta. Ohutlevykromatografia paljasti, että haluttua tuotetta on mahdollisesti syntynyt, joten raakatuote puhdistettiin pylväskromatografian avulla. Puhdistettu tuote tutkittiin ^1H NMR-spektroskopiolla ja havaittiin, että haluttua tuotetta (11) ei kuitenkaan ollut muodostunut.

9.3.3 2,2'-(3,3'-Bi(1,4-dioikso-1,4-dihydro-naft-2-yylioksi))-dietyyliasetaatit (13)

Synteesin tarkoituksena oli kokeilla, voidaanko 2-hydroksi-1,4-naftokinonin 3,3'-dimeerin (3,3'-bi(2-hydroksi-1,4-naftokinoni)) (12) hydroksyyliiryhmiin liittää etyylibromiasetaatit (10) vastaavasti kuin edellisessä synteesissä (9.3.2), sillä dimeerissä hydroksyyliiryhmän vieressä ei ole vetyä, joka todennäköisesti oli edellisen reaktion epäonnistumisen syy. Reaktio tehtiin saman artikkelin⁷¹ ohjeiden mukaisesti, mutta etyylibromiasetaatin ja kaliumkarbonaatin ainemäärät kaksinkertaistettiin vastaamaan 2-hydroksi-1,4-naftokinonin dimeerin kahta hydroksyyliiryhmää.

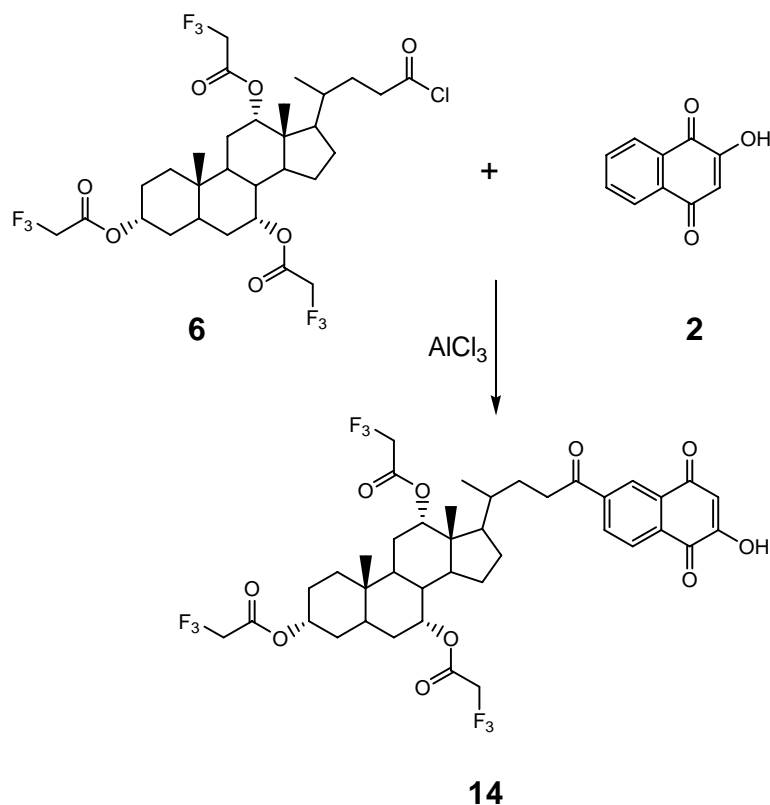


2,2'-Bi(3-hydroksi-1,4-naftokinonia) (**12**), etylibromiasetaattia (**10**) ja kaliumkarbonaattia refluksottiin asetonissa 48 tuntia, jolloin seoksen väri muuttui ruskeasta punaiseksi. Seos suodatettiin kuumana ja suodos haihdutettiin kuiviin. Raakatuote tutkittiin ¹H NMR-spektrillä, ja havaittiin, että etylibromiasetaatti ei ollut reagoinut hydroksyyliyhymien kanssa eikä haluttua tuotetta (**13**) ollut syntynyt.

9.3.4 2-Hydroksi-6-(3 α ,7 α ,12 α -tris(trifluoriasetoksi)-5 β -kolan-24-oyyli)-1,4-naftokinoni (14**)**

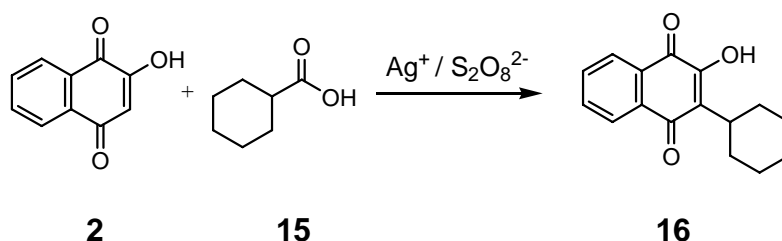
Synteesissä kokeiltiin, voidaanko 2-hydroksi-1,4-naftokinoni (**2**) liittää 3 α ,7 α ,12 α -tris(trifluoriasetoksi)koolihappokloridiin (**6**) Friedel-Crafts -asylaation avulla. Reaktio-
etuna olisi se, että 2-hydroksi-1,4-naftokinonin hydroksyyliyhymä pysyisi koskemattomana.

Suojattua koolihappokloridia (**6**), 2-hydroksi-1,4-naftokinonia (**2**) ja alumiinikloridia reagoitettiin DCM:ssa, viilennetyissä olosuhteissa. Jäähaude poistettiin ja seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 18 tuntia, jonka jälkeen se kaadettiin jäihin ja laimennettiin 1 M suolahapolla. Erotettiin muodostuneet faasit (vesi ja orgaaninen). Vesifaasi pestiin DCM:lla, johon tarttui reaktiossa muodostunut sakka (joka oli reaktiossa muodostunutta 2-hydroksi-1,4-naftokinonin alumiinisuolaa). Orgaaninen faasi haihdutettiin kuiviin. Muodostunut raakatuote tutkittiin ¹H NMR-mittauksella ja havaittiin, että haluttua tuotetta (**14**) ei ollut muodostunut tai sitä muodostui niin vähän, että sen puhdistaminen ei ole kannattavaa.



9.3.5 2-Hydroksi-3-sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (16)

2-Sykloheksyyli-3-hydroksi-1,4-naftokinoni eli parvakoni (**16**) ei paitsi paranna 2-hydroksi-1,4-naftokinonin (**2**) kemiallista reaktiivisuutta, vaan se myös muistuttaa atovakonia paremmin kuin 2-hydroksi-1,4-naftokinoni; parvakonissa on 3-aseman vety substituoitunut sykloheksyyllillä, kuten on myös atovakonissa. Parvakoni syntetisoitiin tunnetun synteesireitin mukaisesti.²⁰ Synteesi tehtiin yhteensä kolmesti, sillä parvakonia tarvittiin monessa reaktiossa. Synteesikerrat olivat toteutukseltaan (ainemääriä lukuunottamatta) identtiset samoja saantoprosentteja myöten.



2-Hydroksi-1,4-naftokinonia (**2**), sykloheksaanikarboksyylihappoa (**15**) ja hopeanitraattia lisättiin veden ja asetonitriilin seokseen. Seos kuumennettiin 65 - 70 °C:een, jolloin siihen lisättiin ammoniumpersulfaattia pienessä määrässä vettä.

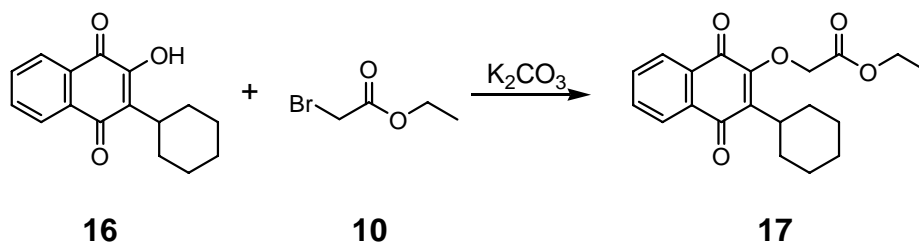
Seoksen annettiin olla samassa lämpötilassa tunnin ajan, jonka jälkeen se jäähdytettiin ja laimennettiin vedellä. Tuote uutettiin eetterillä, ja uutos pestiin vedellä sekä kylläisellä suolaliuoksella. Eetteriliuos haihdutettiin kuiviin. Tuote (**16**) puhdistettiin ajamalla raakatuote kahdesti pylväskromatografiakolonniin läpi. Keltainen tuote varmistettiin oikeaksi ^1H ja ^{13}C NMR-spektroskopiolla. Saannoksi saatiin 22 %, mikä on lähellä artikkelin²⁰ 25 % saantoa.

9.4 Parvakonin jatkoreaktiot

Seuraavissa synteeseissä reaktiot keskittyvät parvakonin muokkaamiseen muotoon, joka voitaisiin esteröidä koolihappojohdannaisen kanssa.

9.4.1 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etyyliasetatti (**17**)

Reaktio oli samantyyppinen kuin 2-hydroksi-1,4-naftokinonin (**2**) reaktio etyylibromiasetaatin kanssa (9.3.2) lukuunottamatta sitä, että refluksointiaika lyhennettiin 26 tunnista 19 tuntiin ja että 2-hydroksi-1,4-naftokinonin tilalla oli parvakoni (**16**). Koska 2-hydroksi-1,4-naftokinonin 3-asemassa ollut vety on nyt substituutunut sykloheksyyli-ryhmällä, ovat olosuhteet lähempänä sen artikkelin⁷¹ olosuhteita, jossa 3-asemassa ollut vety on substituutunut metyyli-ryhmällä. Synteesi suoritettiin kahdesti.

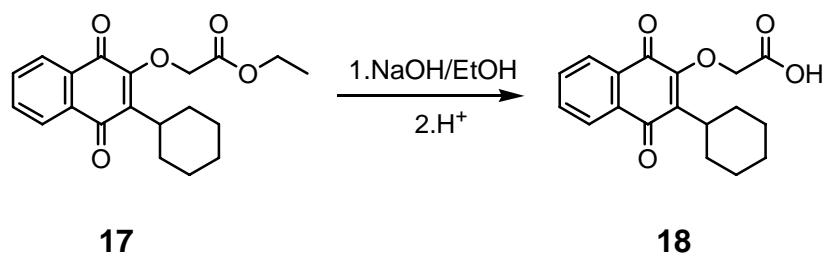


Parvakonia (**16**), etyylibromiasetaattia (**10**) ja kaliumkarbonaattia lisättiin asetoniin ja seosta refluksoitettiin 19 tuntia. Alunperin viininpunainen seos muuttui refluksoitessa ruskeankeltaiseksi. Se suodatettiin kuumana ja konsentroidiin haihduttamalla. Seos jätettiin huoneenlämpöön vuorokauden ajaksi. Koska kiteytymistä ei ollut tapahtunut, liuos kaadettiin veteen, jossa se lopulta alkoi kiteytyä. Syntyneet keltaisenoranssit kiteet suodatettiin imulla. Nämä kiteet osoittautuivat ^1H NMR-spektroskopian ja massaspektrometrian avulla halutuksi tuotteeksi (**17**). Saannoksi saatiin 93 %.

Toinen synteesikerta muodosti refluksoinnin aikana asetonin dimeeriä, 4-hydroksi-4-metyyli-2-pentanonia. Tämä johtui siitä, että kaliumkarbonaattia oli ylimäärin verrattuna etylibromiasetaattiin, jolloin kaliumkarbonaatti reagoi asetonin kanssa. Asetonin dimeerin puhdistus on esitetty synteesiohjeiden kohdassa 11.10.

9.4.2 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etikkahappo (18) saippuomalla

Edelliskohdan parvakonin 2-(3-sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etyyliasetaatti (17) saippuoiitiin, jotta saataisiin 2-(3-sykloheksyyli-1,4-dioksi-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)etikkahappoa (18), joka sitten yritettäisiin esteröidä koolihapon hydroksyyli-ryhmien kanssa.

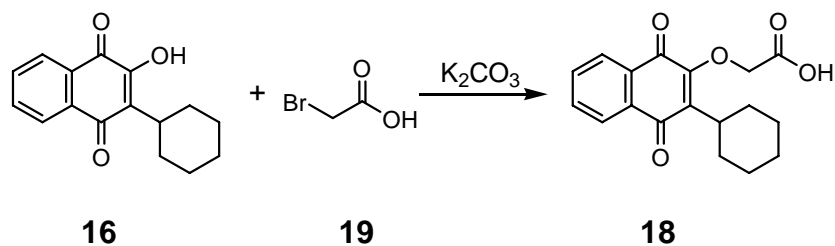


Parvakonin etyyliasetaatijohdannaista (17) liuotettiin etanoliin, ja 8 % natriumhydroksidiliuosta lisättiin ylimäärin liuokseen. Seosta refluksoitettiin 2 tuntia, jolloin liuos muuttui kellertävästä violetinpunaiseksi. Etanoli poistettiin haihduttamalla ja jäännös liuotettiin veteen. Nyt natriumsuolamuodossa oleva tuote yritettiin muuttaa happomuotoon lisäämällä sinne 2 M vetykloridiliuosta, kunnes liuoksen pH muuttui happamaksi. Tässä vaiheessa liuos sakkasi, ja seos muuttui läpikuultamattomaksi ja kelleräväksi. Sakkaa ei voitu suodattaa imulla Büchner-suppilon avulla, sillä kiinteä aines tukki paperin. Sakka uutettiin vedestä eetterin avulla, joka haihdutettiin kuiviin. ¹H NMR-spektroskopia osoitti, että haluttua happomuotoa (18) ei muodostunut vaan se hajosi takaisin parvakoniksi (16).

9.4.3 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etikkahappo (18) bromietikkahapon avulla

Koska haluttua parvakonin 2-etyylikarboksyylihappomuotoa (18) ei saatu muodostettua saippuoinnin kautta, yritettiin sitä valmistaa liittämällä etikkahappo-ketju eetterisidoksella parvakoniin suoraan yhdellä välivaiheella käyttäen lähtöaineena

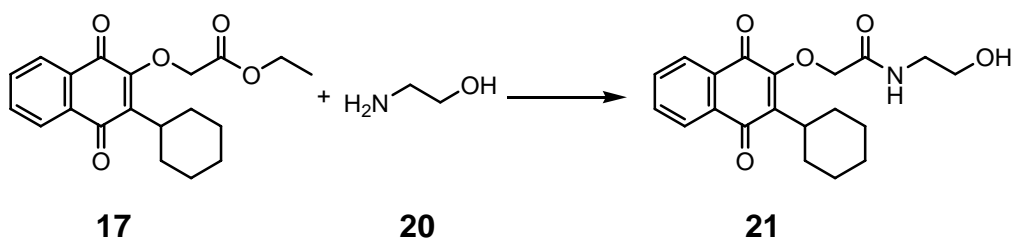
bromietikkahappoa (**19**). Synteesi oli samantyyppinen kuin parvakonin reaktio etylibromiasetaatin kanssa (9.4.1).



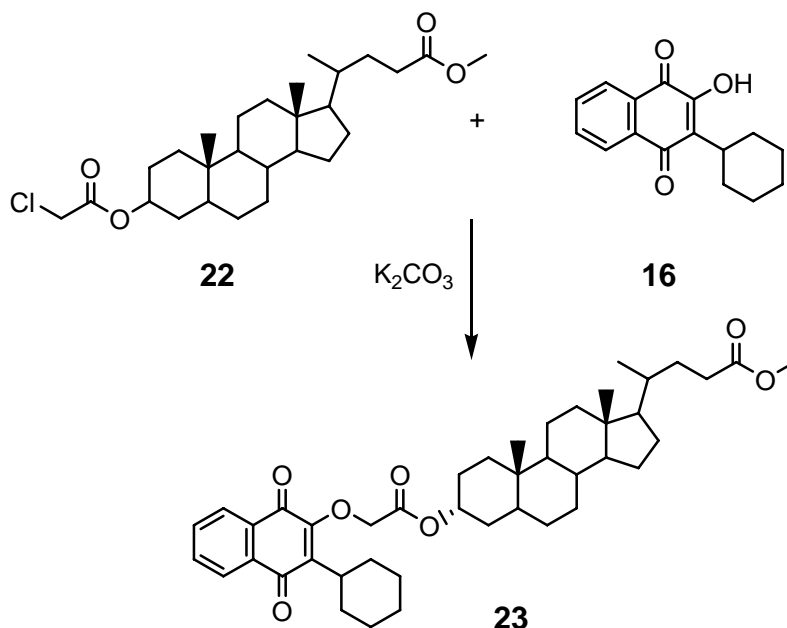
Parvakonia (**16**), bromietikkahappoa (**19**) ja hieman ylimäärin kaliumkarbonaattia lisättiin asetoniin ja seosta refluksoitettiin 20 tuntia. Seoksen väri muuttui punertavasta tummanvioletiksi. Syntynyt seos suodatettiin kuumana ja liuotin haihdutettiin pois. ¹H NMR-mittauksesta selvisi, että haluttua tuotetta (**18**) ei ollut syntynyt.

9.4.4 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-N-(2-hydroksietyyli)asetamidi (**21**) refluksioimalla

Parvakonin etyyliasetaattijohdannainen (**17**) yritettiin syntetisoida etanoliamiinin (**20**) kanssa, jolloin olisi muodostunut 2-(3-sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-N-(2-hydroksietyyli)asetamidi (**21**). Tämä etanoliamidimuoto voitaisiin yrittää esteröidä koolihapon happoryhmän kanssa.



Parvakonin etyyliasetaattiesteriä (**17**) liuotettiin metanoliin ja reilusti ylimäärin etanoliamiinia (**20**) lisättiin liuokseen. Seosta refluksoitettiin 24 tuntia. Liuoksen väri muuttui oranssista tummanpunaiseksi. Puolet liuottimesta haihdutettiin haihduttamalla ja jäännös kaadettiin jäävesiseokseen. Tuotteen odotettiin kiteytyvän, mutta näin ei tapahtunut, joten tuote uutettiin vedestä eetterillä ja etyyliasetaatilla. Organiset uutokset yhdistettiin ja liuottimet haihdutettiin pois. ¹H NMR-spektroskopiasta huomattiin, että raakatuote sisältää useita eri yhdisteitä, joten se liuotettiin pieneen määrään etyyliasetaattia. Osa raakatuotteesta jäi liukenematta, mutta sen ei todettu sisältävän etsittyjä aromaattisia ryhmiä. Liuoksen eri yhdisteet erotettiin toisistaan



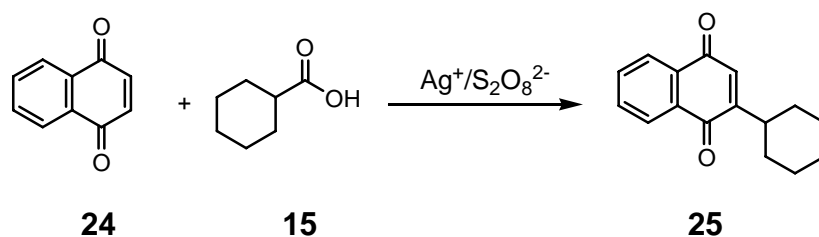
3 α -(2-Kloori)asetoksi-metyylilitokolaattia (**22**), parvakonia (**16**) ja hieman ylimäärin kaliumkarbonaattia lisättiin asetoniin. Seosta refluksoitettiin 20 tuntia, jolloin seoksen väri muuttui viininpunaisesta tummanvioletiksi. Seos suodatettiin kuumana ja liuotin haihdutettiin pois. Kuivattu raakatuote liuotettiin metanoliin, jolloin valkoinen sakka jäi liukenematta. Se tunnistettiin ^1H NMR:n avulla reagoimattomaksi litokolaatiksi. Metanoliin liuotettu raakatuote puhdistettiin pylväskromatografialla. ^1H NMR-mittausten perusteella tuotetta oli ehkä muodostunut, joten ajettiin uusi pylväskromatografia. Nyt havaittiin selkeästi, että ensimmäisen ajon uudelleenajetun fraktion komponentit olivat erottuneet uudessa ajossa. ^1H NMR-spektroskopian perusteella havaittiin, että haluttua tuotetta (**23**) ei ollut muodostunut.

9.5 -1,4-Naftokinonin reaktiot

Seuraavissa reaktioissa tutkittiin pelkän 1,4-naftokinonin muokattavuutta.

9.5.1 2-Sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (**25**)

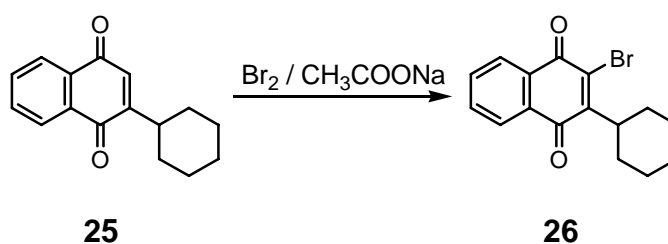
Synteesin tarkoituksena oli muokata 1,4-naftokinoni (**24**) 2-sykloheksyyli-1,4-naftokinoniksi (**25**). Tuloksena olisi vapaa vety sykloheksyyli-ryhmän vieressä kinonirakenteessa. Tämä vety voitaisiin substituoida bromiksi jatkoreaktion kautta. Synteesi suoritettiin 9.3.5 ohjeiden²⁰ mukaisesti.



1,4-Naftokinonia (**24**), sykloheksaanikarboksyylihappoa (**15**) ja hopeanitraattia lämmitettiin vesi-asetonitriiliseoksessa 65 - 70 °C:een, minkä jälkeen ammoniumpersulfaattia lisättiin seokseen. Seoksen annettiin reagoida tunnin ajan samassa lämpötilassa. Tällöin 1,4-naftokinonin 2-asemassa oleva vety substituutui sykloheksyyllillä. Erottui kaksi faasia, joista ylempi faasi oli tumma ja alempi keltainen ja tilavuudeltaan suurempi. Seos kaadettiin veteen ja tuote uutettiin seoksesta eetterillä, joka pestiin vedellä ja kylläisellä suolaliuoksella. Liuottimet haihdutettiin, jolloin syntyi keltaista raakatuotetta. Tuote (**25**) puhdistettiin pylväskromatografialla ja varmistettiin oikeaksi ¹H NMR-spektroskopian ja massaspektrometrian avulla. Saannoksi saatiin 47 %.

9.5.2 3-Bromi-2-sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (**26**)

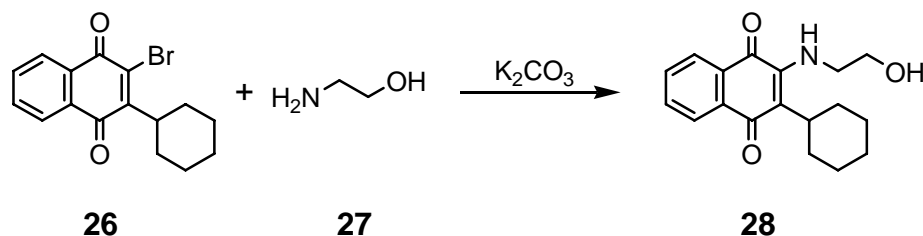
Tässä välivaiheessa 2-sykloheksyyli-1,4-naftokinonin (**25**) sykloheksyyli-ryhmän viereinen vety substituutiin bromilla, jolloin molekyyli muuttuu reaktiivisempaan muotoon.



2-Sykloheksyyli-1,4-naftokinonia (**25**) ja natriumasettaattia etikkahapossa jäähdytettiin 0 °C:een, ja seokseen lisättiin bromia. Liuosta säilytettiin suljettuna ja valolta suojattuna 3 päivää ilman sekoitusta, jonka jälkeen se kaadettiin veteen. Tuotteen odotettiin kiteytyvän, mutta koska näin ei käynyt, liuosta uutettiin heksaanilla, joka pestiin vedellä ja haihdutettiin kuiviin. Raakatuotteen todettiin ¹H NMR-spektroskopian avulla sisältävän sekä lähtöainetta että tuotetta (**26**). Tuotetta ei puhdistettu, sillä se ei erottunut lähtöaineesta ohutlevykromatografialla. Tuotteen osuudeksi saadusta seoksesta arvioitiin 50 %, jolloin saannoksi saatiin alle 40 %.

9.5.3 2-Sykloheksyyli-3-(2-hydroksietyyliamino)-1,4-naftokinoni (28)

Edellisessä kohdassa bromattu 2-hydroksi-1,4-naftokinoni (26) yritettiin muuttaa etanoliamiinimuotoon. Reaktio suoritettiin emäksisissä olosuhteissa.



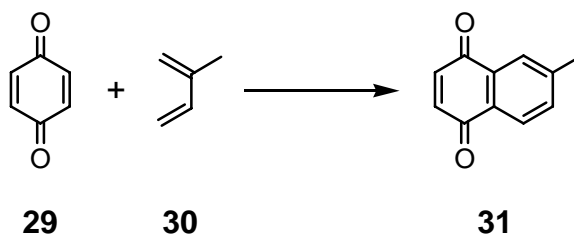
Etanoliamiinia (27), 3-bromi-2-sykloheksyyli-1,4-naftokinonia (26) ja kaliumkarbonaattia lisättiin etanoliin ja seosta refluksoitettiin 5 tuntia. Muodostui tumman punainen seos, joka suodatettiin kuumana. Suodos haihdutettiin kuiviin ja syntynyt raakatuote puhdistettiin pylväskromatografialla. ^1H NMR-spektroskopia paljasti, että haluttua tuotetta (28) ei muodostunut.

9.6 6-Metyyli-1,4-naftokinonijohdannaiset

6-Metyyli-1,4-naftokinonia valmistettiin sekä yritettiin muokata se 6-hydroksimetyyli johdannaiseksi, joka voitaisiin esteröidä koolihapon happoryhmän kanssa.

9.6.1 6-Metyyli-1,4-naftokinoni (31)

6-Metyyli-1,4-naftokinonia (31) valmistettiin isopreenista (30) sekä *p*-bentsokinonista (29) Diels-Alder -reaktion kautta. Reaktio suoritettiin tunnetun synteisireitin mukaisesti.⁷²

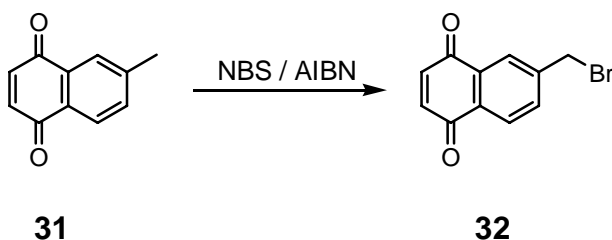


p-Bentsokinonia (29) ja isopreenia (30) sekoitettiin etikkahappo-liuoksessa huoneenlämpötilassa suljetussa astiassa 3 päivää. Seos suodatettiin, ja suodos kuumennettiin 60 °C:een, jotta reagoimaton isopreeni haihtuisi. Liuosta pidettiin 50

°C:ssa. Natriumkromaattia, vettä sekä pieni määrä väkevää rikkihappoa lisättiin liuokseen, ja seosta pidettiin 50 °C:ssa vielä 30 minuutin ajan. Tämän jälkeen liuos kuumennettiin 65 - 68 °C:een 45 minuutiksi. Liuos kaadettiin jäävesiseokseen. Tämän seoksen annettiin olla yön yli huoneenlämpötilassa. Muodostunut kiinteä aine kerättiin suodattamalla seos Büchner-supilon läpi imulla. Tämä kiinteä aine liuotettiin pieneen määrään etikkahappoa. Liuokseen lisättiin pieni määrä natriumkromaattia pienessä määrässä vettä. Tämän jälkeen liuosta kuumennettiin kiehuvalle vesihauteelle 20 minuutin ajan. Liuoksen annettiin jäähtyä ja vettä lisättiin kunnes tuote (**31**) saostui. Tuote suodatettiin imulla ja pestiin perusteellisesti vedellä kunnes suodatinpaperin läpi kulkeva vesi oli väritöntä. Tuote varmistettiin oikeaksi ¹H NMR-spektroskopian avulla. Saanto oli 69 %.

9.6.2 6-Bromimetyyli-1,4-naftokinoni (**32**)

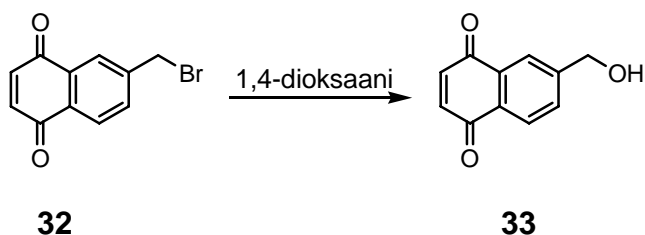
6-Metyyli-1,4-naftokinonista (**31**) syntetisoitiin bromattu prekursori 6-hydroksimetyyli-1,4-naftokinonille (**33**). Bromaus suoritettiin artikkelin⁷² ohjeita noudattaen radikaalireaktiolla.



6-Metyyli-1,4-naftokinonia (**31**) ja hieman ylimäärin *N*-bromisukkinimidiä (NBS) liuotettiin tetrakloorimetaaniin. Seos lämmitettiin 50 °C:een, jolloin pieni määrä atso-2,2'-isobutyronitriiliä (AIBN) lisättiin ja seosta refluksottiin 4 tuntia. Seos suodatettiin, ja suodoksesta haihdutettiin liuotin. ¹H NMR-spektristä havaittiin, että raakatuote sisälsi sekä lähtöainetta (**31**) että tuotetta (**32**). Tuote yritettiin puhdistaa pylväskromatografialla, mutta lähtöainetta ja tuotetta ei saatu erikseen. Tämä ainesos käytettiin sellaisenaan seuraavassa synteesissä (9.6.3).

9.6.3 6-Hydroksimetyyli-1,4-naftokinoni (33)

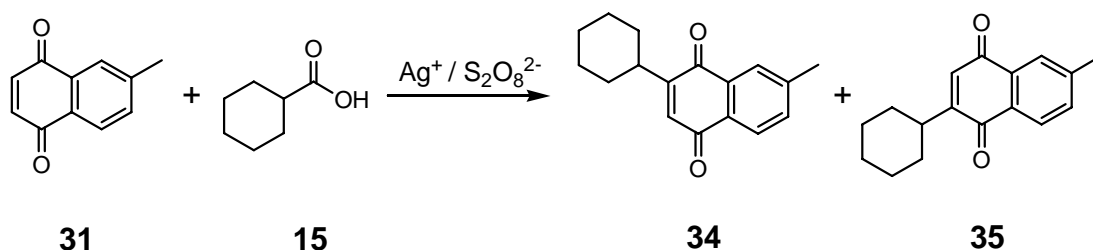
Edellisessä vaiheessa syntetisoidun 6-bromimetyyli-1,4-naftokinonin (32) bromi substituutiini hydroksyyli-ryhmällä, jolloin syntynyt 6-hydroksimetyyli-1,4-naftokinoni (33) voitaisiin yrittää esteröidä koolihapon kanssa. Synteesi suoritettiin artikkelin⁷³ ohjeita noudattaen hapettamalla 1,4-dioksaanilla.



6-Bromimetyyli-1,4-naftokinonia (32) refluksottiin vedessä ja reilussa ylimäärässä 1,4-dioksaania tunnin ajan, jolloin kellertävänvihreästä suspensiosta muodostui läpikuultamaton musta liuos. Liuos laimennettiin vedellä, uutettiin kloroformilla ja pestiin vedellä. Uutos haihdutettiin kuiviin. Raakatuote puhdistettiin pylväskromatografialla. Puhdistetussa tuotteessa havaittiin ¹H NMR-spektrin perusteella olevan paljon asetonin dimeeriä (4-hydroksi-4-metyyli-2-pentanonia), jota muodostui kromatografia-ajossa. Tuote liuotettiin kloroformiin ja pestiin vedellä, mutta asetonin dimeeriä ei saatu poistettua tuotteesta. Tuotetta saatiin vain vähän ja koska se sisälsi paljon epäpuhtautta, sille ei tehty jatkoreaktiota koolihapon kanssa.

9.6.4 2- ja 3-Sykloheksyyli-6-metyyli-1,4-naftokinoni (35) ja (34)

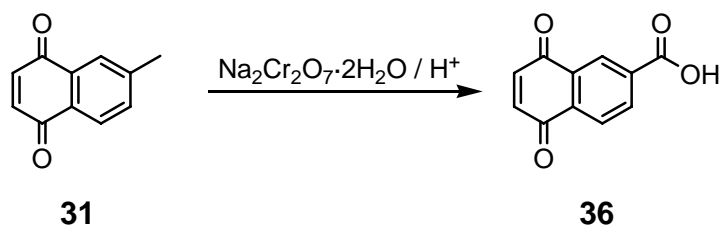
Synteesin tarkoituksena oli tutkia, voidaanko sykloheksyyli-ryhmä liittää 6-metyyli-1,4-naftokinoniin, samoin kuin 2-hydroksi-1,4-naftokinoniin (9.3.5) tai 1,4-naftokinoniin (9.5.1), joten synteesi tehtiin vastaavilla ohjeilla.⁷¹ Sykloheksyyli-ryhmä oletettavasti kiinnittyy 6-metyyli-1,4-naftokinonin 2- ja 3-asemiin 1:1 suhteella. Disykloheksyyliyhdistettä ei todennäköisesti synny, sillä ensimmäinen liittynyt sykloheksyyli-ryhmä toimii steerisenä esteenä.



6-Metyyli-1,4-naftokinonia (**31**), sykloheksyylikarboksyylihappoa (**15**) ja hopeanitraattia lisättiin asetonitriiliin ja veden seokseen. Seos kuumennettiin 65 - 70 °C:een. Ammoniumpersulfaatin vesiliuosta lisättiin tipoittain. Seosta pidettiin samassa lämpötilassa tunnin ajan, jonka jälkeen se kaadettiin veteen, josta tuote uutettiin eetterillä. Uutos pestiin vedellä ja eetteri haihdutettiin pois. Raakatuote puhdistettiin pylväskromatografialla. Massa- ja ¹H NMR-spektreistä havaittiin, että tuotteeksi saatiin 2-sykloheksyyli-6-metyyli-1,4-naftokinonin (**35**) ja 3-sykloheksyyli-6-metyyli-1,4-naftokinonin (**34**) 1:1 seos. Aineet eivät erottuneet toisistaan puhdistuksen aikana. Lisäksi seokseen jäi epäpuhtautta, sillä saannoksi saatiin yli teoreettisen saannon.

9.6.5 6-Karboksi-1,4-naftokinoni (**36**)

Synteesissä kokeiltiin, voidaanko 6-metyyli-1,4-naftokinonin (**31**) metyyliryhmä hapettaa karboksyylihappomuotoon (**36**). Hapettajana käytettiin vahvaa hapetinta, natriumdikromaattia. Synteesi tehtiin happamissa olosuhteissa.



6-Metyyli-1,4-naftokinonia (**31**) ja hieman ylimäärin natriumdikromaattia sekoitettiin pieneen määrään vettä ja seos lämmitettiin 75 - 80 °C:een. Väkevää rikkihappoa lisättiin tipoittain hyvin sekoitettuun seokseen. Tämän jälkeen sitä refluksoitiin puoli tuntia, jolloin sakan ja liuksen oranssi seos muuttui läpikuultamattomaksi mustaksi seokseksi. Tämä kaadettiin jäihin, jolloin muodostui musta liuos ja jähmeää raakatuotetta. Seos jätettiin seisomaan viikonlopun yli, mutta tuote ei sakannut. Raakatuote kaavittiin talteen ja liuotettiin etanoliin, joka poistettiin haihduttamalla. ¹H NMR-spektristä kävi ilmi, että lähtöaine ei ollut hapettunut halutusti, vaan hajonnut eri tavoilla, eikä reaktio täten ollut onnistunut.

10 YHTEENVETO

Kokeellinen osa aloitettiin muokkaamalla koolihappoa. Ensin suojattiin koolihapon hydroksyyli-ryhmät. Tämän jälkeen suojatut koolihappojohdannaiset muutettiin reaktiivisempaan happokloridimuotoon. Suojattu koolihappokloridi yritettiin esteröidä 2-hydroksi-1,4-naftokinonin kanssa käyttäen trietyyliamiinia syntyvän vetykloridin sitomiseen. Tällöin olisi syntynyt työn tavoitteena ollut koolihapon ja naftokinonin välinen konjugaatti, joka olisi potentiaalinen aihiolääke. Koska tämä ei onnistunut, 2-hydroksi-1,4-naftokinonista valmistettiin natriumhydroksidin avulla reaktiivisempi natriumsuolamuoto. Suolamuoto yritettiin esteröidä koolihappokloridin kanssa, mutta tuloksetta. 2-Hydroksi-1,4-naftokinoni muutettiin 3-sykloheksyylijohdokseksi, eli parvakoniksi. Siitä yritettiin syntetisoida erilaisia johdannaisia, joita voitaisiin esteröidä koolihapon hydroksyyli- tai karboksyylihapporyhmien kanssa. Nämä synteesit kuitenkin epäonnistuivat ja koolihappojohdannaiset jäivät syntetisoimatta. Lisäksi yritettiin syntetisoida muita 1,4-naftokinonijohdannaisia, jotka voitaisiin yrittää yhdistää koolihapon kanssa. Näiden johdannaisten muokkaus ei onnistunut halutusti, mutta havaittiin, että 1,4-naftokinonin ja 6-metyyli-1,4-naftokinonin muokkaus on helpompaa kuin 2-hydroksi-1,4-naftokinonin.

Työn ensisijainen tavoite eli koolihapon ja atovakonin konjugaatti jäi saavuttamatta, sillä 2-hydroksi-1,4-naftokinoni ja sen johdannaiset ovat erittäin stabiileja ja huonoliukoisia yhdisteitä, varsinkin poolittomiin orgaanisiin liuottimiin. Kuitenkin toissijainen tavoite eli parvakonin ja sen johdannaisten syntetisointi ja tarkastelu mahdollisia jatkosynteesijä ajatellen onnistui tyydyttävästi. Konjugaattien muodostaminen on todennäköisesti mahdollista, mutta naftokinonijohdannaisten heikon reaktiivisuuden vuoksi se on hankalaa.

11 SYNTEESIOHJEET

11.1 3 α ,7 α ,12 α -Triasetoksikoolihappokloridi (4)

2,0 g (3,7 mmol) 3 α ,7 α ,12 α -triasetoksikoolihappoa liuotettiin 30 ml:aan (0,41 mol) tionyylikloridia. Kaksi tippaa *N,N*-dimetyyliformamidia lisättiin katalyytiksi. Liuosta refluksoitiin 4 tuntia, jäähdytettiin ja haihdutettiin melkein kaikki tionyylikloridi. Jäännös liuotettiin 30 ml:aan tolueenia ja haihdutettiin kunnes lähes kaikki tolueeni oli haihtunut. Jäännös liuotettiin uudelleen 30 ml:aan tolueenia. Nyt kaikki neste haihdutettiin ja jäännös kuivattiin vakuuminlinjastossa yön yli (kosteaa raakatuotetta vaahtosi aluksi voimakkaasti). Raakatuotetta muodostui karkeasti arvioituna 2 grammaa. Tätä raakatuotetta ei puhdistettu, sillä se käytettiin sellaisenaan seuraavissa reaktioissa. ¹H NMR-spektrissä (liite 1) on hieman epäpuhtauksia, mm. tolueenia ($\delta = 2.37, 7.16 - 7.29$).

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) (LIITE 1): $\delta = 0.747$ (s, 3H, 18-CH₃), 0.83 - 0.86 (d, 3H, 21-CH₃), 0.93 (s, 3H, 19-CH₃), 1.07 - 2.01 (m, 24H, kolaanivedyt), 2.05 - 2.14 (sss, 9H, 3×OOCCH₃), 4.54 - 4.63 (m, 1H, 3 β -H), 4.92 - 4.93 (d, 1H, 12 β -H), 5.10 (s, 1H, 7 β -H).

11.2 3 α ,7 α ,12 α -Tris(trifluoriasetoksi)koolihappo (5)

Synthesissä käytetty trifluorietikkahappo oli tislattu juuri ennen synteesiä.

3,01 g (7,4 mmol) koolihappoa liuotettiin 75 ml:aan THF:a. Liuos jäähdytettiin noin -10 °C:een suolajäävesihauteen avulla. Liuokseen lisättiin 19 ml (0,26 mol) TFA:a tiputussuppilosta. Seos pidettiin -10 °C:ssa tunnin ajan, jonka jälkeen sitä sekoitettiin 2 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Seos kaadettiin 120 ml:aan eetteriä ja 30 g:aan jäätä 400 ml dekantterilasissa. Eetteriosuus erotettiin vesifaasista erotussuppilossa ja eetterifaasi pestiin 60 ml:lla vettä, kylläisellä natriumvetykarbonaattiliuoksella kunnes pesuliuos muuttui hieman emäksiseksi (NaHCO₃-liuosta kului n. 300 ml) ja lopuksi 60 ml:lla kylläistä suolaliuosta. Orgaaninen liuos kuivattiin magnesiumsulfaatilla, suodatettiin, haihdutettiin ja raakatuote kuivattiin vakuuminlinjastossa. Raakatuote painoi 5,27 grammaa. Saanto oli 103 % joten raakatuote sisälsi epäpuhtauksia, mutta sitä ei puhdistettu vaan käytettiin jatkoreaktiossa (11.3) sellaisenaan.

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃): δ = 0.81 (s, 3H, 18-CH₃), 0.84 - 0.86 (d, 3H, 21-CH₃), 0.99 (s, 3H, 19-CH₃), 0.96 - 2.59 (m, 24H, kolaanivedyt), 4.68 - 4.85 (m, 1H, 3β-H), 5.17 (s, 1H, 12β-H), 5.34 (s, 1H, 7β-H).

11.3 3α,7α,12α-Tris(trifluoriasetoksi)koolihappokloridi (6)

Noin 5,27 g (n. 7 mmol) 3α,7α,12α-tris(trifluoriasetoksi)koolihappoa (**5**) liuotettiin 60 ml:aan (0,83 mol) tionyylikloridia. Kolme tippaa DMF:a lisättiin katalyytiksi. Seosta refluksoitettiin 4 tuntia, ja annettiin jäähtyä. Lähes kaikki tionyylikloridi haihdutettiin pois. Jäännös liuotettiin 50 ml:aan tolueenia, ja haihdutettiin kunnes lähes kaikki tolueeni oli haihtunut. Jäännös liuotettiin uudelleen 50 ml:aan tolueenia ja nyt kaikki neste haihdutettiin ja jäännös kuivattiin vakuuminlinjastossa yön yli. Muodostui 5,5 grammaa raakatuotetta, jota ei puhdistettu.

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃): δ = 0.82 (s, 3H, 18-CH₃), 0.85 - 0.88 (q, 3H, 21-CH₃), 1.00 (s, 3H, 19-CH₃), 1.04 - 2.33 (m, 24H, kolaanivedyt), 4.74 - 4.83 (m, 1H, 3β-H), 5.18 - 5.19 (d, 1H, 12β-H), 5.35 (s, 1H, 7β-H).

11.4 3α,7α,12α-Triasetoksikoolihapon 1,4-diokso-1,4-dihydronaftalen-2-yyliesteri (7) (trietyyliamiinin avulla)

Synteesissä käytetty trietyyliamiini oli tislattu juuri ennen synteesiä.

0,29 g (1,7 mmol) 2-hydroksi-1,4-naftokinonia liuotettiin 30 ml:aan dikloorimetaania, ja 0,25 ml (1,8 mmol) trietyyliamiinia lisättiin kolviin. Kolvi jäädytettiin jäähauteella ja suojattiin argonilla. Tiputussuppilosta lisättiin tipoitain 1,01 g (1,8 mmol) triasetoksisuojattua koolihappokloridia (**4**) 20 ml:ssa dikloorimetaania. Happokloridin lisäämisen jälkeen jäähaude poistettiin kolvin ympäriltä ja liuosta sekoitettiin 3 päivää huoneenlämmössä. Tämän jälkeen liuos kaadettiin erotussuppiloon, jossa se pestiin 25 ml:lla vettä, 25 ml:lla 2 M suolahappoa, taas 25 ml:lla vettä, kolmesti 20 ml:lla kylläistä natriumvetykarbonaattia ja lopuksi 25 ml:lla vettä. DCM poistettiin haihduttamalla ja kuivattiin vakuuminlinjastossa. Tuotetta ei muodostunut.

11.5 3 α ,7 α ,12 α -Triasetoksikoolihapon 1,4-diokso-1,4-dihydronaftalen-2-yyliesteri (7) (natriumhydroksidin avulla)

0,35 g (2,0 mmol) 2-hydroksi-1,4-naftokinonia liuotettiin 10 ml:aan asetonia (täydellinen liukeneminen vaati hieman lämmitystä). Yksi natriumhydroksidiraie (0,20 g, 5 mmol) murskattiin huumareessa ja siirrettiin välittömästi jauhamisen jälkeen asetoniliuokseen. Kolviin muodostettiin argon-atmosfääri ja seoksen annettiin sekoittua 75 minuuttia huoneenlämmössä. Tämän jälkeen kolviin lisättiin tipoitain 1,00 (1,8 mmol) grammaa triasetoksisuojattua koolihappokloridia (4) 5 ml:ssa asetonia. Seoksen annettiin reagoida sekoituksella 3 vuorokautta, jonka jälkeen se kaadettiin 20 ml:aan kylläistä natriumvetykarbonaattia. Koska seoksessa oli mukana myös sakkaa (natriumkloridia), lisättiin siihen noin 10 ml vettä, jolloin sakka liukeni. Lasisauvalla sekoitettaessa sen pintaan muodostui viskoottista ainetta. Jäljellä oleva liuos uutettiin 3 x 25 ml:lla etyyliasetaattia, ja tahmea puolikiinteä aines liuotettiin noin 15 ml:aan etyyliasetaattia. Nämä etyyliasetaatti-liuokset yhdistettiin ja pestiin 25 ml:lla suolavettä, jolloin nestefaasien väliin muodostui 2-hydroksi-1,4-naftokinonin natriumsuolasta muodostunut kerros. Etyyliasetaattiliuos kuivattiin natriumsulfaatilla, haihdutettiin ja kuivattiin vakuuminlinjastossa. Tuotetta ei syntynyt.

11.6 2-(2-Hydroksietoksi)-1,4-naftokinoni (9)

0,82 g (13 mmol) etyleeniglykolia liuotettiin 10 ml:aan tolueenia. Tiputussuppilosta lisättiin tipoitain 0,40 g (2,3 mmol) 2-hydroksi-1,4-naftokinonia liuotettuna 15 ml:aan kloroformia ja 20 ml:aan tolueenia. 3 tippaa väkevää rikkihappoa lisättiin liuokseen katalyytiksi. Liuosta refluksoititiin 5 tuntia. Liuos pestiin 2 x 15 ml:lla vettä, kuivattiin magnesiumsulfaatilla, suodatettiin, haihdutettiin ja kuivattiin vakuuminlinjastossa. Tuotetta ei syntynyt.

11.7 2-(1,4-Diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etyyliasetaatti (11)

1,75 g (10 mmol) 2-hydroksi-1,4-naftokinonia, 1,76 g (11 mmol) etyylibromiasetaattia ja 1,52 g (11 mmol) vedetöntä kaliumkarbonaattia lisättiin 25 ml:aan asetonia. Seosta refluksoititiin öljyhauteessa 26 tuntia, jonka jälkeen se suodatettiin kuumana (suodatinpaperiin jäänyt punainen sakka oli 2-hydroksi-1,4-naftokinonin kaliumsuolaa, jonka sulamispisteeksi mitattiin >300 °C). Se haihdutettiin pieneen tilavuuteen.

Liuoksen annettiin kiteytyä yön yli, mutta kiteytymistä tapahtui vain hyvin vähän, joten kolviin lisättiin 1 ml asetonia ja tuote liuotettiin siihen, haihdutettiin ja kuivattiin vakuuminlinjastossa. Syntynyt raakatuote tutkittiin ^1H NMR-mittauksella ja ohutlevykromatografialla. Se ajettiin pylväskromatografian läpi käyttäen eluenttina 1:1 heksaani-etyyliasetaatista. Fraktiot tutkittiin ^1H NMR-mittauksella, mutta haluttua tuotetta ei näkynyt spektristä.

11.8 2,2'-(3,3'-Bi(1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-dietyliasetaatti (13)

0,41 g (1,2 mmol) 2,2'-bi(3-hydroksi-1,4-naftokinonia), 0,39 g (2,3 mmol) etyylibromiasetaattia, 0,38 g (2,8 mmol) kaliumkarbonaattia ja 10 ml asetonia refluksoitiin 48 tuntia. Seos suodatettiin kuumana, ja suodos haihdutettiin ja kuivattiin vakuumissa. Tuotetta ei syntynyt.

11.9 2-Hydroksi-6-(3 α ,7 α ,12 α -tris(trifluoriasetoksi)-5 β -kolan-24-oyyli)-1,4-naftokinoni (14)

1,10 g (1,5 mmol) trifluoriasetoksisuojattua koolihappokloridia (**6**), 0,28 g (1,6 mmol) 2-hydroksi-1,4-naftokinonia ja 40 ml dikloorimetaania lisättiin kolviin. Seos jäädytettiin jäähauteella. 0,36 g (2,7 mmol) alumiinikloridia (AlCl_3) lisättiin spaattelilla vähän kerrallaan, jäähaude poistettiin ja seosta sekoitettiin huoneenlämmössä 18 tuntia. Tämän jälkeen seos kaadettiin 40 ml:aan jäitä, seokseen lisättiin 40 ml 1 M suolahappoa, ja faasit erotettiin toisistaan erotussuppilossa. Orgaaninen liuos pestiin 40 ml:lla kylläistä suolaliuosta ja kuivattiin magnesiumsulfaatilla, haihdutettiin ja kuivattiin vakuuminlinjastossa. Tuotetta ei ollut muodostunut. Vesifaasia uutettiin 20 ml:lla dikloorimetaania, jonka mukaan tarttui myös sakkaa, joka oli 2-hydroksi-1,4-naftokinonin tetrakloorialuminaattia. Sakka suodatettiin talteen ja dikloorimetaaniliuos haihdutettiin, jolloin kaikki kolvin sisältö haihtui, eli tuotetta ei ollut muodostunut.

11.10 2-Hydroksi-3-sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (16)

Synteesi tehtiin kolmesti, ja synteesit olivat lähes identtiset, ainoastaan kemikaalien ainemäärissä oli eroja. Tässä kuvataan kolmas synteesikerta.

6,01 g (34 mmol) 2-hydroksi-1,4-naftokinonia, 6,91 g (54 mmol) sykloheksaanikarboksyylihappoa ja 3,15 g (19 mmol) hopeanitraattia lisättiin 100 ml:aan vettä ja 80 ml:aan asetonitriiliä. Seos lämmitettiin öljyhauteella 65 - 70 °C:een ja 10,67 g (47 mmol) ammoniumpersulfaattia 40 ml:ssa vettä lisättiin tiputussuppilosta. Seosta pidettiin samassa lämpötilassa tunnin ajan, jonka jälkeen sen annettiin viilentyä huoneenlämpöön. Seos kaadettiin 100 ml:aan vettä. Tuote uutettiin seoksesta erotussuppilossa eetterillä (80 + 80 + 80 + 40 ml). Uuttamisen aikana nestefaasien väliin muodostui sakasta koostuva faasi, joka ei ollut tuotetta, mutta joka silti kerättiin eetterifaasin mukaan. Eetterifraktiot yhdistettiin ja pestiin vedellä (3 x 80 ml) sekä kylläisellä suolavedellä (80 ml). Eetteriliuos kuivattiin magnesiumsulfaatilla ja suodatettiin, jolloin eetterin mukana kulkeutuneesta sakkafaasista päästiin eroon. Suodos haihdutettiin ja kuivattiin vakuumissa. ¹H NMR ja ohutlevykromatografia varmistivat, että raakatuotteen joukossa oli haluttua tuotetta. Tuote puhdistettiin ajamalla se kahdesti pylväskromatografian läpi käyttäen eluenttina tolueenia. Puhdistettua tuotetta saatiin 1,93 g ja saanto oli 22 %. Tuotteen ¹H NMR-spektrissä (liite 2) on mukana hieman tolueenia ($\delta = 2.37, 7.17 - 7.24$).

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) (LIITE 2): $\delta = 1.09 - 2.05$ (m, 10H, sykloheksyyli-CH₂), 3.03 - 3.15 (m, 1H, sykloheksyyli-CH), 7.43 (s, 1H, OH), 7.64 - 7.79 (m, 2H, Ar-H), 8.05 - 8.14 (m, 2H, Ar-H).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) (LIITE 3): $\delta = 25.98$ (sykloheksyyli-4-CH₂), 26.70 (2C, sykloheksyyli-3,5-CH₂), 29.26 (2C, sykloheksyyli-2,6-CH₂), 35.21 (sykloheksyyli-1-CH), 125.91; 126.94 (2C, 6,9-Ar-CH), 127.93 (3-Ar-C), 129.25; 133.22 (2C, 5,10-Ar-C), 132.70; 134.88 (2C, 7,8-Ar-CH), 152.84 (Ar-C-O), 181.97 (1-Ar-C=O), 184.56 (4-Ar-C=O).

11.11 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etyyliasettaatti (17)

Synteesi tehtiin kahdesti.

0,50 g (2,0 mmol) parvakonia (**16**), 0,52 g (3,1 mmol) etyylibromiasetaattia, 0,43 g (3,1 mmol) vedetöntä kaliumkarbonaattia 15 ml:ssa asetonia refluksoitiin 20 tuntia,

jonka jälkeen seos suodatettiin kuumana, konsentroidiin pieneen liuosmäärään haihduttamalla ja jäädytettiin. Koska tuote ei kiteytynyt, kaadettiin liuos 25 ml:aan vettä (30 ml dekanterilasissa). Keltaisia kiteitä muodostui hitaasti. Kiteet suodatettiin imulla. Tuote kuivattiin vakuuminlinjastossa ja sitä saatiin 0,62 g (saanto 93 %).

Toisen synteesikerran lähtöaineet olivat 1,00 g (3,9 mmol) parvakonia, 0,70 g (4,2 mmol) etyylibromiasetaattia, 0,65 g (4,7 mmol) kuivaa kaliumkarbonaattia ja 15 ml asetonia. Synteesin alkuvaihe oli samanlainen kuin ensimmäisen synteesikerran mutta tuote ei kiteytynyt vedessä, vaan muodosti oman viskoosin faasin. Vesi kaadettiin pois dekanterilasista ja tuotteen annettiin kuivua huoneenlämmössä yön yli. Tuote liuotettiin 15 ml:aan asetonia ja haihdutettiin niin pieneen tilavuuteen kuin mahdollista. Tuote yritettiin kiteyttää jääkaapissa, mutta se ei onnistunut. ^1H NMR-spektristä kävi ilmi, että liuos sisälsi asetonin dimeeriä, 4-hydroksi-4-metyyli-2-pentanonia, jota muodostui refluksoinnin aikana. Tämä poistettiin liuottamalla tuote 15 ml:aan heksaania ja pesemällä liuos 10 ml:lla vettä. Heksaani poistettiin haihduttamalla ja tuote kuivattiin vakuumissa. Tuote ei kiteytynyt kokonaan, vaan jäi osittain keltaiseksi, viskoosiksi, öljymäiseksi tuotteeksi. Tämä tarkoitti, että tuotteen seassa on epäpuhtautta. Tuotetta saatiin 1,34 g, ja saanto oli 100 % (johtuen epäpuhtauksista).

^1H NMR (250 MHz, CDCl_3) (LIITE 4): δ = 1.28 - 1.34 (t, 3H, CH_3), 1.36 - 2.16 (m, 10H, sykloheksyyli- CH_2), 3.15 - 3.27 (m, 1H, sykloheksyyli- CH), 4.23 - 4.36 (q, 2H, CH_2), 4.05 (s, 2H, CH_2), 7.26 - 7.74 (m, 2H, Ar-H), 7.89 - 7.97 (m, 2H, Ar-H).

^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) (LIITE 5): δ = 14.18 (CH_3), 26.01 (sykloheksyyli-4- CH_2), 26.89 (2C, sykloheksyyli-3,5- CH_2), 29.60 (2C, sykloheksyyli-2,6- CH_2), 36.04 (sykloheksyyli-1- CH), 61.27 (CH_3 - CH_2), 68.83 (CH_2), 125.87; 126.33 (2C, 6,9-Ar- CH), 131.15; 132.35 (2C, 5,10-Ar-C), 132.99; 133.88 (2C, 7,8-Ar- CH), 138.16 (3-Ar-C), 155.62 (2-Ar-C-O), 168.74 ($\text{C}=\text{O}$), 182.16 (1-Ar-C=O), 185.15 (4-Ar-C=O).

MS: $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 365.05$

**11.12 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)etikkahappo (18)
(saippuomalla)**

0,62 g (1,8 mmol) 2-(3-sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etyliasetaattia (17), 10 ml etanolia ja 1,5 ml 8 % NaOH-liuosta refluksoitettiin 2 tuntia. Etanoli poistettiin haihduttamalla ja jäännös liuotettiin 30 ml:aan vettä. Liuos tehtiin happamaksi 2 M HCl-liuoksella, jolloin liuoksesta sakkasi keltainen aine hyvin hienojakoisena. Tämän suodattaminen ei onnistunut, sillä se tukki suodatinpaperin, joten se uutettiin vedestä 2 x 20 ml:lla dietyylieetteriä ja pestiin vedellä. Eetteri haihdutettiin ja raakatuote kuivattiin vakuumissa. Tuotetta ei ollut muodostunut.

**11.13 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etikkahappo (18)
(bromietikkahapon avulla)**

0,28 g (1,1 mmol) parvakonia (16), 0,17 g (1,2 mmol) bromietikkahappoa, 0,45 g (3,3mmol) kaliumkarbonaattia ja 20 ml asetonia refluksoitettiin 20 tuntia. Seos suodatettiin kuumana ja suodos haihdutettiin kuiviin. Jäännös kuivattiin vakuumissa. Tuotetta ei muodostunut.

11.14 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-N-(2-hydroksietyyli)asetamidi (21) (refluksoimalla)

0,40 g (1,2 mmol) 2-(3-sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etyliasetaattia (17) ja 3,35 g (55 mmol) etanoliamiinia 20 ml:ssa metanolia refluksoitettiin 24 tuntia. Liuoksesta haihdutettiin puolet pois ja loppu kaadettiin n. 100 ml:aan jäävesiseosta. Koska tuote ei kiteytynyt, uutettiin se 3 x 30 ml:lla dietyylieetteriä ja 20 ml:lla etyyliasetaattia. Orgaaniset uutokset yhdistettiin ja liuottimet poistettiin haihduttamalla. Jäännös kuivattiin vakuumilinjastossa. Raakatuote puhdistettiin liuottamalla se etyyliasetaattiin (liukenematta jäi epäpuhtauksia) ja suorittamalla pylväskromatografia käyttäen eluenttina etyyliasetaatti-heksaani 1:1-seosta. Synteesi ei onnistunut.

11.15 2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-N-(2-hydroksietyyli)asetamidi (21) (huoneenlämmössä)

0,30 g (0,88 mmol) 2-(3-sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etyyliasetaatia (17) ja 2,50 g (41 mmol) etanoliamiinia 20 ml:ssa metanolia sekoitettiin huoneenlämmössä 8 vuorokautta. Liuotin poistettiin haihduttamalla ja jäännös liuotettiin 20 ml:aan etyyliasetaatia. Liuos pestiin 2 x 15 ml:lla vettä, etyyliasetaatia poistettiin haihduttamalla ja jäännös kuivattiin vakuuminlinjastossa. Tuotetta ei syntynyt.

11.16 3-(2-(3-Sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)asetoksi)-metyylilitokolaatti (23)

0,36 g (0,76 mmol) 3 α -(2-kloori)asetoksi-metyylilitokolaattia, 0,20 g (0,78 mmol) parvakonia (16) ja 0,17 g (1,2 mmol) kaliumkarbonaattia 10 ml:ssa asetonia refluksoitiin 20 tuntia. Seos suodatettiin kuumana ja suodos haihdutettiin ja kuivattiin vakuuminlinjastossa. Raakatuote liuotettiin metanoliin (jolloin epäpuhtaudet jäivät liukenematta) ja liuos ajettiin pylväskromatografian läpi käyttäen eluenttina heksaani-etyyliasetaatia 1:1-seosta. Synteesi ei onnistunut.

11.17 2-Sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (25)

1,00 g (6,3 mmol) 1,4-naftokinonia, 1,22 g (9,5 mmol) sykloheksaanikarboksyylihappoa ja 0,58 g (3,1 mmol) lisättiin 30 ml:aan asetonitriiliä ja 10 ml:aan vettä. Seos kuumennettiin 65 - 70 °C:een ja siihen lisättiin 1,96 g (8,6 mmol) ammoniumpersulfaattia 10 ml:ssa vettä. Seosta sekoitettiin samassa lämpötilassa tunnin ajan ja jäädytettiin. Seos kaadettiin 50 ml:aan vettä ja tuote uutettiin seoksesta 3 x 30 ml:lla eetteriä, joka pestiin 2 x 30 ml:lla vettä ja 1 x 30 ml:lla kylläistä suolavettä. Uutos kuivattiin magnesiumsulfaatilla, haihdutettiin kuiviin ja kuivattiin vakuumissa. Saatu raakatuote puhdistettiin pylväskromatografialla käyttäen eluenttina toluenia. Puhdistettua tuotetta saatiin 1,52 g. Saanto oli 47 %.

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) (LIITE 6): δ = 1.04 - 2.01 (m, 10H, sykloheksyyli-CH₂), 2.87 - 2.96 (m, 1H, sykloheksyyli-CH), 6.74 - 6.76 (d, 1H, 3-H), 7.67 - 7.78 (m, 2H, Ar-H), 8.02 - 8.14 (m, 2H, Ar-H).

MS (LIITE 7): $[M] = 240$, $[M-C_5H_8] = 172$, $[M-C_7H_{12}] = 144$

11.18 3-Bromi-2-sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (26)

0,71 g (3,0 mmol) 2-sykloheksyyli-1,4-naftokinonia (**25**) ja 1,02 g (12 mmol) natriumasetaattia liuotettiin 5 ml:aan etikkahappoa. Liuos jäädytettiin jäävesihauteen avulla 0 °C:een ja liuokseen lisättiin 0,19 ml (3,7 mmol) bromia. Kolvi suljettiin hioskorkilla tiiviisti ja käärittiin alumiinifolioon, ja annettiin reagoida ilman sekoitusta 3 päivää. Liuos kaadettiin 100 ml:aan vettä, ja tuote uutettiin 3 x 20 ml:lla heksaania. Heksaaniliuos pestiin 20 ml:lla vettä, kuivattiin magnesiumsulfaatilla ja kuivattiin vakuuissa. Raakatuotetta saatiin 0,74 g, josta 0,37 g arvioitiin olevan tuotetta. ¹H NMR-spektrissä (liite 8) on mukana hieman heksaania ($\delta = 0.83 - 0.98$) sekä lähtöainetta (**25**).

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) (LIITE 8): $\delta = 1.17 - 1.95$ (m, 10H, sykloheksyyli-CH₂), 3.20 - 3.32 (m, 1H, sykloheksyyli-CH), 7.67 - 7.84 (m, 2H, Ar-H), 8.02 - 8.16 (m, 2H, Ar-H).

11.19 2-Sykloheksyyli-3-(2-hydroksietyyliamino)-1,4-naftokinoni (28)

0,74 g (2,2 mmol) 3-bromi-2-sykloheksyyli-1,4-naftokinonia (**26**), 0,18 g (3,0 mmol) etanoliamiinia, 0,40 g (2,9 mmol) kaliumkarbonaattia ja 10 ml etanolia refluksottiin 5 tuntia. Seos suodatettiin, ja suodos haihdutettiin ja kuivattiin vakuuissa. Raakatuote puhdistettiin pylväskromatografialla käyttäen etyyliasetaatti-heksaani 2:1-seosta eluenttina. Tuotetta ei syntynyt.

11.20 6-Metyyli-1,4-naftokinoni (31)

Synteesi tehtiin kahdesti. Tässä kuvataan ensimmäinen synteesikerta, toinen synteesikerta oli lähtöaineiden määriä lukuunottamatta identtinen.

2,08 g (19 mmol) *p*-bentsokinonia, 1,30 g (19 mmol) isopreeniä ja 15 ml etikkahappoa typpi-atmosfäärissä suljetussa kolvissa sekoitettiin huoneenlämmössä 3 vuorokautta, jonka jälkeen seos suodatettiin ja suodos lämmitettiin 60 °C:een. Lämpötila laskettiin

50 °C:een, ja liuokseen lisättiin 6,06 g (37 mmol) natriumkromaattia ja 0,4 ml väkevää rikkihappoa 8 ml:ssa vettä. Lämpötila pidettiin 50 °C:ssa jäävesihauteen ja lämmityksen avulla 30 minuutin ajan. Liuos lämmitettiin 65 - 68 °C:een 45 minuutiksi, ja se kaadettiin 25 g:aan jäätä ja 40 ml:aan vettä ja jätettiin huoneenlämpötilaan yön yli. Muodostunut kiinteä aines kerättiin suodattamalla seos imulla Büchner-suppilon avulla. Sakka liuotettiin 10 ml:aan etikkahappoa. 0,38 g (2,3 mmol) natriumkromaattia 5 ml:ssa vettä lisättiin liuokseen, ja seosta lämmitettiin vesihauteella 20 minuuttia. Seos viilennettiin ja siihen lisättiin vettä kunnes tuote sakkasi. Tuote kerättiin Büchner-suppilolla ja pestiin perusteellisesti kylmällä vedellä. Tuote kuivattiin vakuuissa. Tuotetta kerättiin 2,27 g. Saanto oli 69 %. ¹H NMR-spektrissä (liite 9) on mukana vettä ($\delta = 1.64$) ja hieman epäpuhtauksia.

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) (LIITE 9): $\delta = 2.51$ (s, 3H, CH₃), 6.95 (s, 2H, Ar-H), 7.54 - 7.58 (m, 1H, Ar-H), 7.88 - 7.89 (m, 1H, Ar-H), 7.97 - 8.00 (ss, 1H, Ar-H).

11.21 6-Bromimetyyli-1,4-naftokinoni (32)

2,95 g (17 mmol) *N*-bromisukkinimidiä lisättiin 2,27 g (13 mmol) 6-metyyli-1,4-naftokinoniin (**31**) 50 ml:ssa tetrakloorimetaania. Seos lämmitettiin 50 °C:een ja 0,46 g (2,8 mmol) AIBN:ä lisättiin. Seosta refluksoitettiin 4 tuntia. Seos suodatettiin ja suodos haihdutettiin. Raakatuote puhdistettiin pylväskromatografialla käyttäen eluenttina asetoni/heksaani 2:8 -seosta, mutta tuote ei puhdistunut. Raakatuotetta (**31** ja **32** seos) kerättiin 2,17 g.

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃): $\delta = 4.56$ (s, 2H, CH₂), 7.00 (s, 2H, Ar-H), 7.77 - 8.24 (m, 3H, Ar-H).

11.22 6-Hydroksimetyyli-1,4-naftokinoni (33)

2,17 g 6-bromimetyyli-1,4-naftokinonin raakatuotteen (**32**), 29 ml (0,34 mol) dioksaanin ja 43 ml veden seosta refluksoitettiin 1 tunti. Liuos laimennettiin 100 ml:lla vettä ja tuote uutettiin 3 x 30 ml:lla kloroformia. Uutos pestiin 30 ml:lla vettä, kuivattiin natriumsulfaatilla, haihdutettiin ja kuivattiin vakuuissa. Raakatuote puhdistettiin pylväskromatografialla käyttäen eluenttina asetoni-kloroformi 1:10-seosta. Puhdistuksessa syntynyt asetonin dimeeri yritettiin poistaa liuottamalla dimeeri-tuote -

seos kloroformiin ja pesemällä sitä 20 ml:lla vettä, tuloksetta. Tuotetta saatiin 0,36 g, joka sisältää epäpuhtautta (asetonin dimeeriä).

$^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): $\delta = 4.86$ (s, 2H, CH_2), 6.98 (s, 2H, Ar-H), 7.75 - 8.10 (m, 3H, Ar-H).

11.23 2- ja 3-Sykloheksyyli-6-metyyli-1,4-naftokinoni (35) ja (34)

4,51 g (26 mmol) 6-metyyli-1,4-naftokinonia, 5,29 g (41 mmol) sykloheksaanikarboksyylihappoa, 2,39 g (14 mmol) hopeanitraattia, 68 ml asetonitriliä ja 90 ml vettä kuumennettiin 65 - 70 °C:een ja 8,16 g (36 mmol) ammoniumsulfaattia 45 ml:ssä vettä lisättiin seokseen tiputussuppilosta. Seosta lämmitettiin samassa lämpötilassa tunnin ajan, jonka jälkeen se kaadettiin 80 ml:aan vettä. Tuote uutettiin seoksesta 3 x 40 ml:lla eetteriä, pestiin 40 ml:llä vettä ja kuivattiin magnesiumsulfaatilla. Eetteri poistettiin haihduttamalla ja raakatuote kuivattiin vakuuissa. Tuote puhdistettiin pylväskromatografialla käyttäen eluenttina asetonihexaani 2:9 -seosta. Tuotetta kerättiin 6,8 g, joka sisälsi sekä 2-sykloheksyyli-6-metyyli-1,4-naftokinonia että 3-sykloheksyyli-6-metyyli-1,4-naftokinonia. $^1\text{H NMR}$ -spektrissä (liite 10) on tuotteen lisäksi epäpuhtauksia, kuten lähtöaineita (31) ja (15).

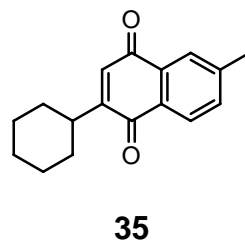
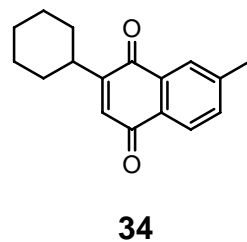
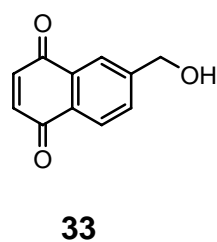
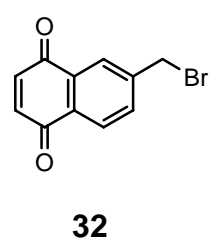
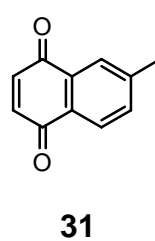
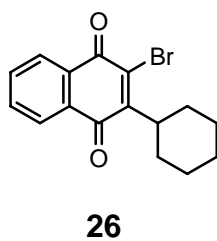
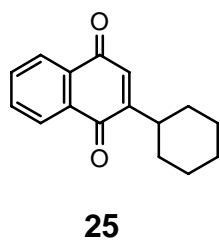
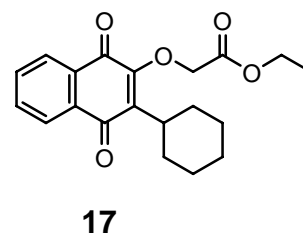
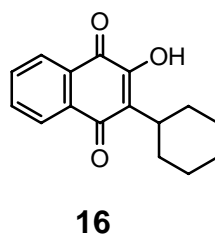
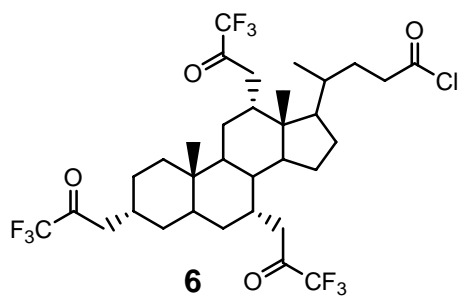
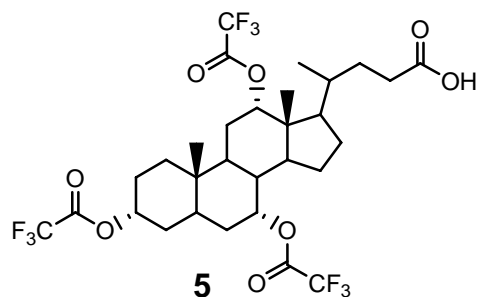
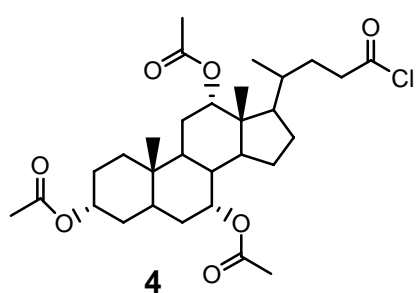
$^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl_3) (LIITE 10): $\delta = 1.13 - 1.97$ (m, 10H, sykloheksyyli- CH_2), 2.83 - 2.95 (m, 1H, sykloheksyyli- CH), 6.70 (s, 1H (2- tai 3-asemassa), Ar-H), 7.49 - 7.60 (m, 1H, Ar-H), 7.82 - 8.25 (m, 2H, Ar-H).

MS: $[\text{M}] = 254$, $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_8] = 186$, $[\text{M}-\text{C}_7\text{H}_{12}] = 158$

11.24 6-Karboksi-1,4-naftokinoni (36)

1,93 g (11 mmol) 6-metyyli-1,4-naftokinonia (31), 4,55 g (15 mmol) natriumdikromaattia ja 10 ml vettä kuumennettiin 70 - 80 °C:een. 6,2 ml (0,12 mol) rikkihappoa lisättiin tiputtaen seokseen, ja seosta refluksottiin tunnin ajan. Syntynyt musta liuos kaadettiin 50 g:aan jäätä, jolloin muodostui raskasta mustaa öljymäistä ainetta. Tuotetta ei syntynyt.

12 SYNTETISOIDUT MOLEKYYLIT



KIRJALLISUUSLUETTELO

1. L. F. Fieser and A. P. Richardson, Naphthoquinone antimalarials. II. Correlation of structure and activity against *P. lophurae* in ducks, *J. Am. Chem. Soc.*, **1948**, 70(10), 3156-3165.
2. J. J. Kessl, B. B. Lange, T. Merbitz-Zahradnik, K. Zwicker, P. Hill, B. Meunier, H. Pálsdóttir, C. Hunte, S. Meshnick and B. L. Trumpower, Molecular basis for atovaquone binding to the cytochrome *bc*₁ complex, *J. Biol. Chem.*, **2003**, 278(33), 31312-31318.
3. I. K. Srivastava, H. Rottenberg and A. B. Vaidya, Atovaquone, a broad spectrum antiparasitic drug, collapses mitochondrial membrane potential in a malarial parasite, *J. Biol. Chem.*, **1997**, 272(7), 3961-3966.
4. S. L. Croft, The current status of antiparasite chemotherapy, *Parasitology*, **1997**, 114, 3-15.
5. Malarone® prescribing information, http://us.gsk.com/products/assets/us_malarone.pdf, GlaxoSmithKline (29.1.2008, liite 11).
6. Mepron® prescribing information, http://us.gsk.com/products/assets/us_mepron.pdf, GlaxoSmithKline (29.1.2008, liite 12).
7. Fruvexon, http://exp.bimeda.net/shopping_admin/product_details/product.cgi?product=81a, Bimeda Export Ltd (29.1.2008, liite 13).
8. Parvexon, http://exp.bimeda.net/shopping_admin/product_details/product.cgi?product=82a, Bimeda Export Ltd (29.1.2008, liite 14).
9. Butalex, http://www.poulvvet.com/vetproducts/medicine_detail.php?mediid=245 (29.1.2008, liite 15).
10. I. K. Srivastava, J. M. Morrissey, E. Darrouzet, F. Daldal and A. B. Vaidya, Resistance mutations reveal the atovaquone-binding domain of cytochrome *b* in malaria parasites, *Mol. Microbiol.*, **1999**, 33(4), 704-711.
11. D. R. Williams and M. P. Clark, Synthesis of atovaquone, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39(42), 7629-7632.
12. A. T. Hudson, Medicaments for the treatment of toxoplasmosis, *World Pat.*

- Appl.*, WO 9104021, 1989.
13. H. Suzuki, H. Tani, H. Kubota, N. Sato, J. Tsuji and A. Osuka, A mild reduction of benzyl alcohols with diphosphorus tetraiodide, *Chem. Lett.*, **1983**, 12(2), 247-248.
 14. A. T. Hudson and C. L. Yeates, 1,4-Naphthoquinone derivatives with anti-protozoal and anti-parasitic activity, *World Pat. Appl.*, WO 9320044, 1993.
 15. R. C. Fuson and B. A. Bull, The Haloform Reaction, *Chem. Rev.*, **1934**, 15(3), 275-309.
 16. L. F. Fieser, Naphthoquinone antimalarials. III. Diene synthesis of 1,4-naphthoquinones, *J Am. Chem. Soc.*, **1948**, 70(10), 3165-3174.
 17. C. R. Solorio-Alvarado, C. G. Rodríguez-Cendejas and E. Peña-Cabrera, A short total synthesis of parvaquone, *ARKIVOC*, **2003**, xi, 172-178.
 18. J. P. A. Harrity, W. J. Kerr, D. Middlemiss and J. S. Scott, Total synthesis of parvaquone and the serendipitous discovery of a novel chromium-mediated method for β -lactone formation, *J. Organomet. Chem.*, **1997**, 532, 219-227.
 19. E. S. Huyser and B. Amini, Free-radical alkylations of 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone, *J. Org. Chem.*, **1968**, 33(2), 576-579.
 20. B. P. S. Khambay and D. Batty, Pesticidal compounds, *World Pat. Appl.*, WO 9621354, 1996.
 21. L. F. Fieser and F. C. Chang, Alkylation of α -naphthoquinones with esters of tetravalent lead, *J. Am. Chem. Soc.*, **1942**, 64(9), 2043-2052.
 22. J. Thiele and E. Winter, Über die Einwirkung von Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure auf Chinone, *Liebigs Ann.*, **1900**, 311(3), 341-352.
 23. W. E. Fristad, M. A. Fry and J. A. Klang, Persulfate/silver ion decarboxylation of carboxylic acids. Preparation of alkanes, alkenes and alcohols, *J. Org. Chem.*, **1983**, 48(20), 3575-3577.
 24. L. S. Liebeskind, R. W. Fengl, K. R. Wirtz and T. T. Shawe, An improved method for the synthesis of substituted cyclobutendiones, *J. Org. Chem.*, **1988**, 53(11), 2482-2488.
 25. L. D. Foland, J. O. Karlsson, S. T. Perri, R. Schwabe, S. L. Xu, S. Patil and H. W. Moore, Rearrangement of 4-alkynylcyclobutenones. A new synthesis of 1,4-benzoquinones, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111(3), 975-989.
 26. K. H. Dötz, Carbene complexes in organic synthesis, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1984**, 23(8), 587-608.

27. A. T. Hudson and A. W. Randall, Antiprotozoal compounds, *US Pat.*, 4,485,117, 1982.
28. A. Mäntylä, J. Rautio, T. Nevalainen, J. Vepsäläinen, R. Juvonen, H. Kendrick, T. Garnier, S. L. Croft and T. Järvinen, Synthesis and antileishmanial activity of novel buparvaquone oxime derivatives, *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, 12(13), 3497-3502.
29. N. H. Gokhale, S. B. Padhye, S. L. Croft, H. D. Kendrick, W. Davies, C. E. Anson and A. K. Powell, Transition metal complexes of buparvaquone as potent new antimalarial agents: 1. Synthesis, X-ray crystal-structures, electrochemistry and antimalarial activity against *Plasmodium falciparum*, *J. Inorg. Biochem.*, **2003**, 95(4), 249-258.
30. L. F. Fieser, H. Heymann and A. M. Seligman, Naphthoquinone antimalarials: XX. Metabolic degradation, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1948**, 94(2), 112-124.
31. L. F. Fieser, F. C. Chang, W. G. Dauben, C. Heidelberger, H. Heymann and A. M. Seligman, Naphthoquinone antimalarials: XVIII. Metabolic oxidation products, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1948**, 94(2), 85-96.
32. A. T. Hudson, M. Dickins, C. D. Ginger, W. E. Gutteridge, T. Holdich, D. B. Hutchinson, M. Pudney, A. W. Randall and V. S. Latter, 566C80: A potent broad spectrum anti-infective agent with activity against malaria and opportunistic infections in AIDS patients, *Drugs Exp. Clin. Res.*, **1991**, 17(9), 427-435.
33. S. Looareesuwan, J. D. Chulay, C. J. Canfield and D. B. Hutchinson, Malarone[™] (atovaquone and proguanil hydrochloride): a review of its clinical development for treatment of malaria, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **1999**, 60(4), 533-541.
34. W. T. Hughes, V. L. Gray, W. E. Gutteridge, V. S. Latter and M. Pudney, Efficacy of a hydroxynaphthoquinone, 566C80, in experimental *Pneumocystis carinii* Pneumonitis, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1990**, 34(2), 225-228.
35. J. Falloon, J. Kovacs, W. Hughes, D. O'Neill, M. Polis, R. T. Davey, M. Rogers, S. LaFon, I. Feuerstein, D. Lancaster, M. Land, C. Tuazon, M. Dohn, S. Greenberg, H. C. Lane and H. Masur, A preliminary evaluation of 566C80 for the treatment of *Pneumocystis* pneumonia in patients with the acquired immunodeficiency syndrome, *New Engl. J. Med.*, **1991**, 325(22), 1534-1538.
36. F. G. Araujo, J. Huskinson and J. S. Remington, Remarkable in vitro and in vivo activities of the hydroxynaphthoquinone 566C80 against tachyzoites and tissue cysts of *Toxoplasma gondii*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1991**, 35(2), 293-

- 299.
37. C. M. Spencer and K. L. Goa, Atovaquone. A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in opportunistic infections, *Drugs*, **1995**, 50(1), 176-196.
 38. P. J. Krause, T. Lepore, V. K. Sikand, J. Jr. Gadbow, G. Burke, S. R. Telford III, P. Brassard, D. Pearl, J. Azlanzadeh, D. Christianson, D. McGrath and A. Spielman, Atovaquone and azithromycin for the treatment of babesiosis, *New Engl. J. Med.*, **2000**, 343(20), 1454-1458.
 39. N. McHardy, Experimental therapy of theileriosis, *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, **1979**, 50(4), 321-322, PMID:553970.
 40. H. A. Mbwambo, P. A. Mkonyi and R. B. Chua, Field evaluation of parvaquone against naturally occurring East Coast fever, *Vet. Parasitol.*, **1987**, 23(3-4), 161-168.
 41. H. A. Mbwambo, F. F. Sudi, P. A. Mkonyi, J. M. Mfinanga, E. S. Mella and C. J. Ngovi, Comparative studies of the efficacy of parvaquone and parvaquone-plus-frusemide in the treatment of *Theileria parva* infection (East Coast fever) in cattle, *Vet. Parasitol.*, **2002**, 108(3), 195-205.
 42. G. M. Wilkie, C. G. D. Brown, E. Kirvar, M. Thomas, S. M. Williamson, L. J. Bell-Sakyi and O. Sparagano, Chemoprophylaxis of *Theileria annulata* and *Theileria parva* infections of calves with buparvaquone, *Vet. Parasitol.*, **1998**, 78(1), 1-12.
 43. R. Hashemi-Fesharki, Chemotherapeutic value of parvaquone and buparvaquone against *Theileria annulata* infection of cattle, *Res. Vet. Sci.*, **1991**, 50(2), 204-207, PMID: 2034901.
 44. A. L. Baggish and D. R. Hill, Antiparasitic agent atovaquone, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2002**, 46(5), 1163-1173.
 45. M. W. Mather, E. Darrouzet, M. Valkova-Valchanova, J. W. Cooley, M. T. McIntosh, F. Daldal and A. B. Vaidya, Uncovering the molecular mode of action of the antimalarial drug atovaquone using a bacterial system, *J. Biol. Chem.*, **2005**, 280(29), 27458-27465.
 46. I. L. Sun, E. E. Sun, F. L. Crane, D. J. Morre, A. Lindgren and H. Low, Requirement for coenzyme Q in plasma membrane electron transport, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **1992**, 89(23), 11126-11130.
 47. B. L. Trumpower and R. B. Gennis, Energy transduction by cytochrome

- complexes in mitochondrial and bacterial respiration: the enzymology of coupling electron transfer reactions to transmembrane proton translocation, *Annu. Rev. Biochem.*, **1994**, 63(1), 675-716.
48. C. Hunte, J. Koepke, C. Lange, T. Rossmann and H. Michel, Structure at 2.3 Å resolution of the cytochrome *bc*₁ complex from the yeast *Saccharomyces cerevisiae* co-crystallized with an antibody Fv fragment, *Structure*, **2000**, 8, 669-684.
49. M. Fry and M. Pudney, Site of action of the antimalarial hydroxynaphthoquinone, 2-[trans-4-(4'-chlorophenyl) cyclohexyl]-3-hydroxy-1,4-naphthoquinone (566C80), *Biochem. Pharmacol.*, **1992**, 43(7), 1545-1553.
50. J. G. Montoya and O. Liesenfeld, Toxoplasmosis, *Lancet*, **2004**, 363(9425), 1965-1976.
51. P. E. Rolan, A. J. Mercer, B. C. Weatherley, T. Holdich, H. Meire, R. W. Peck, G. Ridout and J. Posner, Examination of some factors responsible for a food-induced increase in absorption of atovaquone, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **1994**, 37(1), 13-20.
52. P. E. Rolan, A. J. Mercer, E. Tate, I. Benjamin and J. Posner, Disposition of atovaquone in humans, *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **1997**, 41(6), 1319-1321.
53. L. Goodyear, Malaria, *Pharm. J.*, **2000**, 264, 405-410.
54. J. G. Breman, The ears of the hippopotamus: manifestations, determinants, and estimates of the malaria burden, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **2001**, 64, (1,2), 1-11.
55. A. Sturm, R. Amino, C. van de Sand, T. Regen, S. Retzlaff, A. Rennenberg, A. Krueger, J. M. Pollok, R. Menard and V. T. Heussler, Manipulation of host hepatocytes by the malaria parasite for delivery into liver sinusoids, *Science*, **2006**, 313(5791), 1287-1290.
56. M. Korsinczky, N. Chen, B. Kotecka, A. Saul, K. Rieckmann and Q. Cheng, Mutations in *Plasmodium falciparum* cytochrome *b* that are associated with atovaquone resistance are located at a putative drug-binding site, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2000**, 44(8), 2100-2108.
57. M. Pudney, W. Gutteridge, A. Zeman, M. Dickins and J. L. Woolley, Atovaquone and proguanil hydrochloride: a review of nonclinical studies, *J. Travel Med.*, **1999**, 6, 8-12.
58. J. R. Stringer, C. B. Beard, R. F. Miller and A. E. Wakefield, A new name (*Pneumocystis jiroveci*) for *Pneumocystis* from humans, *Emerg. Infect. Dis.*,

- 2002**, 8(9), 891-896.
59. J. Phair, A. Munoz, R. Detels, R. Kaslow, C. Rinaldo and A. Saah, The risk of *Pneumocystis carinii* pneumonia among men infected with human immunodeficiency virus type 1, *New Engl. J. Med.*, **1990**, 322(3), 161-165.
 60. S. J. Levine, *Pneumocystis carinii*, *Clin. Chest. Med.*, **1996**, 17(4), 665-695.
 61. D. M. Rosenberg, W. McCarthy, J. Slavinsky, C. K. Chan, J. Montaner, J. Braun, M. N. Dohn and P. T. Caldwell, Atovaquone Suspension for treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia in HIV-infected patients, *AIDS*, **2001**, 15(2), 211-214.
 62. W. M. El-Sadr, R. L. Murphy, T. M. Yurik, R. Luskin-Hawk, T. W. Cheung, H. H. Jr. Balfour, R. Eng, T. M. Hooton, T. M. Kerkering, M. Schutz, C. van der Horst and R. Hafner, Atovaquone compared with dapsone for the prevention of *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with HIV infection who cannot tolerate trimethoprim, sulfonamides, or both, *New Engl. J. Med.*, **1998**, 339(26), 1889-1895.
 63. M. Homer, J. I. Aguilar-Delfin, S. R. Telford III, P. J. Krause and D. H. Persing, Babesiosis, *Clin. Microbiol. Rev.*, **2000**, 13(3), 451-469.
 64. H. Mehlhorn, *Encyclopedic Reference of Parasitology*, 2nd ed., Springer-Verlag, Heidelberg, Saksa, 2001, pp. 186-189.
 65. G. K. Mbassa, M. J. Kipanyula, L. S. B. Mellau, E. D. Mwamakali, F. R. Bulegeya and K. Kauto-Mboni, *Theileria parva* infection in calves causes massive lymphocyte death in the thymus, spleen and lymph nodes without initial proliferation, *Vet. Parasitol.*, **2006**, 142(3-4), 260-270.
 66. G. R. Muraguri, H. K. Kiara and N. McHardy, Treatment of East Coast fever: a comparison of parvaquone and buparvaquone, *Vet. Parasitol.*, **1999**, 87(1), 25-37.
 67. D. A. E. Dobbelaere and S. Rottenberg, *Theileria*-induced leukocyte transformation, *Curr. Opin. Microbiol.*, **2003**, 6(4), 377-382.
 68. M. D. Ball, M. S. Bartlett, M. Shaw, J. W. Smith, M. Nasr and S. R. Meshnick, Activities and conformational fitting of 1,4-naphthoquinone derivatives and other cyclic 1,4-diones tested in vitro against *Pneumocystis carinii*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2001**, 45(5), 1473-1479.
 69. P. M. Robinson, *Theileriosis annulata* and its transmission - a review, *Trop. Anim. Health Prod.*, **1982**, 14(1), 3-12.

70. E. Kolehmainen, J. Tamminen, K. Lappalainen, T. Torkkel and R. Seppälä, Substituted methyl 5 β -cholan-24-oates; part III; synthesis of a novel cholaphane from ethylene glycol diester of lithocholic acid by cyclization with terephthalic acid, *Synthesis*, **1996**, 9, 1082-1084.
71. M.A. Khalil and N.S. Habib, Synthesis of novel naphtho[2,1-b]-1,4,5-oxa- or thiadiazepines as potential antimicrobial and anticancer agents, *Arch. Pharm.*, **1990**, 323(8), 471-374.
72. E. Torres, C.A. Panetta, N.E. Heimer, B.J. Clark and C.L. Hussey, Synthesis and properties of 6-(hydroxymethyl)-9,9,10,10-tetracyanonaphthoquinodimethane, *J. Org. Chem.*, **1991**, 56, 3737-3739.
73. I. Antonini, T.-S. Lin, L.A. Cosby, Y.-R. Dai and A.C. Sartorelli, 2- and 6-Methyl-1,4-naphthoquinone derivatives as potential bioreductive alkylating agents, *J. Med. Chem.*, **1982**, 25, 730-735.

LIITTEET

- Liite 1. ^1H NMR 250 MHz (CDCl_3), $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -triasetoksikoolihappokloridi (**4**)
- Liite 2. ^1H NMR 250 MHz (CDCl_3), 2-hydroksi-3-sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (**16**)
- Liite 3. ^{13}C NMR 126 MHz (CDCl_3), 2-hydroksi-3-sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (**16**)
- Liite 4. ^1H NMR 250 MHz (CDCl_3), 2-(3-sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etyyliasetatti (**17**)
- Liite 5. ^{13}C NMR 126 MHz (CDCl_3), 2-(3-sykloheksyyli-1,4-diokso-1,4-dihydronaft-2-yylioksi)-etyyliasetatti (**17**)
- Liite 6. ^1H NMR 250 MHz (CDCl_3), 2-sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (**25**)
- Liite 7. ESI-TOF MS, 2-sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (**25**)
- Liite 8. ^1H NMR 250 MHz (CDCl_3), 3-bromi-2-sykloheksyyli-1,4-naftokinoni (**26**)
- Liite 9. ^1H NMR 250 MHz (CDCl_3), 6-metyyli-1,4-naftokinoni (**31**)
- Liite 10. ^1H NMR 250 MHz (CDCl_3), 2- ja 3-sykloheksyyli-6-metyyli-1,4-naftokinoni (**35**) ja (**34**)
- Liite 11. Malarone® prescribing information, http://us.gsk.com/products/assets/us_malarone.pdf, GlaxoSmithKline (29.1.2008).
- Liite 12. Mepron® prescribing information, http://us.gsk.com/products/assets/us_mepron.pdf, GlaxoSmithKline (29.1.2008).

- Liite 13 Fruvexon,
http://exp.bimeda.net/shopping_admin/product_details/product.cgi?product=81a, Bimeda Export Ltd (29.1.2008).
- Liite 14 Parvexon,
http://exp.bimeda.net/shopping_admin/product_details/product.cgi?product=82a, Bimeda Export Ltd (29.1.2008).
- Liite 15 Butalex,
http://www.poulvvet.com/vetproducts/medicine_detail.php?mediid=245
(29.1.2008).

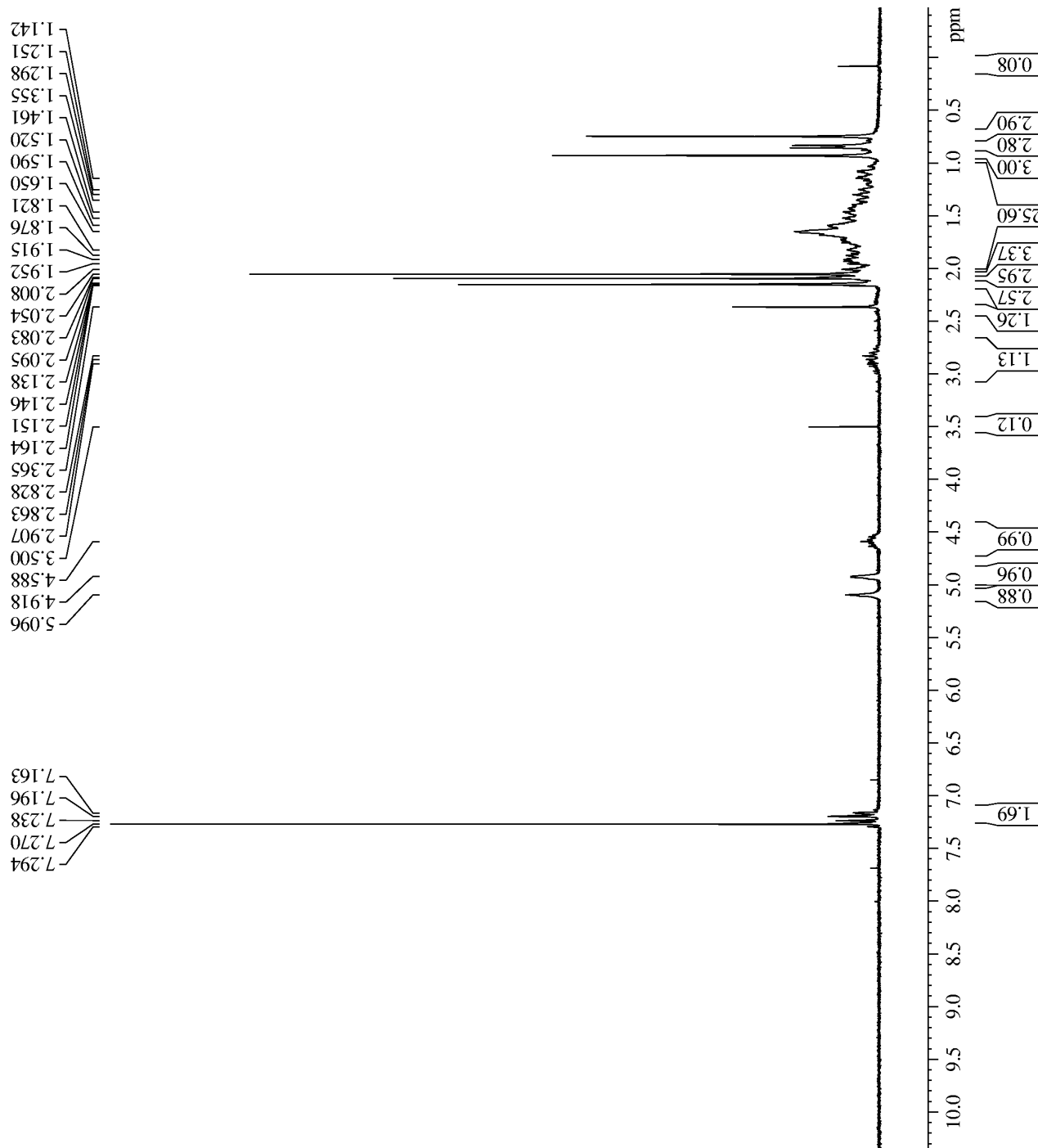
TBR-001
 in CDCl3 at 30 C
 1H NMR at 250 MHz
 8.8.2006 Timo Pohja

Current Data Parameters
 NAME TBR-001
 EXPNO 1
 PROCNO 1

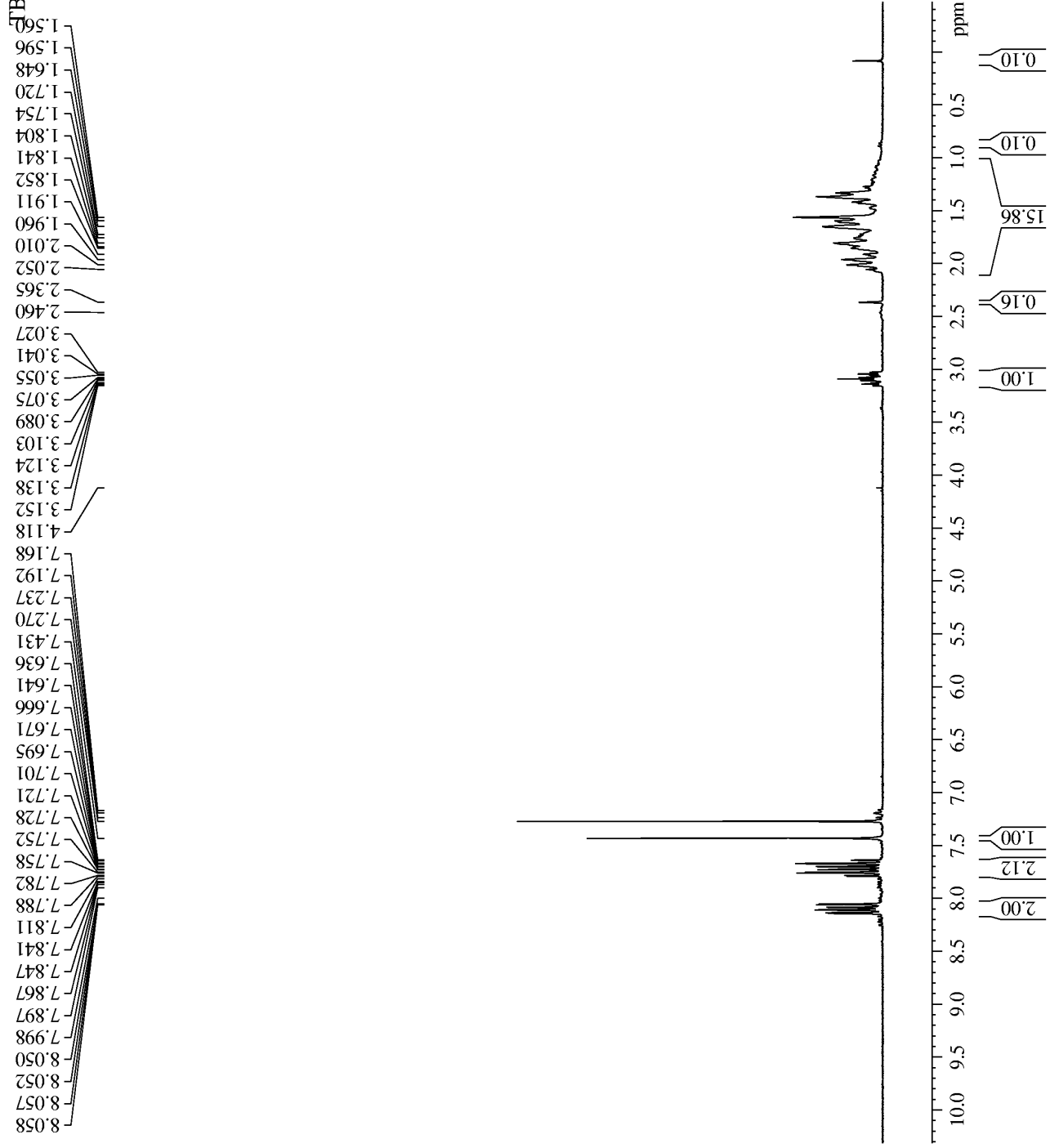
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20060808
 Time 10.18
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Multinucl
 PULPROG zg30
 TD 32768
 SOLVENT CDCl3
 NS 8
 DS 0
 SWH 3742.515 Hz
 FIDRES 0.114212 Hz
 AQ 4.3778548 sec
 RG 812.7
 DW 133.600 usec
 DE 6.00 usec
 TE 303.2 K
 D1 1.00000000 sec
 MCREST 0.00000000 sec
 MCWRK 0.01500000 sec

==== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 4.50 usec
 PL1 -6.00 dB
 SFO1 250.1317509 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 250.1299985 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.10 Hz
 GB 0
 PC 4.00



TBR-015(7) Puhdistettu parvaquone
 in CDCl3 at 30 C
 1H NMR at 250 MHz
 6.10.2006 Timo Pohja



Current Data Parameters
 NAME TBR-015
 EXPNO 7
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20061006
 Time 9.34
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Multinucl
 PULPROG zg30
 TD 32768
 SOLVENT CDCl3
 NS 8
 DS 0
 SWH 3742.515 Hz
 FIDRES 0.114212 Hz
 AQ 4.3778548 sec
 RG 645.1
 DW 133.600 usec
 DE 6.00 usec
 TE 303.2 K
 D1 1.00000000 sec
 MCREST 0.00000000 sec
 MCWRK 0.01500000 sec

==== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 5.20 usec
 PL1 -6.00 dB
 SFO1 250.1317509 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 250.1299985 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.10 Hz
 GB 0
 PC 3.00

TBR-009(12) in CDC13 at 30 C
 13C NMR at 126 MHz with BBO
 19.09.2006 Timo Pohja

```

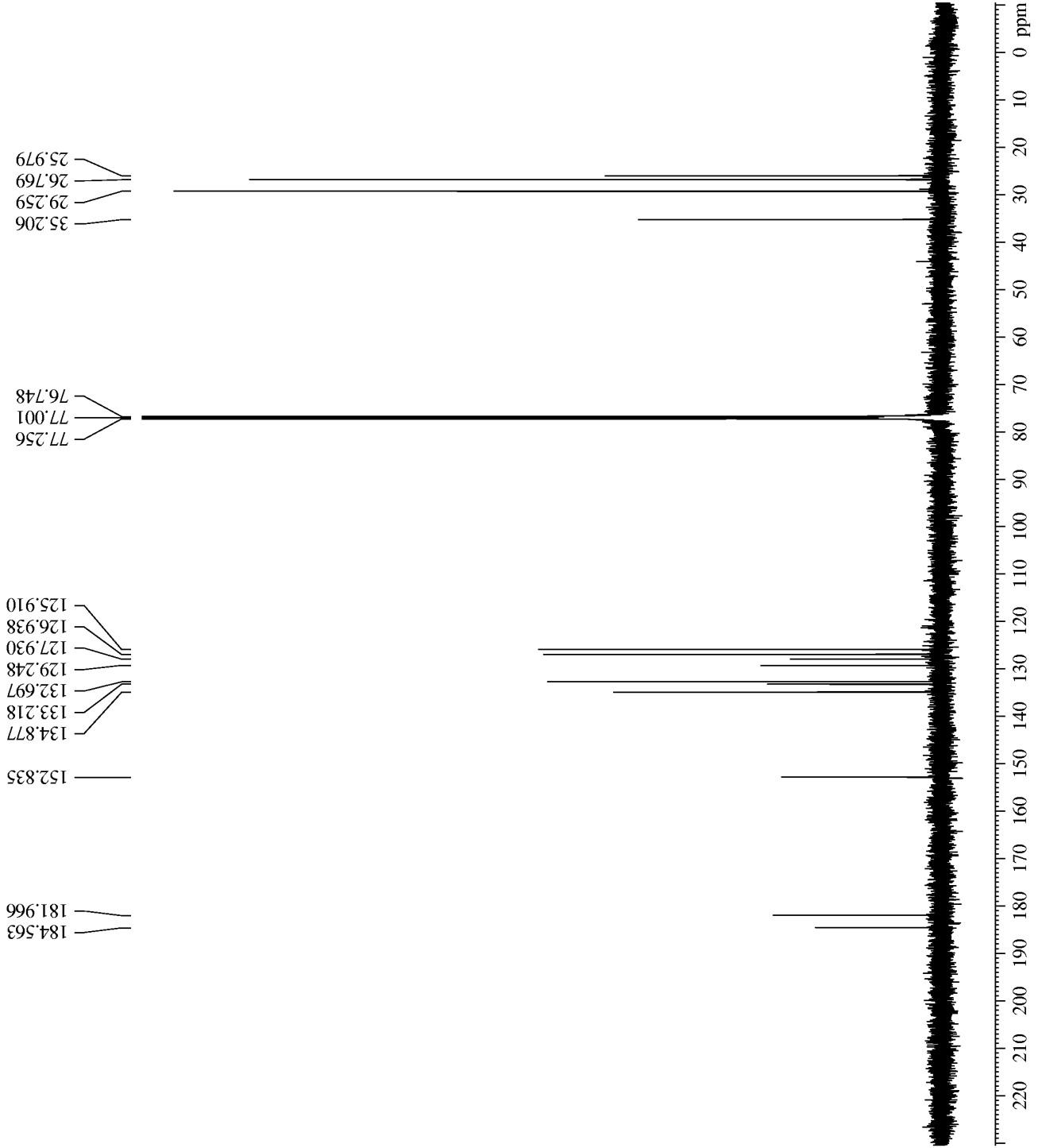
Current Data Parameters
NAME      TBR-009-12
EXPNO    100
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20060919
Time     8.40
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm Multinucl
PULPROG  zgpg30
TD       65536
SOLVENT  CDC13
NS       1030
DS       0
SWH      30303.031 Hz
FIDRES   0.462388 Hz
AQ       1.0813940 sec
RG       5160.6
DW       16.500 usec
DE       6.00 usec
TE       303.2 K
D1       2.00000000 sec
d11      0.03000000 sec
DELTA    1.89999998 sec
MCREST   0.00000000 sec
MCWRK    0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====
NUC1     13C
P1       10.50 usec
PL1      -5.00 dB
SFO1     125.7716224 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2  waltz16
NUC2     1H
PCPD2    100.00 usec
PL2      -6.00 dB
PL12     15.41 dB
PL13     120.00 dB
SFO2     500.1320005 MHz

F2 - Processing parameters
SI       32768
SF       125.7577886 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       1.00 Hz
GB       0
PC       1.00
    
```



TBR-010
 in CDCl3 at 30 C
 1H NMR at 250 MHz
 14.9.2006 Timo Pohja

Current Data Parameters
 NAME TBR-010
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date_ 20060914
 Time 9.26
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Multinucl
 PULPROG zg30
 TD 32768
 SOLVENT CDCl3
 NS 8
 DS 0
 SWH 3742.515 Hz
 FIDRES 0.114212 Hz
 AQ 4.3778548 sec
 RG 912.3
 DW 133.600 usec
 DE 6.00 usec
 TE 303.2 K
 D1 1.00000000 sec
 MCREST 0.00000000 sec
 MCWRK 0.01500000 sec

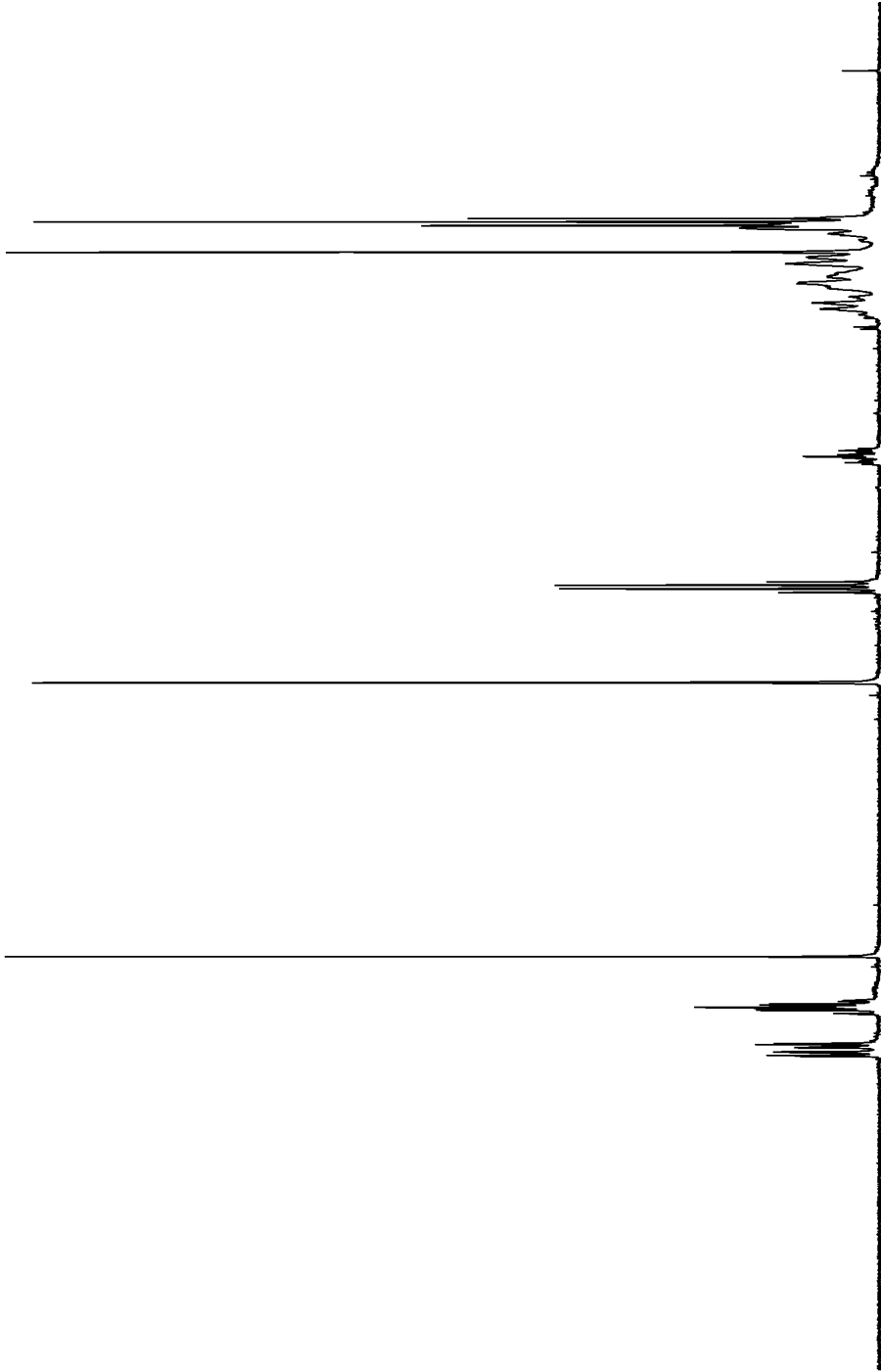
==== CHANNEL f1 =====

NUC1 1H
 P1 4.50 usec
 PL1 -6.00 dB
 SFO1 250.1317509 MHz

F2 - Processing parameters

SI 32768
 SF 250.1299986 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.10 Hz
 GB 0
 PC 2.00

7.983
7.975
7.973
7.952
7.889
7.737
7.729
7.707
7.700
7.689
7.679
7.670
7.659
7.653
7.630
7.623
7.539
7.350
7.270
6.849
5.149
5.046
4.529
4.467
4.355
4.313
4.285
4.256
4.228
3.987
3.272
3.259
3.245
3.224
3.210
3.197
3.175
3.162
3.148
2.859
2.333
2.177
2.161
2.088
2.061
2.011
1.963
1.914
1.807
1.748



0.07
4.37
2.34
2.35
7.59
0.90
1.94
1.79
2.00
1.82

TBR-010 in CDCl3 at 30 C
 13C NMR at 126 MHz with BBO
 19.09.2006 Timo Pohja

```

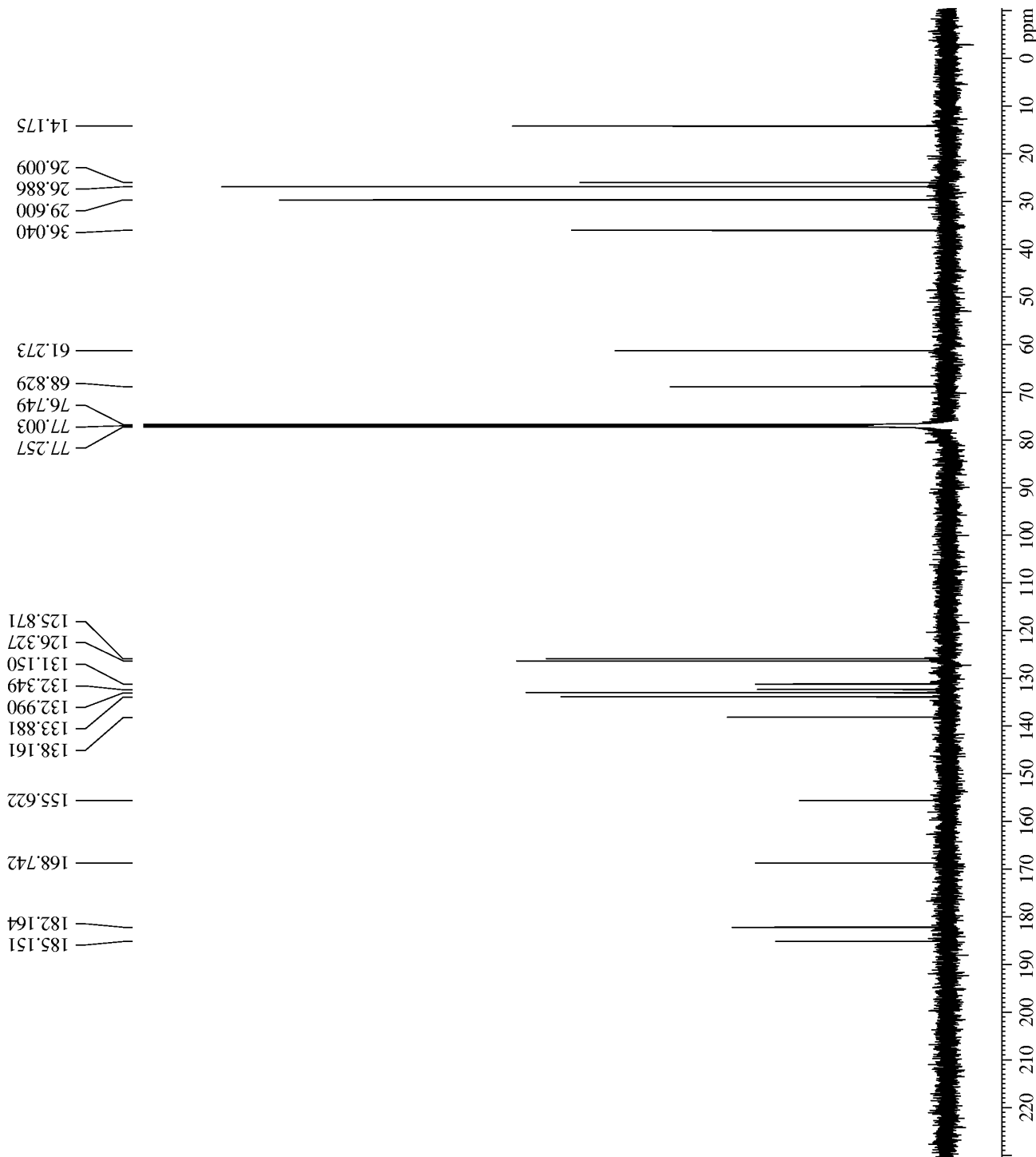
Current Data Parameters
NAME      TBR-010
EXPNO    100
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20060919
Time     10.09
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm Multinucl
PULPROG  zgpg30
TD       65536
SOLVENT  CDCl3
NS       2120
DS       0
SWH      30303.031 Hz
FIDRES   0.462388 Hz
AQ       1.0813940 sec
RG       3072
DW       16.500 usec
DE       6.00 usec
TE       303.2 K
D1       2.00000000 sec
d11      0.03000000 sec
DELTA    1.89999998 sec
MCREST   0.00000000 sec
MCWRK    0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====
NUC1     13C
P1       10.50 usec
PL1      -5.00 dB
SFO1     125.7716224 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2  waltz16
NUC2     1H
PCPD2    100.00 usec
PL2      -6.00 dB
PL12     15.41 dB
PL13     120.00 dB
SFO2     500.1320005 MHz

F2 - Processing parameters
SI       32768
SF       125.7577886 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       1.00 Hz
GB       0
PC       1.00
    
```



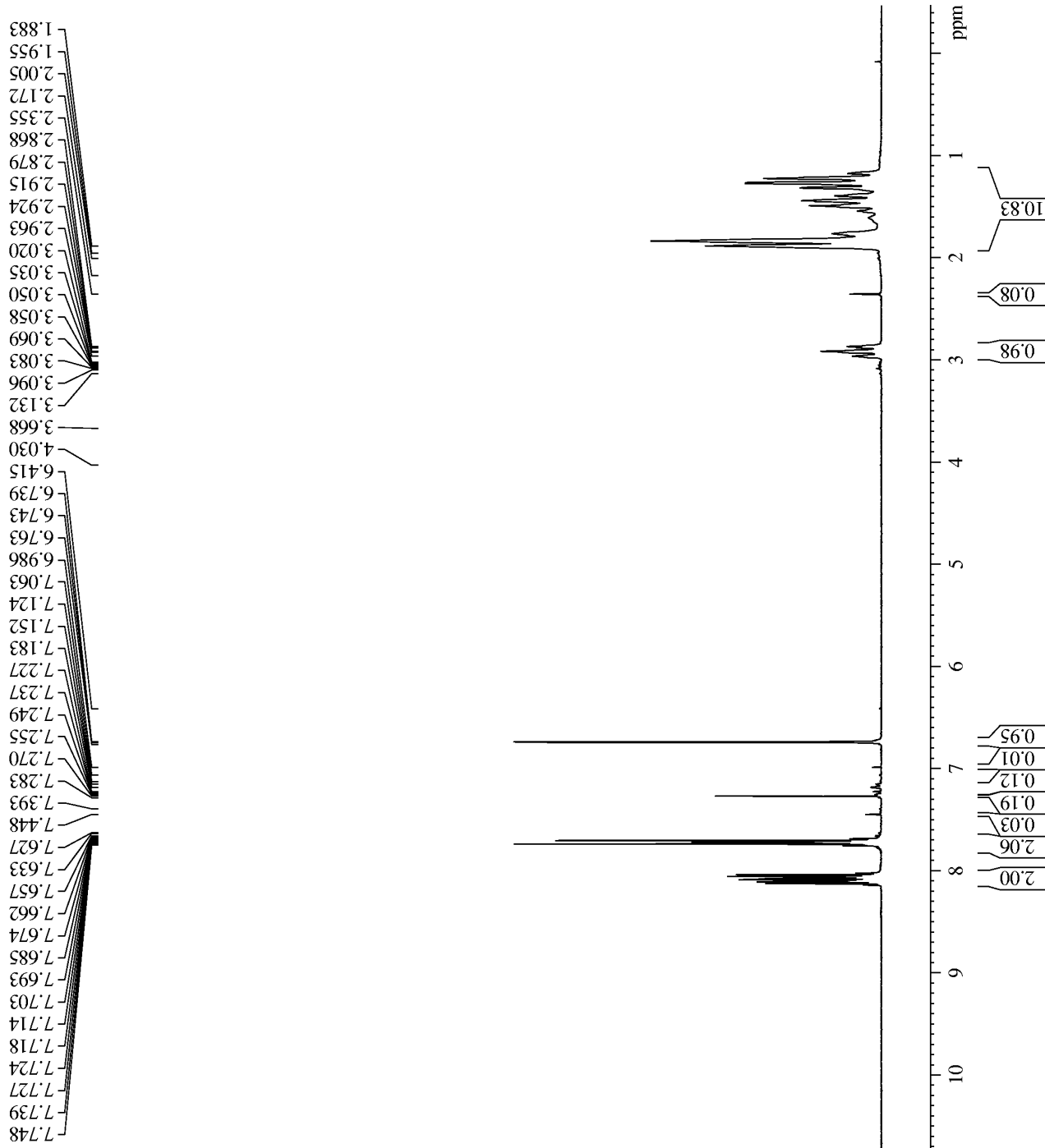
TBR-020(4) loppupuote
in CDCl3 at 30 C
1H NMR at 250 MHz
13.11.2006 Timo Pohja

Current Data Parameters
NAME TBR-020
EXPNO 4
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20061113
Time 10:07
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Multinucl
PULPROG zg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 8
DS 0
SWH 3742.515 Hz
FIDRES 0.114212 Hz
AQ 4.3778548 sec
RG 256
DW 133.600 usec
DE 6.00 usec
TE 303.2 K
D1 1.00000000 sec
MCREST 0.00000000 sec
MCWRK 0.01500000 sec

==== CHANNEL f1 =====
NUC1 1H
P1 5.20 usec
PL1 -6.00 dB
SFO1 250.1317509 MHz

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 250.1299981 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.10 Hz
GB 0
PC 2.00



File:TBR-020 Ident:487 489-478 480 Int Def 0.25 Acq:16-NOV-2006 12:09:11 +18:05 Cal:ML1000_1
 AutoSpec EI+ Magnet BpM:172 Bpl:976141 TIC:9085225 Flags:HALL
 File Text:TBR-020



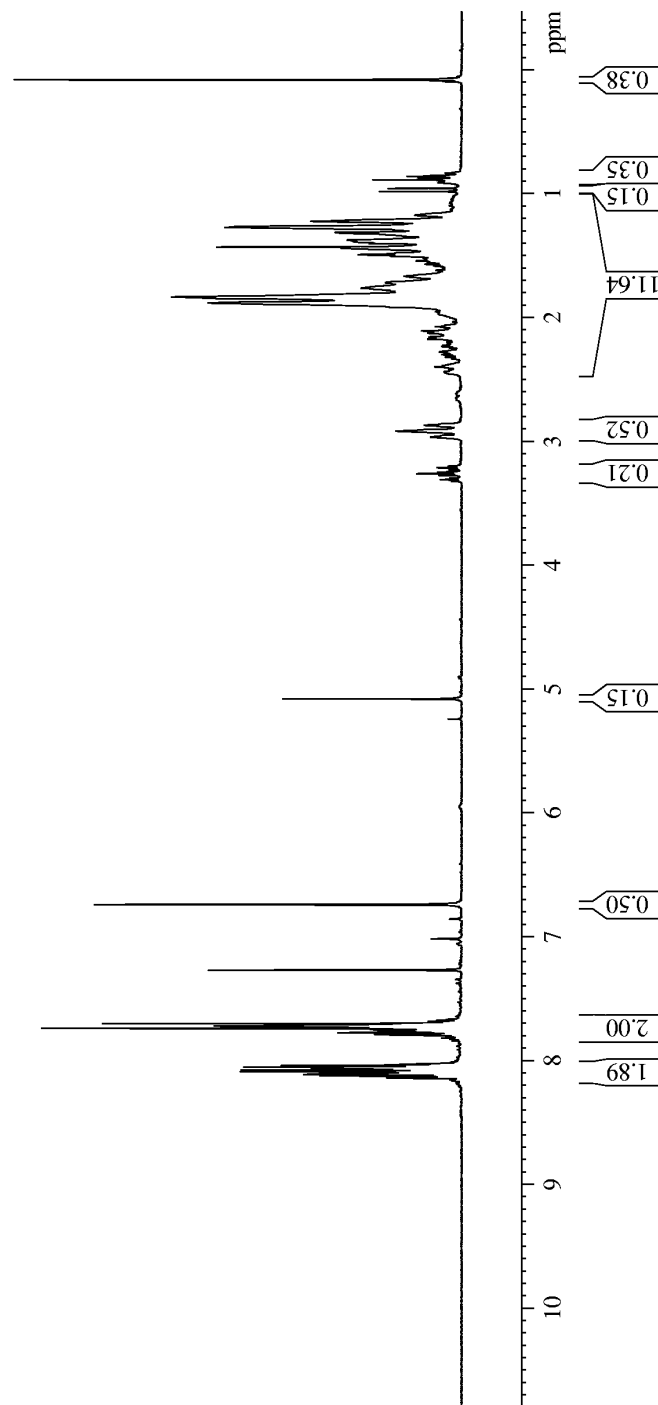
TBR-022 kuiv. raakatuote
in CDCl3 at 30 C
1H NMR at 250 MHz
15.11.2006 Timo Pohja

Current Data Parameters
NAME TBR-022
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20061115
Time 14.37
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Multinucl
PULPROG zg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 8
DS 0
SWH 3742.515 Hz
FIDRES 0.114212 Hz
AQ 4.3778548 sec
RG 203.2
DW 133.600 usec
DE 6.00 usec
TE 303.2 K
D1 1.00000000 sec
MCREST 0.00000000 sec
MCWRK 0.01500000 sec

==== CHANNEL f1 =====
NUC1 1H
P1 5.20 usec
PL1 -6.00 dB
SFO1 250.1317509 MHz
F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 250.1299981 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.10 Hz
GB 0
PC 4.00

8.185
8.157
8.141
8.135
8.124
8.111
8.105
8.100
8.088
8.077
8.067
8.064
8.062
8.055
8.040
8.028
8.015



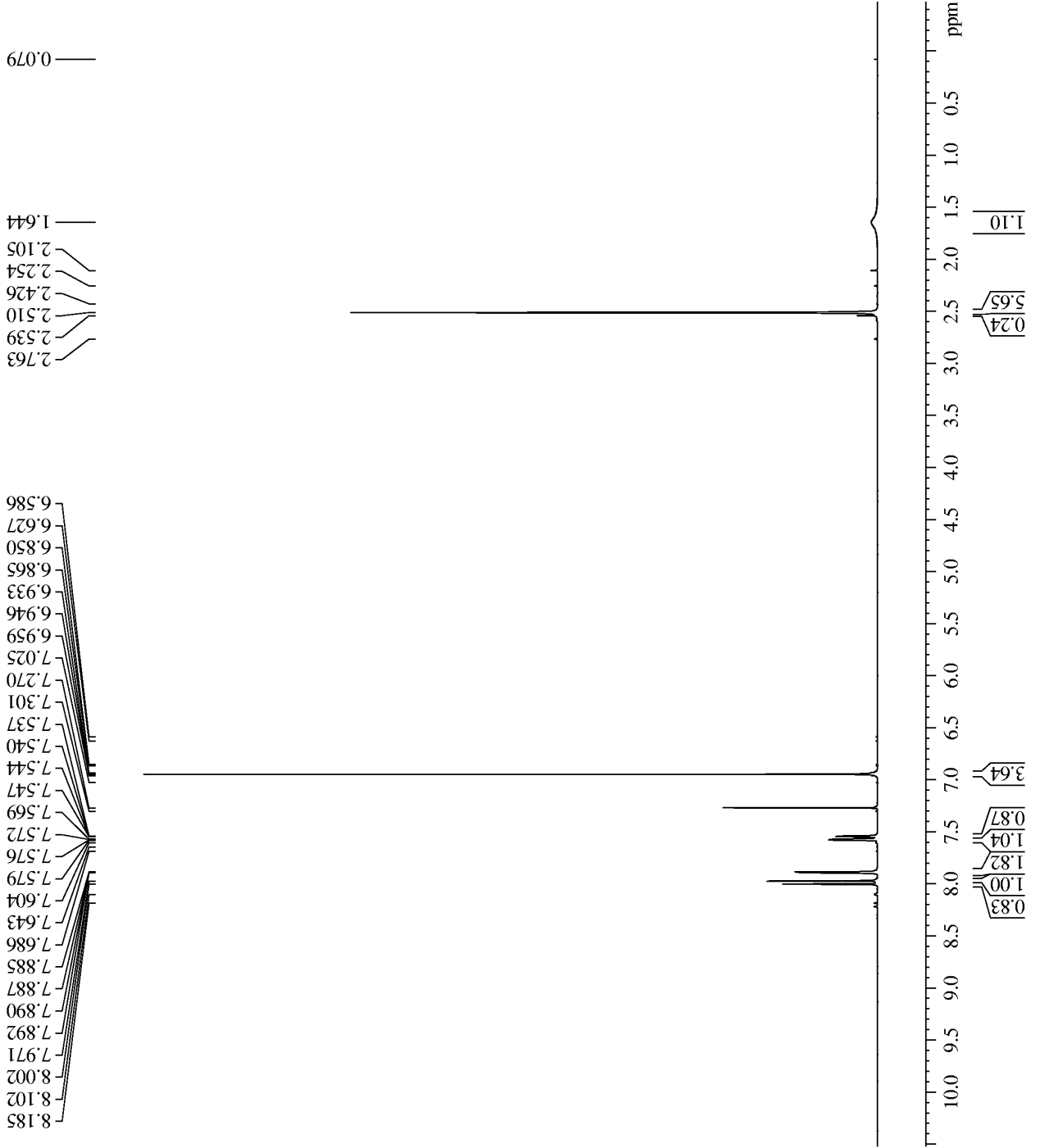
TBR-021(2) kuiv. tuote
in CDCl3 at 30 C
1H NMR at 250 MHz
15.11.2006 Timo Pohja

Current Data Parameters
NAME TBR-021
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20061115
Time 14.29
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Multinucl
PULPROG zg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 8
DS 0
SWH 3742.515 Hz
FIDRES 0.114212 Hz
AQ 4.3778548 sec
RG 724.1
DW 133.600 usec
DE 6.00 usec
TE 303.2 K
D1 1.00000000 sec
MCREST 0.00000000 sec
MCWRK 0.01500000 sec

==== CHANNEL f1 =====
NUC1 1H
P1 5.20 usec
PL1 -6.00 dB
SFO1 250.1317509 MHz

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 250.1299981 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.10 Hz
GB 0
PC 2.00



TBR-027(2) F3-16
 in CDCl3 at 30 C
 1H NMR at 250 MHz
 1.12.2006 Timo Pohja

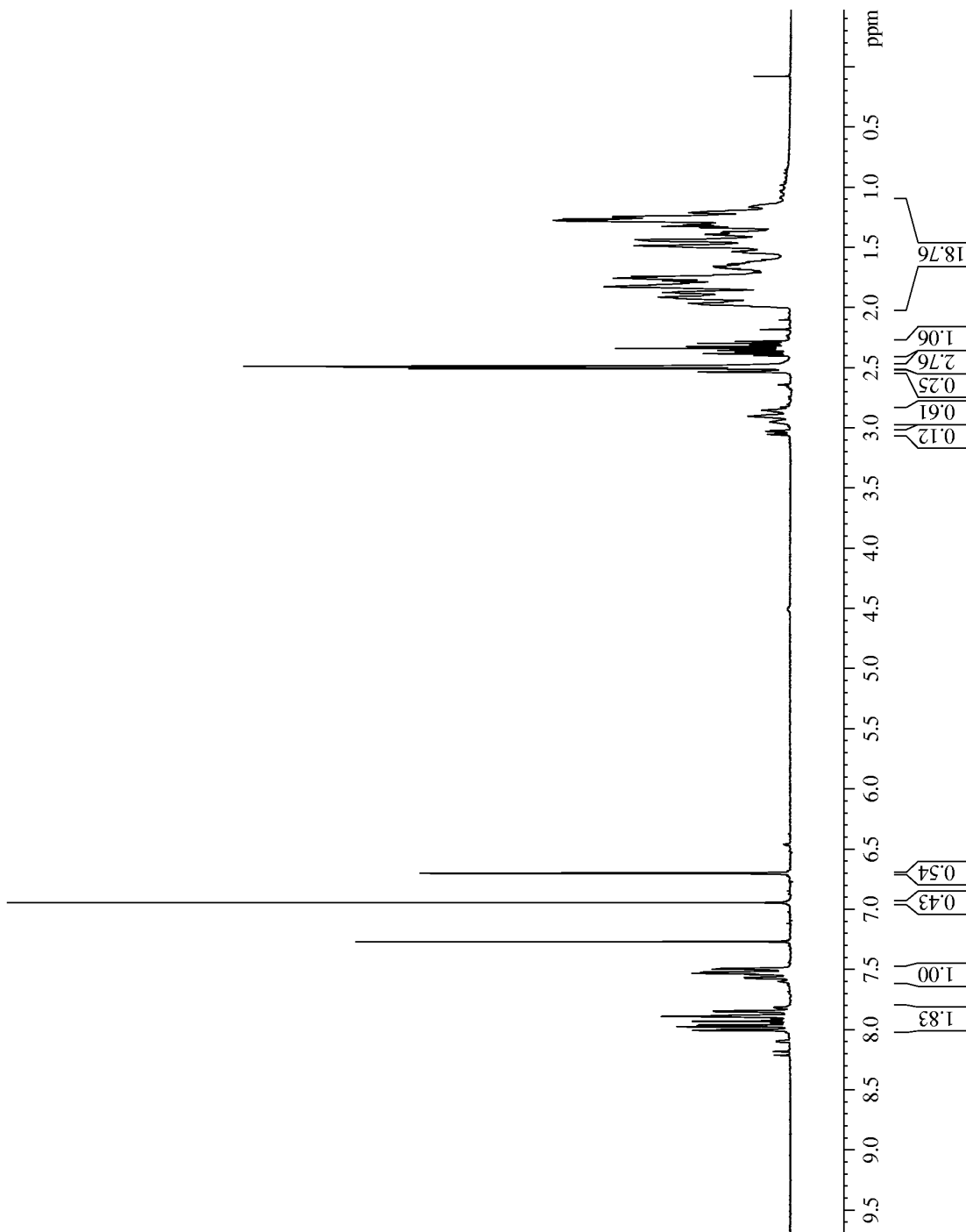
Current Data Parameters
 NAME TBR-027
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20061201
 Time 13.24
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Multinucl
 PULPROG zg30
 TD 32768
 SOLVENT DMSO
 NS 8
 DS 0
 SWH 3742.515 Hz
 FIDRES 0.114212 Hz
 AQ 4.3778548 sec
 RG 228.1
 DW 133.600 usec
 DE 6.00 usec
 TE 303.2 K
 D1 1.00000000 sec
 MCREST 0.00000000 sec
 MCWRK 0.01500000 sec

==== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 5.20 usec
 PL1 -6.00 dB
 SFO1 250.1317509 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 250.1299983 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.10 Hz
 GB 0
 PC 4.00

7.882
7.879
7.855
7.853
7.850
7.848
7.845
7.843
7.816
7.600
7.575
7.572
7.568
7.565
7.543
7.540
7.536
7.533
7.530
7.527
7.525
7.522
7.520
7.511
7.501
7.498
7.495
7.494
7.491
7.488

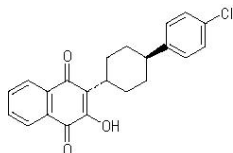


PRESCRIBING INFORMATION

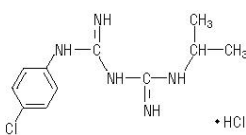
MALARONE®
(atovaquone and proguanil hydrochloride)
Tablets
MALARONE®
(atovaquone and proguanil hydrochloride)
Pediatric Tablets

DESCRIPTION

MALARONE (atovaquone and proguanil hydrochloride) is a fixed-dose combination of the antimalarial agents atovaquone and proguanil hydrochloride. The chemical name of atovaquone is trans-2-[4-(4-chlorophenyl)cyclohexyl]-3-hydroxy-1,4-naphthalenedione. Atovaquone is a yellow crystalline solid that is practically insoluble in water. It has a molecular weight of 366.84 and the molecular formula C₂₂H₁₉ClO₃. The compound has the following structural formula:



The chemical name of proguanil hydrochloride is 1-(4-chlorophenyl)-5-isopropyl-biguanide hydrochloride. Proguanil hydrochloride is a white crystalline solid that is sparingly soluble in water. It has a molecular weight of 290.22 and the molecular formula C₁₁H₁₆ClN₅•HCl. The compound has the following structural formula:



MALARONE Tablets and MALARONE Pediatric Tablets are for oral administration. Each MALARONE Tablet contains 250 mg of atovaquone and 100 mg of proguanil hydrochloride and each MALARONE Pediatric Tablet contains 62.5 mg of atovaquone and 25 mg of proguanil

hydrochloride. The inactive ingredients in both tablets are low-substituted hydroxypropyl cellulose, magnesium stearate, microcrystalline cellulose, poloxamer 188, povidone K30, and sodium starch glycolate. The tablet coating contains hypromellose, polyethylene glycol 400, polyethylene glycol 8000, red iron oxide, and titanium dioxide.

CLINICAL PHARMACOLOGY

Microbiology: Mechanism of Action: The constituents of MALARONE, atovaquone and proguanil hydrochloride, interfere with 2 different pathways involved in the biosynthesis of pyrimidines required for nucleic acid replication. Atovaquone is a selective inhibitor of parasite mitochondrial electron transport. Proguanil hydrochloride primarily exerts its effect by means of the metabolite cycloguanil, a dihydrofolate reductase inhibitor. Inhibition of dihydrofolate reductase in the malaria parasite disrupts deoxythymidylate synthesis.

Activity In Vitro and In Vivo: Atovaquone and cycloguanil (an active metabolite of proguanil) are active against the erythrocytic and exoerythrocytic stages of Plasmodium spp. Enhanced efficacy of the combination compared to either atovaquone or proguanil hydrochloride alone was demonstrated in clinical studies in both immune and non-immune patients (see CLINICAL STUDIES).

Drug Resistance: Strains of P. falciparum with decreased susceptibility to atovaquone or proguanil/cycloguanil alone can be selected in vitro or in vivo. The combination of atovaquone and proguanil hydrochloride may not be effective for treatment of recrudescing malaria that develops after prior therapy with the combination.

Pharmacokinetics: Absorption: Atovaquone is a highly lipophilic compound with low aqueous solubility. The bioavailability of atovaquone shows considerable inter-individual variability.

Dietary fat taken with atovaquone increases the rate and extent of absorption, increasing AUC 2 to 3 times and C_{max} 5 times over fasting. The absolute bioavailability of the tablet formulation of atovaquone when taken with food is 23%. MALARONE Tablets should be taken with food or a milky drink.

Proguanil hydrochloride is extensively absorbed regardless of food intake.

Distribution: Atovaquone is highly protein bound (>99%) over the concentration range of 1 to 90 mcg/mL. A population pharmacokinetic analysis demonstrated that the apparent volume of distribution of atovaquone (V/F) in adult and pediatric patients after oral administration is approximately 8.8 L/kg.

Proguanil is 75% protein bound. A population pharmacokinetic analysis demonstrated that the apparent V/F of proguanil in adult and pediatric patients >15 years of age with body weights from 31 to 110 kg ranged from 1,617 to 2,502 L. In pediatric patients ≤15 years of age with body weights from 11 to 56 kg, the V/F of proguanil ranged from 462 to 966 L.

In human plasma, the binding of atovaquone and proguanil was unaffected by the presence of the other.

Metabolism: In a study where ¹⁴C-labeled atovaquone was administered to healthy volunteers, greater than 94% of the dose was recovered as unchanged atovaquone in the feces over 21 days. There was little or no excretion of atovaquone in the urine (less than 0.6%). There is indirect evidence that atovaquone may undergo limited metabolism; however, a specific metabolite has not been identified. Between 40% to 60% of proguanil is excreted by the kidneys. Proguanil is metabolized to cycloguanil (primarily via CYP2C19) and 4-chlorophenylbiguanide. The main routes of elimination are hepatic biotransformation and renal excretion.

Elimination: The elimination half-life of atovaquone is about 2 to 3 days in adult patients.

The elimination half-life of proguanil is 12 to 21 hours in both adult patients and pediatric patients, but may be longer in individuals who are slow metabolizers.

A population pharmacokinetic analysis in adult and pediatric patients showed that the apparent clearance (CL/F) of both atovaquone and proguanil are related to the body weight. The values CL/F for both atovaquone and proguanil in subjects with body weight ≥11 kg are shown in Table 1.

Table 1. Apparent Clearance for Atovaquone and Proguanil in Patients as a Function of Body Weight

Body Weight	Atovaquone		Proguanil	
	N	CL/F (L/hr) Mean ± SD* (range)	N	CL/F (L/hr) Mean ± SD* (range)
11-20 kg	159	1.34 ± 0.63 (0.52-4.26)	146	29.5 ± 6.5 (10.3-48.3)
21-30 kg	117	1.87 ± 0.81 (0.52-5.38)	113	40.0 ± 7.5 (15.9-62.7)
31-40 kg	95	2.76 ± 2.07 (0.97-12.5)	91	49.5 ± 8.30 (25.8-71.5)
>40 kg	368	6.61 ± 3.92 (1.32-20.3)	282	67.9 ± 19.9 (14.0-145)

*SD = standard deviation.

The pharmacokinetics of atovaquone and proguanil in patients with body weight below 11 kg have not been adequately characterized.

Special Populations: Pediatrics: The pharmacokinetics of proguanil and cycloguanil are similar in adult patients and pediatric patients. However, the elimination half-life of atovaquone is shorter in pediatric patients (1 to 2 days) than in adult patients (2 to 3 days). In clinical trials, plasma trough levels of atovaquone and proguanil in pediatric patients weighing 5 to 40 kg were within the range observed in adults after dosing by body weight.

Geriatrics: In a single-dose study, the pharmacokinetics of atovaquone, proguanil, and cycloguanil were compared in 13 elderly subjects (age 65 to 79 years) to 13 younger subjects (age 30 to 45 years). In the elderly subjects, the extent of systemic exposure (AUC) of

cycloguanil was increased (point estimate = 2.36, CI = 1.70, 3.28). T_{max} was longer in elderly subjects (median 8 hours) compared with younger subjects (median 4 hours) and average elimination half-life was longer in elderly subjects (mean 14.9 hours) compared with younger subjects (mean 8.3 hours).

Hepatic Impairment: In a single-dose study, the pharmacokinetics of atovaquone, proguanil, and cycloguanil were compared in 13 subjects with hepatic impairment (9 mild, 4 moderate, as indicated by the Child-Pugh method) to 13 subjects with normal hepatic function. In subjects with mild or moderate hepatic impairment as compared to healthy subjects, there were no marked differences (<50%) in the rate or extent of systemic exposure of atovaquone. However, in subjects with moderate hepatic impairment, the elimination half-life of atovaquone was increased (point estimate = 1.28, 90% CI = 1.00 to 1.63). Proguanil AUC, C_{max}, and its t_{1/2} increased in subjects with mild hepatic impairment when compared to healthy subjects (Table 2). Also, the proguanil AUC and its t_{1/2} increased in subjects with moderate hepatic impairment when compared to healthy subjects. Consistent with the increase in proguanil AUC, there were marked decreases in the systemic exposure of cycloguanil (C_{max} and AUC) and an increase in its elimination half-life in subjects with mild hepatic impairment when compared to healthy volunteers (Table 2). There were few measurable cycloguanil concentrations in subjects with moderate hepatic impairment (see DOSAGE AND ADMINISTRATION). The pharmacokinetics of atovaquone, proguanil, and cycloguanil after administration of MALARONE have not been studied in patients with severe hepatic impairment.

Table 2. Point Estimates (90% CI) for Proguanil and Cycloguanil Parameters in Subjects With Mild and Moderate Hepatic Impairment Compared to Healthy Volunteers

Parameter	Comparison	Proguanil	Cycloguanil
AUC _(0-inf) [†]	mild:healthy	1.96 (1.51, 2.54)	0.32 (0.22, 0.45)
C _{max} [†]	mild:healthy	1.41 (1.16, 1.71)	0.35 (0.24, 0.50)
t _{1/2} [†]	mild:healthy	1.21 (0.92, 1.60)	0.86 (0.49, 1.48)
AUC _(0-inf) [†]	moderate:healthy	1.64 (1.14, 2.34)	ND
C _{max} [†]	moderate:healthy	0.97 (0.69, 1.36)	ND
t _{1/2} [†]	moderate:healthy	1.46 (1.05, 2.05)	ND

ND = not determined due to lack of quantifiable data.

*Ratio of geometric means.

[†]Mean difference.

Renal Impairment: In patients with mild renal impairment (creatinine clearance 50 to 80 mL/min), oral clearance and/or AUC data for atovaquone, proguanil, and cycloguanil are within the range of values observed in patients with normal renal function (creatinine clearance >80 mL/min). In patients with moderate renal impairment (creatinine clearance 30 to 50 mL/min), mean oral clearance for proguanil was reduced by approximately 35% compared with patients with normal renal function (creatinine clearance >80 mL/min) and the oral

clearance of atovaquone was comparable between patients with normal renal function and mild renal impairment. No data exist on the use of MALARONE for long-term prophylaxis (over 2 months) in individuals with moderate renal failure. In patients with severe renal impairment (creatinine clearance <30 mL/min), atovaquone C_{max} and AUC are reduced but the elimination half-lives for proguanil and cycloguanil are prolonged, with corresponding increases in AUC, resulting in the potential of drug accumulation and toxicity with repeated dosing (see CONTRAINDICATIONS).

Drug Interactions: There are no pharmacokinetic interactions between atovaquone and proguanil at the recommended dose.

Concomitant treatment with tetracycline has been associated with approximately a 40% reduction in plasma concentrations of atovaquone.

Concomitant treatment with metoclopramide has also been associated with decreased bioavailability of atovaquone.

Concomitant administration of rifampin or rifabutin is known to reduce atovaquone levels by approximately 50% and 34%, respectively (see PRECAUTIONS: Drug Interactions). The mechanisms of these interactions are unknown.

Concomitant administration of atovaquone and indinavir results in a decrease in the C_{min} of indinavir (23% decrease [90% CI 8%, 35%]). Caution should be exercised when prescribing atovaquone with indinavir due to the decrease in trough levels of indinavir.

Atovaquone is highly protein bound (>99%) but does not displace other highly protein-bound drugs in vitro, indicating significant drug interactions arising from displacement are unlikely (see PRECAUTIONS: Drug Interactions). Proguanil is metabolized primarily by CYP2C19. Potential pharmacokinetic interactions with other substrates or inhibitors of this pathway are unknown.

INDICATIONS AND USAGE

Prevention of Malaria: MALARONE is indicated for the prophylaxis of *P. falciparum* malaria, including in areas where chloroquine resistance has been reported (see CLINICAL STUDIES).

Treatment of Malaria: MALARONE is indicated for the treatment of acute, uncomplicated *P. falciparum* malaria. MALARONE has been shown to be effective in regions where the drugs chloroquine, halofantrine, mefloquine, and amodiaquine may have unacceptable failure rates, presumably due to drug resistance.

CONTRAINDICATIONS

MALARONE is contraindicated in individuals with known hypersensitivity to atovaquone or proguanil hydrochloride or any component of the formulation. Rare cases of anaphylaxis following treatment with atovaquone/proguanil have been reported.

MALARONE is contraindicated for prophylaxis of *P. falciparum* malaria in patients with severe renal impairment (creatinine clearance <30 mL/min) (see CLINICAL PHARMACOLOGY: Special Populations: Renal Impairment).

5

PRECAUTIONS

General: MALARONE has not been evaluated for the treatment of cerebral malaria or other severe manifestations of complicated malaria, including hyperparasitemia, pulmonary edema, or renal failure. Patients with severe malaria are not candidates for oral therapy.

Absorption of atovaquone may be reduced in patients with diarrhea or vomiting. If MALARONE is used in patients who are vomiting (see DOSAGE AND ADMINISTRATION), parasitemia should be closely monitored and the use of an antiemetic considered. Vomiting occurred in up to 19% of pediatric patients given treatment doses of MALARONE. In the controlled clinical trials of MALARONE, 15.3% of adults who were treated with atovaquone/proguanil received an antiemetic drug during that part of the trial when they received atovaquone/proguanil. Of these patients, 98.3% were successfully treated. In patients with severe or persistent diarrhea or vomiting, alternative antimalarial therapy may be required.

Parasite relapse occurred commonly when *P. vivax* malaria was treated with MALARONE alone.

In the event of recrudescence *P. falciparum* infections after treatment with MALARONE or failure of chemoprophylaxis with MALARONE, patients should be treated with a different blood schizonticide.

Information for Patients: Patients should be instructed:

- to take MALARONE tablets at the same time each day with food or a milky drink.
- to take a repeat dose of MALARONE if vomiting occurs within 1 hour after dosing.
- to take a dose as soon as possible if a dose is missed, then return to their normal dosing schedule. However, if a dose is skipped, the patient should not double the next dose.
- to consult a healthcare professional regarding alternative forms of prophylaxis if prophylaxis with MALARONE is prematurely discontinued for any reason.
- that protective clothing, insect repellents, and bednets are important components of malaria prophylaxis.
- that no chemoprophylactic regimen is 100% effective; therefore, patients should seek medical attention for any febrile illness that occurs during or after return from a malaria-endemic area and inform their healthcare professional that they may have been exposed to malaria.
- that *falciparum* malaria carries a higher risk of death and serious complications in pregnant women than in the general population. Pregnant women anticipating travel to malarious areas should discuss the risks and benefits of such travel with their physicians (see Pregnancy section).

Drug Interactions: Concomitant treatment with tetracycline has been associated with approximately a 40% reduction in plasma concentrations of atovaquone. Parasitemia should be closely monitored in patients receiving tetracycline. While antiemetics may be indicated for patients receiving MALARONE, metoclopramide may reduce the bioavailability of atovaquone and should be used only if other antiemetics are not available.

6

Concomitant administration of rifampin or rifabutin is known to reduce atovaquone levels by approximately 50% and 34%, respectively. The concomitant administration of MALARONE and rifampin or rifabutin is not recommended.

Proguanil may potentiate the anticoagulant effect of warfarin and similar anticoagulants through possible interference with metabolic pathways. Caution is advised when initiating or withdrawing malaria prophylaxis with MALARONE in patients on continuous treatment with anticoagulants metabolized by CYP2C9.

Atovaquone is highly protein bound (>99%) but does not displace other highly protein-bound drugs in vitro, indicating significant drug interactions arising from displacement are unlikely.

Potential interactions between proguanil or cycloguanil and other drugs that are CYP2C19 substrates or inhibitors are unknown.

Carcinogenesis, Mutagenesis, Impairment of Fertility:

Atovaquone: Carcinogenicity studies in rats were negative; 24-month studies in mice showed treatment-related increases in incidence of hepatocellular adenoma and hepatocellular carcinoma at all doses tested which ranged from approximately 5 to 8 times the average steady-state plasma concentrations in humans during prophylaxis of malaria. Atovaquone was negative with or without metabolic activation in the Ames Salmonella mutagenicity assay, the Mouse Lymphoma mutagenesis assay, and the Cultured Human Lymphocyte cytogenetic assay. No evidence of genotoxicity was observed in the in vivo Mouse Micronucleus assay.

Proguanil: No evidence of a carcinogenic effect was observed in 24-month studies conducted in CD-1 mice (doses up to 1.5 times the average systemic human exposure based on AUC) and in Wistar Hannover rats (doses up to 1.1 times the average systemic human exposure).

Proguanil was negative with or without metabolic activation in the Ames Salmonella mutagenicity assay and the Mouse Lymphoma mutagenesis assay. No evidence of genotoxicity was observed in the in vivo Mouse Micronucleus assay.

Cycloguanil, the active metabolite of proguanil, was also negative in the Ames test, but was positive in the Mouse Lymphoma assay and the Mouse Micronucleus assay. These positive effects with cycloguanil, a dihydrofolate reductase inhibitor, were significantly reduced or abolished with folic acid supplementation.

Genotoxicity studies have not been performed with atovaquone in combination with proguanil. Effects of MALARONE on male and female reproductive performance are unknown.

Pregnancy: Pregnancy Category C. *Falciparum* malaria carries a higher risk of morbidity and mortality in pregnant women than in the general population. Maternal death and fetal loss are both known complications of *falciparum* malaria in pregnancy. In pregnant women who must travel to malaria-endemic areas, personal protection against mosquito bites should always be employed (see Information for Patients) in addition to antimalarials.

Atovaquone was not teratogenic and did not cause reproductive toxicity in rats at maternal plasma concentrations up to 5 to 6.5 times the estimated human exposure during treatment of malaria. Following single-dose administration of ¹⁴C-labeled atovaquone to pregnant rats, concentrations of radiolabel in rat fetuses were 18% (mid-gestation) and 60% (late gestation) of

7

concurrent maternal plasma concentrations. In rabbits, atovaquone caused maternal toxicity at plasma concentrations that were approximately 0.6 to 1.3 times the estimated human exposure during treatment of malaria. Adverse fetal effects in rabbits, including decreased fetal body lengths and increased early resorptions and post-implantation losses, were observed only in the presence of maternal toxicity. Concentrations of atovaquone in rabbit fetuses averaged 30% of the concurrent maternal plasma concentrations.

The combination of atovaquone and proguanil hydrochloride was not teratogenic in rats at plasma concentrations up to 1.7 and 0.10 times, respectively, the estimated human exposure during treatment of malaria. In rabbits, the combination of atovaquone and proguanil hydrochloride was not teratogenic or embryotoxic to rabbit fetuses at plasma concentrations up to 0.34 and 0.82 times, respectively, the estimated human exposure during treatment of malaria.

While there are no adequate and well-controlled studies of atovaquone and/or proguanil hydrochloride in pregnant women, MALARONE may be used if the potential benefit justifies the potential risk to the fetus. The proguanil component of MALARONE acts by inhibiting the parasitic dihydrofolate reductase (see CLINICAL PHARMACOLOGY: Microbiology: Mechanism of Action). However, there are no clinical data indicating that folate supplementation diminishes drug efficacy, and for women of childbearing age receiving folate supplements to prevent neural tube birth defects, such supplements may be continued while taking MALARONE.

Nursing Mothers: It is not known whether atovaquone is excreted into human milk. In a rat study, atovaquone concentrations in the milk were 30% of the concurrent atovaquone concentrations in the maternal plasma.

Proguanil is excreted into human milk in small quantities.

Caution should be exercised when MALARONE is administered to a nursing woman.

Pediatric Use: Treatment of Malaria: The efficacy and safety of MALARONE for the treatment of malaria have been established in controlled studies involving pediatric patients weighing 5 kg or more (see CLINICAL STUDIES). Safety and effectiveness have not been established in pediatric patients who weigh less than 5 kg.

Prophylaxis of Malaria: The efficacy and safety of MALARONE have been established for the prophylaxis of malaria in controlled studies involving pediatric patients weighing 11 kg or more (see CLINICAL STUDIES). Safety and effectiveness have not been established in pediatric patients who weigh less than 11 kg.

Geriatric Use: Clinical studies of MALARONE did not include sufficient numbers of subjects aged 65 and over to determine whether they respond differently from younger subjects. In general, dose selection for an elderly patient should be cautious, reflecting the greater frequency of decreased hepatic, renal, or cardiac function, the higher systemic exposure to cycloguanil (see CLINICAL PHARMACOLOGY: Special Populations: Geriatrics), and the greater frequency of concomitant disease or other drug therapy.

8

ADVERSE REACTIONS

Because MALARONE contains atovaquone and proguanil hydrochloride, the type and severity of adverse reactions associated with each of the compounds may be expected. The higher treatment doses of MALARONE were less well tolerated than the lower prophylactic doses.

Among adults who received MALARONE for treatment of malaria, attributable adverse experiences that occurred in ≥5% of patients were abdominal pain (17%), nausea (12%), vomiting (12%), headache (10%), diarrhea (8%), asthenia (8%), anorexia (5%), and dizziness (5%). Treatment was discontinued prematurely due to an adverse experience in 4 of 436 adults treated with MALARONE.

Among pediatric patients (weighing 11 to 40 kg) who received MALARONE for the treatment of malaria, attributable adverse experiences that occurred in ≥5% of patients were vomiting (10%) and pruritus (6%). Vomiting occurred in 43 of 319 (13%) pediatric patients who did not have symptomatic malaria but were given treatment doses of MALARONE for 3 days in a clinical trial. The design of this clinical trial required that any patient who vomited be withdrawn from the trial. Among pediatric patients with symptomatic malaria treated with MALARONE, treatment was discontinued prematurely due to an adverse experience in 1 of 116 (0.9%).

In a study of 100 pediatric patients (5 to <11 kg body weight) who received MALARONE for the treatment of uncomplicated *P. falciparum* malaria, only diarrhea (6%) occurred in ≥5% of patients as an adverse experience attributable to MALARONE. In 3 patients (3%), treatment was discontinued prematurely due to an adverse experience.

Abnormalities in laboratory tests reported in clinical trials were limited to elevations of transaminases in malaria patients being treated with MALARONE. The frequency of these abnormalities varied substantially across studies of treatment and were not observed in the randomized portions of the prophylaxis trials.

In one phase III trial of malaria treatment in Thai adults, early elevations of ALT and AST were observed to occur more frequently in patients treated with MALARONE compared to patients treated with an active control drug. Rates for patients who had normal baseline levels of these clinical laboratory parameters were: Day 7: ALT 26.7% vs. 15.6%; AST 16.9% vs. 8.6%. By day 14 of this 28-day study, the frequency of transaminase elevations equalized across the 2 groups.

In this and other studies in which transaminase elevations occurred, they were noted to persist for up to 4 weeks following treatment with MALARONE for malaria. None were associated with untoward clinical events.

Among subjects who received MALARONE for prophylaxis of malaria in placebo-controlled trials, adverse experiences occurred in similar proportions of subjects receiving MALARONE or placebo (Table 3). The most commonly reported adverse experiences possibly attributable to MALARONE or placebo were headache and abdominal pain. Prophylaxis with MALARONE

9

was discontinued prematurely due to a treatment-related adverse experience in 3 of 381 adults and 0 of 125 pediatric patients.

Table 3. Adverse Experiences in Placebo-Controlled Clinical Trials of MALARONE for Prophylaxis of Malaria

Adverse Experience	Percent of Subjects With Adverse Experiences (Percent of Subjects With Adverse Experiences Attributable to Therapy)				
	Adults			Children and Adolescents	
	Placebo n = 206	MALARONE [†] n = 206	MALARONE [†] n = 381	Placebo n = 140	MALARONE n = 125
Headache	27 (7)	22 (3)	17 (5)	21 (14)	19 (14)
Fever	13 (1)	5 (0)	3 (0)	11 (<1)	6 (0)
Myalgia	11 (0)	12 (0)	7 (0)	0 (0)	0 (0)
Abdominal pain	10 (5)	9 (4)	6 (3)	29 (29)	33 (31)
Cough	8 (<1)	6 (<1)	4 (1)	9 (0)	9 (0)
Diarrhea	8 (3)	6 (2)	4 (1)	3 (1)	2 (0)
Upper respiratory infection	7 (0)	8 (0)	5 (0)	0 (0)	<1 (0)
Dyspepsia	5 (4)	3 (2)	2 (1)	0 (0)	0 (0)
Back pain	4 (0)	8 (0)	4 (0)	0 (0)	0 (0)
Gastritis	3 (2)	3 (3)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
Vomiting	2 (<1)	1 (<1)	<1 (<1)	6 (6)	7 (7)
Flu syndrome	1 (0)	2 (0)	4 (0)	6 (0)	9 (0)
Any adverse experience	65 (32)	54 (17)	49 (17)	62 (41)	60 (42)

[†] Subjects receiving the recommended dose of atovaquone and proguanil hydrochloride in placebo-controlled trials.

[†] Subjects receiving the recommended dose of atovaquone and proguanil hydrochloride in any trial.

In an additional placebo-controlled study of malaria prophylaxis with MALARONE involving 330 pediatric patients in a malaria-endemic area (see CLINICAL STUDIES), the safety profile of MALARONE was consistent with that described above. The most common treatment-emergent adverse events with MALARONE were abdominal pain (13%), headache (13%), and cough (10%). Abdominal pain (13% vs. 8%) and vomiting (5% vs. 3%) were reported more often with MALARONE than with placebo, while fever (5% vs. 12%) and diarrhea (1% vs. 5%) were more common with placebo. No patient withdrew from the study due to an adverse experience with MALARONE. No routine laboratory data were obtained during this study.

10

Among subjects who received MALARONE for prophylaxis of malaria in clinical trials with an active comparator, adverse experiences occurred in a similar or lower proportion of subjects receiving MALARONE than an active comparator (Table 4). The mean durations of dosing and the periods for which the adverse experiences are summarized in Table 4, were 28 days (Study 1) and 26 days (Study 2) for MALARONE, 53 days for mefloquine, and 49 days for chloroquine plus proguanil (reflecting the different recommended dosing regimens). Fewer neuropsychiatric adverse experiences occurred in subjects who received MALARONE than mefloquine. Fewer gastrointestinal adverse experiences occurred in subjects receiving MALARONE than chloroquine/proguanil. Compared with active comparator drugs, subjects receiving MALARONE had fewer adverse experiences overall that were attributed to prophylactic therapy (Table 4). Prophylaxis with MALARONE was discontinued prematurely due to a treatment-related adverse experience in 7 of 1,004 travelers.

Table 4. Adverse Experiences in Active-Controlled Clinical Trials of MALARONE for Prophylaxis of Malaria

Adverse Experience	Percent of Subjects With Adverse Experiences [†] (Percent of Subjects With Adverse Experiences Attributable to Therapy)			
	Study 1		Study 2	
	MALARONE n = 493	Mefloquine n = 483	MALARONE n = 511	Chloroquine plus Proguanil n = 511
Diarrhea	38 (8)	36 (7)	34 (5)	39 (7)
Nausea	14 (3)	20 (8)	11 (2)	18 (7)
Abdominal pain	17 (5)	16 (5)	14 (3)	22 (6)
Headache	12 (4)	17 (7)	12 (4)	14 (4)
Dreams	7 (7)	16 (14)	6 (4)	7 (3)
Insomnia	5 (3)	16 (13)	4 (2)	5 (2)
Fever	9 (<1)	11 (1)	8 (<1)	8 (<1)
Dizziness	5 (2)	14 (9)	7 (3)	8 (4)
Vomiting	8 (1)	10 (2)	8 (0)	14 (2)
Oral ulcers	9 (6)	6 (4)	5 (4)	7 (5)
Pruritus	4 (2)	5 (2)	3 (1)	2 (<1)
Visual difficulties	2 (2)	5 (3)	3 (2)	3 (2)
Depression	<1 (<1)	5 (4)	<1 (<1)	1 (<1)
Anxiety	1 (<1)	5 (4)	<1 (<1)	1 (<1)
Any adverse experience	64 (30)	69 (42)	58 (22)	66 (28)
Any	20 (14)	37 (29)	16 (10)	20 (10)

11

neuropsychiatric event				
Any GI event	49 (16)	50 (19)	43 (12)	54 (20)

[†] Adverse experiences that started while receiving active study drug.

In a third active-controlled study, MALARONE (n = 110) was compared with chloroquine/proguanil (n = 111) for the prophylaxis of malaria in 221 non-immune pediatric patients (see CLINICAL STUDIES). The mean duration of exposure was 23 days for MALARONE, 46 days for chloroquine, and 43 days for proguanil, reflecting the different recommended dosage regimens for these products. Fewer patients treated with MALARONE reported abdominal pain (2% vs. 7%) or nausea (<1% vs. 7%) than children who received chloroquine/proguanil. Oral ulceration (2% vs. 2%), vivid dreams (2% vs. <1%), and blurred vision (0% vs. 2%) occurred in similar proportions of patients receiving either MALARONE or chloroquine/proguanil, respectively. Two patients discontinued prophylaxis with chloroquine/proguanil due to adverse events, while none of those receiving MALARONE discontinued due to adverse events.

Post-Marketing Adverse Reactions: In addition to adverse events reported from clinical trials, the following events have been identified during world-wide post-approval use of MALARONE or its components, atovaquone and proguanil hydrochloride. Because they are reported voluntarily from a population of unknown size, estimates of frequency cannot be made. These events have been chosen for inclusion due to a combination of their seriousness, frequency of reporting, or potential causal connection to MALARONE.

Blood and Lymphatic System Disorders: Anemia and neutropenia in patients treated with atovaquone. Pancytopenia in patients with severe renal impairment treated with proguanil.

Immune System Disorders: Allergic reactions including angioedema, urticaria, and rare cases of anaphylaxis.

Metabolism and Nutrition Disorders: Elevated amylase levels and hyponatremia in patients treated with atovaquone.

Nervous System Disorders: Rare cases of seizures and psychotic events (such as hallucinations); however, a causal relationship has not been established.

Hepatobiliary Disorders: Very rare reports of hepatitis.

Skin and Subcutaneous Tissue Disorders: Photosensitivity, rash, and rare cases of erythema multiforme and Steven-Johnson syndrome.

OVERDOSAGE

There is no information on overdoses of MALARONE substantially higher than the doses recommended for treatment.

There is no known antidote for atovaquone, and it is currently unknown if atovaquone is dialyzable. The median lethal dose is higher than the maximum oral dose tested in mice and rats (1,825 mg/kg/day). Overdoses up to 31,500 mg of atovaquone have been reported. In one such

12

patient who also took an unspecified dose of dapsone, methemoglobinemia occurred. Rash has also been reported after overdose.

Overdoses of proguanil hydrochloride as large as 1,500 mg have been followed by complete recovery, and doses as high as 700 mg twice daily have been taken for over 2 weeks without serious toxicity. Adverse experiences occasionally associated with proguanil hydrochloride doses of 100 to 200 mg/day, such as epigastric discomfort and vomiting, would be likely to occur with overdose. There are also reports of reversible hair loss and scaling of the skin on the palms and/or soles, reversible aphthous ulceration, and hematologic side effects.

DOSAGE AND ADMINISTRATION

The daily dose should be taken at the same time each day with food or a milky drink. In the event of vomiting within 1 hour after dosing, a repeat dose should be taken.

Prevention of Malaria: Prophylactic treatment with MALARONE should be started 1 or 2 days before entering a malaria-endemic area and continued daily during the stay and for 7 days after return.

Adults: One MALARONE Tablet (adult strength = 250 mg atovaquone/100 mg proguanil hydrochloride) per day.

Pediatric Patients: The dosage for prevention of malaria in pediatric patients is based upon body weight (Table 5).

Table 5. Dosage for Prevention of Malaria in Pediatric Patients

Weight (kg)	Atovaquone/Proguanil HCl Total Daily Dose	Dosage Regimen
11-20	62.5 mg/25 mg	1 MALARONE Pediatric Tablet daily
21-30	125 mg/50 mg	2 MALARONE Pediatric Tablets as a single dose daily
31-40	187.5 mg/75 mg	3 MALARONE Pediatric Tablets as a single dose daily
>40	250 mg/100 mg	1 MALARONE Tablet (adult strength) as a single dose daily

Treatment of Acute Malaria: Adults: Four MALARONE Tablets (adult strength; total daily dose 1 g atovaquone/400 mg proguanil hydrochloride) as a single dose daily for 3 consecutive days.

Pediatric Patients: The dosage for treatment of acute malaria in pediatric patients is based upon body weight (Table 6).

Table 6. Dosage for Treatment of Acute Malaria in Pediatric Patients

Weight (kg)	Atovaquone/Proguanil HCl Total Daily Dose	Dosage Regimen
5-8	125 mg/50 mg	2 MALARONE Pediatric Tablets daily for 3 consecutive days
9-10	187.5 mg/75 mg	3 MALARONE Pediatric Tablets daily for 3 consecutive days
11-20	250 mg/100 mg	1 MALARONE Tablet (adult strength) daily for 3 consecutive days
21-30	500 mg/200 mg	2 MALARONE Tablets (adult strength) as a single dose daily for 3 consecutive days
31-40	750 mg/300 mg	3 MALARONE Tablets (adult strength) as a single dose daily for 3 consecutive days
>40	1 g/400 mg	4 MALARONE Tablets (adult strength) as a single dose daily for 3 consecutive days

MALARONE Tablets may be crushed and mixed with condensed milk just prior to administration for children who may have difficulty swallowing tablets.

Patients With Renal Impairment: MALARONE should not be used for malaria prophylaxis in patients with severe renal impairment (creatinine clearance <30 mL/min). MALARONE may be used with caution for the treatment of malaria in patients with severe renal impairment (creatinine clearance <30 mL/min), only if the benefits of the 3-day treatment regimen outweigh the potential risks associated with increased drug exposure (see CLINICAL PHARMACOLOGY: Special Populations: Renal Impairment). No dosage adjustments are needed in patients with mild (creatinine clearance 50 to 80 mL/min) and moderate (creatinine clearance 30 to 50 mL/min) renal impairment (see CLINICAL PHARMACOLOGY: Special Populations).

Patients With Hepatic Impairment: No dosage adjustments are needed in patients with mild to moderate hepatic impairment. No studies have been conducted in patients with severe hepatic impairment (see CLINICAL PHARMACOLOGY: Special Populations: Hepatic Impairment).

HOW SUPPLIED

MALARONE Tablets, containing 250 mg atovaquone and 100 mg proguanil hydrochloride, are pink, film-coated, round, biconvex tablets engraved with "GX CM3" on one side.

Bottle of 100 tablets with child-resistant closure (NDC 0173-0675-01).

Unit Dose Pack of 24 (NDC 0173-0675-02).

MALARONE Pediatric Tablets, containing 62.5 mg atovaquone and 25 mg proguanil hydrochloride, are pink, film-coated, round, biconvex tablets engraved with "GX CG7" on one side.

Bottle of 100 tablets with child-resistant closure (NDC 0173-0676-01).

Store at 25°C (77°F); excursions permitted to 15° to 30°C (59° to 86°F) (see USP Controlled Room Temperature).

ANIMAL TOXICOLOGY

Fibrovascular proliferation in the right atrium, pyelonephritis, bone marrow hypocellularity, lymphoid atrophy, and gastritis/enteritis were observed in dogs treated with proguanil hydrochloride for 6 months at a dose of 12 mg/kg/day (approximately 3.9 times the recommended daily human dose for malaria prophylaxis on a mg/m² basis). Bile duct hyperplasia, gall bladder mucosal atrophy, and interstitial pneumonia were observed in dogs treated with proguanil hydrochloride for 6 months at a dose of 4 mg/kg/day (approximately 1.3 times the recommended daily human dose for malaria prophylaxis on a mg/m² basis). Mucosal hyperplasia of the cecum and renal tubular basophilia were observed in rats treated with proguanil hydrochloride for 6 months at a dose of 20 mg/kg/day (approximately 1.6 times the recommended daily human dose for malaria prophylaxis on a mg/m² basis). Adverse heart, lung, liver, and gall bladder effects observed in dogs and kidney effects observed in rats were not shown to be reversible.

CLINICAL STUDIES

Treatment of Acute Malarial Infections: In 3 phase II clinical trials, atovaquone alone, proguanil hydrochloride alone, and the combination of atovaquone and proguanil hydrochloride were evaluated for the treatment of acute, uncomplicated malaria caused by *P. falciparum*. Among 156 evaluable patients, the parasitological cure rate was 59/89 (66%) with atovaquone alone, 1/17 (6%) with proguanil hydrochloride alone, and 50/50 (100%) with the combination of atovaquone and proguanil hydrochloride.

MALARONE was evaluated for treatment of acute, uncomplicated malaria caused by *P. falciparum* in 8 phase III controlled clinical trials. Among 471 evaluable patients treated with the equivalent of 4 MALARONE Tablets once daily for 3 days, 464 had a sensitive response (elimination of parasitemia with no recurrent parasitemia during follow-up for 28 days) (see Table 7). Seven patients had a response of RI resistance (elimination of parasitemia but with recurrent parasitemia between 7 and 28 days after starting treatment). In these trials, the response to treatment with MALARONE was similar to treatment with the comparator drug in 4 trials, and better than the response to treatment with the comparator drug in the other 4 trials.

The overall efficacy in 521 evaluable patients was 98.7% (Table 7).

Table 7. Parasitological Response in Clinical Trials of MALARONE for Treatment of *P. falciparum* Malaria

Study Site	MALARONE [†]		Comparator		
	Evaluable Patients (n)	% Sensitive Response [‡]	Drug(s)	Evaluable Patients (n)	% Sensitive Response [‡]
Brazil	74	98.6%	Quinine and tetracycline	76	100.0%
Thailand	79	100.0%	Mefloquine	79	86.1%
France [‡]	21	100.0%	Halofantrine	18	100.0%
Kenya [‡] §	81	93.8%	Halofantrine	83	90.4%
Zambia	80	100.0%	Pyrimethamine/sulfadoxine (P/S)	80	98.8%
Gabon [‡]	63	98.4%	Amodiaquine	63	81.0%
Philippines	54	100.0%	Chloroquine (Cq) Cq and P/S	23 32	30.4% 87.5%
Peru	19	100.0%	Chloroquine P/S	13 7	7.7% 100.0%

* MALARONE = 1,000 mg atovaquone and 400 mg proguanil hydrochloride (or equivalent based on body weight for patients weighing ≤40 kg) once daily for 3 days.

† Elimination of parasitemia with no recurrent parasitemia during follow-up for 28 days.

‡ Patients hospitalized only for acute care. Follow-up conducted in outpatients.

§ Study in pediatric patients 3 to 12 years of age.

Eighteen of 521 (3.5%) evaluable patients with acute falciparum malaria presented with a pretreatment serum creatinine greater than 2.0 mg/dL (range 2.1 to 4.3 mg/dL). All were successfully treated with MALARONE and 17 of 18 (94.4%) had normal serum creatinine levels by day 7.

Data from a phase II trial of atovaquone conducted in Zambia suggested that approximately 40% of the study population in this country were HIV-infected patients. The enrollment criteria were similar for the phase III trial of MALARONE conducted in Zambia and the results are presented in Table 7. Efficacy rates for MALARONE in this study population were high and comparable to other populations studied.

The efficacy of MALARONE in the treatment of the erythrocytic phase of nonfalciparum malaria was assessed in a small number of patients. Of the 23 patients in Thailand infected with *P. vivax* and treated with atovaquone/proguanil hydrochloride 1,000 mg/400 mg daily for 3 days, parasitemia cleared in 21 (91.3%) at 7 days. Parasite relapse occurred commonly when *P. vivax* malaria was treated with MALARONE alone. Seven patients in Gabon with malaria due to *P. ovale* or *P. malariae* were treated with atovaquone/proguanil hydrochloride 1,000 mg/400 mg daily for 3 days. All 6 evaluable patients (3 with *P. malariae*, 2 with *P. ovale*, and 1 with mixed

P. falciparum and *P. ovale*) were cured at 28 days. Relapsing malarias including *P. vivax* and *P. ovale* require additional treatment to prevent relapse.

The efficacy of MALARONE in treating acute uncomplicated *P. falciparum* malaria in children weighing ≥ 5 and < 11 kg was examined in an open-label, randomized trial conducted in Gabon. Patients received either MALARONE (2 or 3 MALARONE Pediatric Tablets once daily depending upon body weight) for 3 days ($n = 100$) or amodiaquine (10 mg/kg/day) for 3 days ($n = 100$). In this study, the MALARONE Tablets were crushed and mixed with condensed milk just prior to administration. In the per-protocol population, adequate clinical response was obtained in 95% (87/92) of the pediatric patients who received MALARONE and in 53% (41/78) of those who received amodiaquine. A response of RI resistance (elimination of parasitemia but with recurrent parasitemia between 7 and 28 days after starting treatment) was noted in 3% and 40% of the patients, respectively. Two cases of RIII resistance (rising parasite count despite therapy) were reported in the patients receiving MALARONE. There were 4 cases of RIII in the amodiaquine arm.

Prevention of Malaria: MALARONE was evaluated for prophylaxis of malaria in 5 clinical trials in malaria-endemic areas and in 3 active-controlled trials in non-immune travelers to malaria-endemic areas.

Three placebo-controlled studies of 10 to 12 weeks' duration were conducted among residents of malaria-endemic areas in Kenya, Zambia, and Gabon. Of a total of 669 randomized patients (including 264 pediatric patients 5 to 16 years of age), 103 were withdrawn for reasons other than *falciparum* malaria or drug-related adverse events. (Fifty-five percent of these were lost to follow-up and 45% were withdrawn for protocol violations.) The results are listed in Table 8.

Table 8. Prevention of Parasitemia in Placebo-Controlled Clinical Trials of MALARONE for Prophylaxis of *P. falciparum* Malaria in Residents of Malaria-Endemic Areas

	MALARONE	Placebo
Total number of patients randomized	326	341
Failed to complete study	57	44
Developed parasitemia (<i>P. falciparum</i>)	2	92

In another study, 330 Gabonese pediatric patients (weighing 13 to 40 kg, and aged 4 to 14 years) who had received successful open-label radical cure treatment with artesunate, were randomized to receive either MALARONE (dosage based on body weight) or placebo in a double-blind fashion for 12 weeks. Blood smears were obtained weekly and any time malaria was suspected. Nineteen of the 165 children given MALARONE and 18 of 165 patients given placebo withdrew from the study for reasons other than parasitemia (primary reason was lost to follow-up). In the per-protocol population, 1 out of 150 patients ($< 1\%$) who received MALARONE developed *P. falciparum* parasitemia while receiving prophylaxis with MALARONE compared with 31 (22%) of the 144 placebo recipients.

In a 10-week study in 175 South African subjects who moved into malaria-endemic areas and were given prophylaxis with 1 MALARONE Tablet daily, parasitemia developed in 1 subject who missed several doses of medication. Since no placebo control was included, the incidence of malaria in this study was not known.

Two active-controlled studies were conducted in non-immune travelers who visited a malaria-endemic area. The mean duration of travel was 18 days (range 2 to 38 days). Of a total of 1,998 randomized patients who received MALARONE or controlled drug, 24 discontinued from the study before follow-up evaluation 60 days after leaving the endemic area. Nine of these were lost to follow-up, 2 withdrew because of an adverse experience, and 13 were discontinued for other reasons. These studies were not large enough to allow for statements of comparative efficacy. In addition, the true exposure rate to *P. falciparum* malaria in both studies is unknown. The results are listed in Table 9.

Table 9. Prevention of Parasitemia in Active-Controlled Clinical Trials of MALARONE for Prophylaxis of *P. falciparum* Malaria in Non-Immune Travelers

	MALARONE	Mefloquine	Chloroquine plus Proguanil
Total number of randomized patients who received study drug	1,004	483	511
Failed to complete study	14	6	4
Developed parasitemia (<i>P. falciparum</i>)	0	0	3

A third randomized, open-label study was conducted which included 221 otherwise healthy pediatric patients (weighing ≥ 11 kg and 2 to 17 years of age) who were at risk of contracting malaria by traveling to an endemic area. The mean duration of travel was 15 days (range 1 to 30 days). Prophylaxis with MALARONE ($n = 110$, dosage based on body weight) began 1 or 2 days before entering the endemic area and lasted until 7 days after leaving the area. A control group ($n = 111$) received prophylaxis with chloroquine/proguanil dosed according to WHO guidelines. No cases of malaria occurred in either group of children. However, the study was not large enough to allow for statements of comparative efficacy. In addition, the true exposure rate to *P. falciparum* malaria in this study is unknown.

In a malaria challenge study conducted in healthy US volunteers, atovaquone alone prevented malaria in 6 of 6 individuals, whereas 4 of 4 placebo-treated volunteers developed malaria.

Causal Prophylaxis: In separate studies with small numbers of volunteers, atovaquone and proguanil hydrochloride were independently shown to have causal prophylactic activity directed against liver-stage parasites of *P. falciparum*. Six patients given a single dose of atovaquone 250 mg 24 hours prior to malaria challenge were protected from developing malaria, whereas all 4 placebo-treated patients developed malaria.

During the 4 weeks following cessation of prophylaxis in clinical trial participants who remained in malaria-endemic areas and were available for evaluation, malaria developed in 24 of

211 (11.4%) subjects who took placebo and 9 of 328 (2.7%) who took MALARONE. While new infections could not be distinguished from recrudescing infections, all but 1 of the infections in patients treated with MALARONE occurred more than 15 days after stopping therapy, probably representing new infections. The single case occurring on day 8 following cessation of therapy with MALARONE probably represents a failure of prophylaxis with MALARONE.

The possibility that delayed cases of *P. falciparum* malaria may occur some time after stopping prophylaxis with MALARONE cannot be ruled out. Hence, returning travelers developing febrile illnesses should be investigated for malaria.



GlaxoSmithKline
Research Triangle Park, NC 27709

©2006, GlaxoSmithKline. All rights reserved.

November 2006

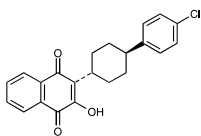
RL-2335

PRESCRIBING INFORMATION

MEPRON®
(atovaquone)
Suspension

DESCRIPTION

MEPRON (atovaquone) is an antiprotozoal agent. The chemical name of atovaquone is trans-2-[4-(4-chlorophenyl)cyclohexyl]-3-hydroxy-1,4-naphthalenedione. Atovaquone is a yellow crystalline solid that is practically insoluble in water. It has a molecular weight of 366.84 and the molecular formula C₂₂H₁₉ClO₃. The compound has the following structural formula:



MEPRON Suspension is a formulation of micro-fine particles of atovaquone. The atovaquone particles, reduced in size to facilitate absorption, are significantly smaller than those in the previously marketed tablet formulation. MEPRON Suspension is for oral administration and is bright yellow with a citrus flavor. Each teaspoonful (5 mL) contains 750 mg of atovaquone and the inactive ingredients benzyl alcohol, flavor, poloxamer 188, purified water, saccharin sodium, and xanthan gum.

MICROBIOLOGY

Mechanism of Action: Atovaquone is a hydroxy-1,4-naphthoquinone, an analog of ubiquinone, with antipneumocystis activity. The mechanism of action against *Pneumocystis carinii* has not been fully elucidated. In *Plasmodium* species, the site of action appears to be the cytochrome bc₁ complex (Complex III). Several metabolic enzymes are linked to the mitochondrial electron transport chain via ubiquinone. Inhibition of electron transport by atovaquone will result in indirect inhibition of these enzymes. The ultimate metabolic effects of such blockade may include inhibition of nucleic acid and ATP synthesis.

Activity In Vitro: Several laboratories, using different in vitro methodologies, have shown the IC₅₀ (50% inhibitory concentration) of atovaquone against rat *P. carinii* to be in the range of 0.1 to 3.0 mcg/mL.

Drug Resistance: Phenotypic resistance to atovaquone in vitro has not been demonstrated for *P. carinii*. However, in 2 patients who developed *P. carinii* pneumonia (PCP) after prophylaxis with atovaquone, DNA sequence analysis identified mutations in the predicted amino acid sequence of *P. carinii* cytochrome b (a likely target site for atovaquone). The clinical significance of this is unknown.

CLINICAL PHARMACOLOGY

Pharmacokinetics: Absorption: Atovaquone is a highly lipophilic compound with low aqueous solubility. The bioavailability of atovaquone is highly dependent on formulation and diet. The suspension formulation provides an approximately 2-fold increase in atovaquone bioavailability in the fasting or fed state compared to the previously marketed tablet formulation. The absolute bioavailability of a 750-mg dose of MEPRON Suspension administered under fed conditions in 9 HIV-infected (CD4 >100 cells/mm³) volunteers was 47% ± 15%. In the same study, the bioavailability of a 750-mg dose of the previously marketed tablet formulation was 23% ± 11%.

Administering atovaquone with food enhances its absorption by approximately 2 fold. In one study, 16 healthy volunteers received a single dose of 750 mg MEPRON Suspension after an overnight fast and following a standard breakfast (23 g fat, 610 kCal). The mean (±SD) area under the concentration-time curve (AUC) values were 324 ± 115 and 801 ± 320 hr•mcg/mL under fasting and fed conditions, respectively, representing a 2.6 ± 1.0-fold increase. The effect of food (23 g fat, 400 kCal) on plasma atovaquone concentrations was also evaluated in a multiple-dose, randomized, crossover study in 19 HIV-infected volunteers (CD4 <200 cells/mm³) receiving daily doses of 500 mg MEPRON Suspension. AUC was 280 ± 114 hr•mcg/mL when atovaquone was administered with food as compared to 169 ± 77 hr•mcg/mL under fasting conditions. Maximum plasma atovaquone concentration (C_{max}) was 15.1 ± 6.1 and 8.8 ± 3.7 mcg/mL when atovaquone was administered with food and under fasting conditions, respectively.

Dose Proportionality: Plasma atovaquone concentrations do not increase proportionally with dose. When MEPRON Suspension was administered with food at dosage regimens of 500 mg once daily, 750 mg once daily, and 1,000 mg once daily, average steady-state plasma atovaquone concentrations were 11.7 ± 4.8, 12.5 ± 5.8, and 13.5 ± 5.1 mcg/mL, respectively. The corresponding C_{max} concentrations were 15.1 ± 6.1, 15.3 ± 7.6, and 16.8 ± 6.4 mcg/mL. When MEPRON Suspension was administered to 5 HIV-infected volunteers at a dose of 750 mg twice daily, the average steady-state plasma atovaquone concentration was 21.0 ± 4.9 mcg/mL and C_{max} was 24.0 ± 5.7 mcg/mL. The minimum plasma atovaquone concentration (C_{min}) associated with the 750-mg twice-daily regimen was 16.7 ± 4.6 mcg/mL.

Distribution: Following the intravenous administration of atovaquone, the volume of distribution at steady state (V_{d,ss}) was 0.60 ± 0.17 L/kg (n = 9). Atovaquone is extensively bound to plasma proteins (99.9%) over the concentration range of 1 to 90 mcg/mL. In 3 HIV-infected children who received 750 mg atovaquone as the tablet formulation 4 times daily for 2 weeks, the cerebrospinal fluid concentrations of atovaquone were 0.04, 0.14, and 0.26 mcg/mL, representing less than 1% of the plasma concentration.

Elimination: The plasma clearance of atovaquone following intravenous (IV) administration in 9 HIV-infected volunteers was 10.4 ± 5.5 mL/min (0.15 ± 0.09 mL/min/kg). The half-life of atovaquone was 62.5 ± 35.3 hours after IV administration and ranged from 67.0 ± 33.4 to 77.6 ± 23.1 hours across studies following administration of MEPRON Suspension. The half-life of atovaquone is long due to presumed enterohepatic cycling and eventual fecal elimination. In a study where ¹⁴C-labelled atovaquone was administered to healthy volunteers, greater than 94% of the dose was recovered as unchanged atovaquone in the feces over 21 days. There was little or no excretion of atovaquone in the urine (less than 0.6%). There is indirect evidence that

atovaquone may undergo limited metabolism; however, a specific metabolite has not been identified.

Special Populations: Pediatrics: In a study of MEPRON Suspension in 27 HIV-infected, asymptomatic infants and children between 1 month and 13 years of age, the pharmacokinetics of atovaquone were age dependent. These patients were dosed once daily with food for 12 days. The average steady-state plasma atovaquone concentrations in the 24 patients with available concentration data are shown in Table 1.

Table 1. Average Steady-State Plasma Atovaquone Concentrations in Pediatric Patients

Age	Dose of MEPRON Suspension		
	10 mg/kg	30 mg/kg	45 mg/kg
	Average C _{ss} in mcg/mL (mean ± SD)		
1-3 months	5.9 (n = 1)	27.8 ± 5.8 (n = 4)	—
>3-24 months	5.7 ± 5.1 (n = 4)	9.8 ± 3.2 (n = 4)	15.4 ± 6.6 (n = 4)
>2-13 years	16.8 ± 6.4 (n = 4)	37.1 ± 10.9 (n = 3)	—

Hepatic/Renal Impairment: The pharmacokinetics of atovaquone have not been studied in patients with hepatic or renal impairment.

Drug Interactions: Rifampin: In a study with 13 HIV-infected volunteers, the oral administration of rifampin 600 mg every 24 hours with MEPRON Suspension 750 mg every 12 hours resulted in a 52% ± 13% decrease in the average steady-state plasma atovaquone concentration and a 37% ± 42% increase in the average steady-state plasma rifampin concentration. The half-life of atovaquone decreased from 82 ± 36 hours when administered without rifampin to 50 ± 16 hours with rifampin.

Rifabutin, another rifamycin, is structurally similar to rifampin and may possibly have some of the same drug interactions as rifampin. No interaction trials have been conducted with MEPRON and rifabutin.

Trimethoprim/Sulfamethoxazole (TMP-SMX): The possible interaction between atovaquone and TMP-SMX was evaluated in 6 HIV-infected adult volunteers as part of a larger multiple-dose, dose-escalation, and chronic dosing study of MEPRON Suspension. In this crossover study, MEPRON Suspension 500 mg once daily, or TMP-SMX tablets (160 mg trimethoprim and 800 mg sulfamethoxazole) twice daily, or the combination were administered with food to achieve steady state. No difference was observed in the average steady-state plasma atovaquone concentration after coadministration with TMP-SMX. Coadministration of MEPRON with TMP-SMX resulted in a 17% and 8% decrease in average steady-state concentrations of trimethoprim and sulfamethoxazole in plasma, respectively. This effect is minor and would not be expected to produce clinically significant events.

Zidovudine: Data from 14 HIV-infected volunteers who were given atovaquone tablets 750 mg every 12 hours with zidovudine 200 mg every 8 hours showed a 24% ± 12% decrease in zidovudine apparent oral clearance, leading to a 35% ± 23% increase in plasma zidovudine

AUC. The glucuronide metabolite:parent ratio decreased from a mean of 4.5 when zidovudine was administered alone to 3.1 when zidovudine was administered with atovaquone tablets. This effect is minor and would not be expected to produce clinically significant events. Zidovudine had no effect on atovaquone pharmacokinetics.

Relationship Between Plasma Atovaquone Concentration and Clinical Outcome:

In a comparative study of atovaquone tablets with TMP-SMX for oral treatment of mild-to-moderate *Pneumocystis carinii* pneumonia (PCP) (see INDICATIONS AND USAGE), where AIDS patients received 750 mg atovaquone tablets 3 times daily for 21 days, the mean steady-state atovaquone concentration was 13.9 ± 6.9 mcg/mL (n = 133). Analysis of these data established a relationship between plasma atovaquone concentration and successful treatment. This is shown in Table 2.

Table 2. Relationship Between Plasma Atovaquone Concentration and Successful Treatment

Steady-State Plasma Atovaquone Concentrations (mcg/mL)	Successful Treatment* (No. Successes/No. in Group) (%)			
	Observed		Predicted [†]	
	Observed	Successes (%)	Predicted	Successes (%)
0 to <5	0/6	(0%)	1.5/6	(25%)
5 to <10	18/26	(69%)	14.7/26	(57%)
10 to <15	30/38	(79%)	31.9/38	(84%)
15 to <20	18/19	(95%)	18.1/19	(95%)
20 to <25	18/18	(100%)	17.8/18	(99%)
25+	6/6	(100%)	6/6	(100%)

* Successful treatment was defined as improvement in clinical and respiratory measures persisting at least 4 weeks after cessation of therapy. This was based on data from patients for which both outcome and steady-state plasma atovaquone concentration data are available.

[†] Based on logistic regression analysis.

A dosing regimen of MEPRON Suspension for the treatment of mild-to-moderate PCP has been selected to achieve average plasma atovaquone concentrations of approximately 20 mcg/mL, because this plasma concentration was previously shown to be well tolerated and associated with the highest treatment success rates (Table 2). In an open-label PCP treatment study with MEPRON Suspension, dosing regimens of 1,000 mg once daily, 750 mg twice daily, 1,500 mg once daily, and 1,000 mg twice daily were explored. The average steady-state plasma atovaquone concentration achieved at the 750-mg twice-daily dose given with meals was 22.0 ± 10.1 mcg/mL (n = 18).

INDICATIONS AND USAGE

MEPRON Suspension is indicated for the prevention of *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients who are intolerant to trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP-SMX).

MEPRON Suspension is also indicated for the acute oral treatment of mild-to-moderate PCP in patients who are intolerant to TMP-SMX.

Prevention of PCP: The indication for prevention of PCP is based on the results of 2 clinical trials comparing MEPRON Suspension to dapsone or aerosolized pentamidine in HIV-infected

adult and adolescent patients at risk of PCP (CD4 count <200 cells/mm³ or a prior episode of PCP) and intolerant to TMP-SMX.

Dapsone Comparative Study: This randomized, open-label trial enrolled a total of 1,057 patients at 48 study centers. Patients were randomized to receive 1,500 mg MEPRON Suspension once daily (n = 536) or 100 mg dapsone once daily (n = 521). Median follow-up was 24 months. Patients randomized to the dapsone arm who were seropositive for *Toxoplasma gondii* and had a CD4 count <100 cells/mm³ also received pyrimethamine and folic acid. PCP event rates are shown in Table 3. There was no significant difference in mortality rates between the groups.

Aerosolized Pentamidine Comparative Study: This randomized, open-label trial enrolled a total of 549 patients at 35 study centers. Patients were randomized to receive 1,500 mg MEPRON Suspension once daily (n = 175), 750 mg MEPRON Suspension once daily (n = 188), or 300 mg aerosolized pentamidine once monthly (n = 186). Median follow-up was 11.3 months. The results of the PCP event rates appear in Table 3. There were no significant differences in mortality rates among the groups.

Table 3. Confirmed or Presumed/Probable PCP Events (As-Treated Analysis)*

Assessment	Study 115-211		Study 115-213		
	Atovaquone 1,500 mg/day (n = 527)	Dapsone 100 mg/day (n = 510)	Atovaquone 750 mg/day (n = 188)	Atovaquone 1,500 mg/day (n = 172)	Aerosolized Pentamidine 300 mg/month (n = 169)
%	15%	19%	23%	18%	17%
Relative Risk [†] (CI) [‡]	0.77 (0.57, 1.04)		1.47 (0.86, 2.50)	1.14 (0.63, 2.06)	

* Those events occurring during or within 30 days of stopping assigned treatment.

[†] Relative risk <1 favors atovaquone and values >1 favor comparator. These trials were designed to show superiority of atovaquone to the comparator. This was not shown.

[‡] The confidence level of the interval for the dapsone comparative study was 95% and for the pentamidine comparative study was 97.5%.

An analysis of all PCP events (intent-to-treat analysis) showed results similar to those above. **Treatment of PCP:** The indication for treatment of mild-to-moderate PCP is based on the results of comparative pharmacokinetic studies of the suspension and tablet formulations (see CLINICAL PHARMACOLOGY) and clinical efficacy studies of the tablet formulation which established a relationship between plasma atovaquone concentration and successful treatment. The results of a randomized, double-blind trial comparing MEPRON to TMP-SMX in AIDS patients with mild-to-moderate PCP (defined in the study protocol as an alveolar-arterial oxygen diffusion gradient [(A-a)DO₂]¹ ≤45 mm Hg and PaO₂ ≥60 mm Hg on room air) and a randomized trial comparing MEPRON to IV pentamidine isethionate in patients with mild-to-moderate PCP intolerant to trimethoprim or sulfa-antimicrobials are summarized below:

TMP-SMX Comparative Study: This double-blind, randomized trial initiated in 1990 was designed to compare the safety and efficacy of MEPRON to that of TMP-SMX for the treatment

of AIDS patients with histologically confirmed PCP. Only patients with mild-to-moderate PCP were eligible for enrollment.

A total of 408 patients were enrolled into the trial at 37 study centers. Eighty-six patients without histologic confirmation of PCP were excluded from the efficacy analyses. Of the 322 patients with histologically confirmed PCP, 160 were randomized to receive MEPRON and 162 to TMP-SMX.

Study participants randomized to treatment with MEPRON were to receive 750 mg MEPRON (three 250-mg tablets) 3 times daily for 21 days and those randomized to TMP-SMX were to receive 320 mg TMP plus 1,600 mg SMX 3 times daily for 21 days.

Therapy success was defined as improvement in clinical and respiratory measures persisting at least 4 weeks after cessation of therapy. Therapy failures included lack of response, treatment discontinuation due to an adverse experience, and unevaluable.

There was a significant difference (P = 0.03) in mortality rates between the treatment groups. Among the 322 patients with confirmed PCP, 13 of 160 (8%) patients treated with MEPRON and 4 of 162 (2.5%) patients receiving TMP-SMX died during the 21-day treatment course or 8-week follow-up period. In the intent-to-treat analysis for all 408 randomized patients, there were 16 (8%) deaths in the arm treated with MEPRON and 7 (3.4%) deaths in the TMP-SMX arm (P = 0.051). Of the 13 patients treated with MEPRON who died, 4 died of PCP and 5 died with a combination of bacterial infections and PCP; bacterial infections did not appear to be a factor in any of the 4 deaths among TMP-SMX-treated patients.

A correlation between plasma atovaquone concentrations and death was demonstrated; in general, patients with lower plasma concentrations were more likely to die. For those patients for whom day 4 plasma atovaquone concentration data are available, 5 (63%) of the 8 patients with concentrations <5 mcg/mL died during participation in the study. However, only 1 (2.0%) of the 49 patients with day 4 plasma atovaquone concentrations ≥5 mcg/mL died.

Sixty-two percent of patients on MEPRON and 64% of patients on TMP-SMX were classified as protocol-defined therapy successes (Table 4).

Table 4. Outcome of Treatment for PCP-Positive Patients Enrolled in the TMP-SMX Comparative Study

Outcome of Therapy*	Number of Patients (% of Total)				P Value
	MEPRON (n = 160)		TMP-SMX (n = 162)		
Therapy success	99	(62%)	103	(64%)	0.75
Therapy failure					
-Lack of response	28	(17%)	10	(6%)	<0.01
-Adverse experience	11	(7%)	33	(20%)	<0.01
-Unevaluable	22	(14%)	16	(10%)	0.28
Required alternate PCP therapy during study	55	(34%)	55	(34%)	0.95

* As defined by the protocol and described in study description above.

The failure rate due to lack of response was significantly larger for patients receiving MEPRON while the failure rate due to adverse experiences was significantly larger for patients receiving TMP-SMX.

There were no significant differences in the effect of either treatment on additional indicators of response (i.e., arterial blood gas measurements, vital signs, serum LDH levels, clinical symptoms, and chest radiographs).

Pentamidine Comparative Study: This unblinded, randomized trial initiated in 1991 was designed to compare the safety and efficacy of MEPRON to that of pentamidine for the treatment of histologically confirmed mild or moderate PCP in AIDS patients. Approximately 80% of the patients either had a history of intolerance to trimethoprim or sulfa-antimicrobials (the primary therapy group) or were experiencing intolerance to TMP-SMX with treatment of an episode of PCP at the time of enrollment in the study (the salvage treatment group).

Patients randomized to MEPRON were to receive 750 mg atovaquone (three 250-mg tablets) 3 times daily for 21 days and those randomized to pentamidine isethionate were to receive a 3- to 4-mg/kg single IV infusion daily for 21 days.

A total of 174 patients were enrolled into the trial at 22 study centers. Thirty-nine patients without histologic confirmation of PCP were excluded from the efficacy analyses. Of the 135 patients with histologically confirmed PCP, 70 were randomized to receive MEPRON and 65 to pentamidine. One hundred and ten (110) of these were in the primary therapy group and 25 were in the salvage therapy group. One patient in the primary therapy group randomized to receive pentamidine did not receive study medication.

There was no difference in mortality rates between the treatment groups. Among the 135 patients with confirmed PCP, 10 of 70 (14%) patients randomized to MEPRON and 9 of 65 (14%) patients randomized to pentamidine died during the 21-day treatment course or 8-week follow-up period. In the intent-to-treat analysis for all randomized patients, there were 11 (12.5%) deaths in the arm treated with MEPRON and 12 (14%) deaths in the pentamidine arm. For those patients for whom day 4 plasma atovaquone concentrations are available, 3 of 5 (60%) patients with concentrations <5 mcg/mL died during participation in the study. However, only 2 of 21 (9%) patients with day 4 plasma concentrations ≥5 mcg/mL died.

The therapeutic outcomes for the 134 patients who received study medication in this trial are presented in Table 5.

Table 5. Outcome of Treatment for PCP-Positive Patients Enrolled in the Pentamidine Comparative Study

Outcome of Therapy	Primary Treatment				P Value	Salvage Treatment				
	MEPRON (n = 56)		Pentamidine (n = 53)			MEPRON (n = 14)		Pentamidine (n = 11)		
Therapy success	32	(57%)	21	(40%)	0.09	13	(93%)	7	(64%)	0.14
Therapy failure										
-Lack of response	16	(29%)	9	(17%)	0.18	0		0		—
-Adverse experience	2	(3.6%)	19	(36%)	<0.01	0		3	(27%)	0.07
-Unevaluable	6	(11%)	4	(8%)	0.75	1	(7%)	1	(9%)	1.00
Required alternate PCP therapy during study	19	(34%)	29	(55%)	0.04	0		4	(36%)	0.03

CONTRAINDICATIONS

MEPRON Suspension is contraindicated for patients who develop or have a history of potentially life-threatening allergic reactions to any of the components of the formulation.

WARNINGS

Clinical experience with MEPRON for the treatment of PCP has been limited to patients with mild-to-moderate PCP [(A-a)DO₂ ≤45 mm Hg]. Treatment of more severe episodes of PCP has not been systematically studied with this agent. Also, the efficacy of MEPRON in patients who are failing therapy with TMP-SMX has not been systematically studied.

PRECAUTIONS

General: Absorption of orally administered MEPRON is limited but can be significantly increased when the drug is taken with food. Plasma atovaquone concentrations have been shown to correlate with the likelihood of successful treatment and survival. Therefore, parenteral therapy with other agents should be considered for patients who have difficulty taking MEPRON with food (see CLINICAL PHARMACOLOGY). Gastrointestinal disorders may limit absorption of orally administered drugs. Patients with these disorders also may not achieve plasma concentrations of atovaquone associated with response to therapy in controlled trials.

Based upon the spectrum of in vitro antimicrobial activity, atovaquone is not effective therapy for concurrent pulmonary conditions such as bacterial, viral, or fungal pneumonia or mycobacterial diseases. Clinical deterioration in patients may be due to infections with other pathogens, as well as progressive PCP. All patients with acute PCP should be carefully evaluated for other possible causes of pulmonary disease and treated with additional agents as appropriate.

If it is necessary to treat patients with severe hepatic impairment, caution is advised and administration should be closely monitored.

Information for Patients: The importance of taking the prescribed dose of MEPRON should be stressed. Patients should be instructed to take their daily doses of MEPRON with meals, as the presence of food will significantly improve the absorption of the drug.

Drug Interactions: Atovaquone is highly bound to plasma protein (>99.9%). Therefore, caution should be used when administering MEPRON concurrently with other highly plasma protein-bound drugs with narrow therapeutic indices, as competition for binding sites may occur.

The extent of plasma protein binding of atovaquone in human plasma is not affected by the presence of therapeutic concentrations of phenytoin (15 mcg/mL), nor is the binding of phenytoin affected by the presence of atovaquone.

Rifampin: Coadministration of rifampin and MEPRON Suspension results in a significant decrease in average steady-state plasma atovaquone concentrations (see CLINICAL PHARMACOLOGY: Drug Interactions). Alternatives to rifampin should be considered during the course of PCP treatment with MEPRON.

Rifabutin, another rifamycin, is structurally similar to rifampin and may possibly have some of the same drug interactions as rifampin. No interaction trials have been conducted with MEPRON and rifabutin.

Drug/Laboratory Test Interactions: It is not known if MEPRON interferes with clinical laboratory test or assay results.

Carcinogenesis, Mutagenesis, Impairment of Fertility: Carcinogenicity studies in rats were negative; 24-month studies in mice showed treatment-related increases in incidence of hepatocellular adenoma and hepatocellular carcinoma at all doses tested which ranged from 1.4 to 3.6 times the average steady-state plasma concentrations in humans during acute treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia. Atovaquone was negative with or without metabolic activation in the Ames Salmonella mutagenicity assay, the Mouse Lymphoma mutagenicity assay, and the Cultured Human Lymphocyte cytogenetic assay. No evidence of genotoxicity was observed in the in vivo Mouse Micronucleus assay.

Pregnancy: Pregnancy Category C. Atovaquone was not teratogenic and did not cause reproductive toxicity in rats at plasma concentrations up to 2 to 3 times the estimated human exposure. Atovaquone caused maternal toxicity in rabbits at plasma concentrations that were approximately one half the estimated human exposure. Mean fetal body lengths and weights were decreased and there were higher numbers of early resorption and post-implantation loss per dam. It is not clear whether these effects were caused by atovaquone directly or were secondary to maternal toxicity. Concentrations of atovaquone in rabbit fetuses averaged 30% of the concurrent maternal plasma concentrations. In a separate study in rats given a single ¹⁴C-radiolabelled dose, concentrations of radiocarbon in rat fetuses were 18% (middle gestation) and 60% (late gestation) of concurrent maternal plasma concentrations. There are no adequate and well-controlled studies in pregnant women. MEPRON should be used during pregnancy only if the potential benefit justifies the potential risk to the fetus.

Nursing Mothers: It is not known whether atovaquone is excreted into human milk. Because many drugs are excreted into human milk, caution should be exercised when MEPRON is administered to a nursing woman. In a rat study, atovaquone concentrations in the milk were 30% of the concurrent atovaquone concentrations in the maternal plasma.

Pediatric Use: Evidence of safety and effectiveness in pediatric patients has not been established. A relationship between plasma atovaquone concentrations and successful treatment of PCP has been established in adults (see Table 2). In a study of MEPRON Suspension in 27 HIV-infected, asymptomatic infants and children between 1 month and 13 years of age, the pharmacokinetics of atovaquone were age-dependent (see CLINICAL PHARMACOLOGY: Special Populations). No drug-related treatment-limiting adverse events were observed in the pharmacokinetic study.

Geriatric Use: Clinical studies of MEPRON did not include sufficient numbers of subjects aged 65 and over to determine whether they respond differently from younger subjects. Other reported clinical experience has not identified differences in responses between the elderly and

9

younger patients. In general, dose selection for an elderly patient should be cautious, reflecting the greater frequency of decreased hepatic, renal, or cardiac function, and of concomitant disease or other drug therapy.

ADVERSE REACTIONS

Because many patients who participated in clinical trials with MEPRON had complications of advanced HIV disease, it was often difficult to distinguish adverse events caused by MEPRON from those caused by underlying medical conditions. There were no life-threatening or fatal adverse experiences caused by MEPRON.

PCP Prevention Studies: In the dapson comparative study of MEPRON Suspension, adverse experience data were collected only for treatment-limiting events. Among the entire population (n = 1,057), treatment-limiting events occurred at similar frequencies in patients treated with MEPRON Suspension or dapsone (Table 6). Among patients who were taking neither dapsone nor atovaquone at enrollment (n = 487), treatment-limiting events occurred in 43% of patients treated with dapsone and 20% of patients treated with MEPRON Suspension (P < 0.001). In both populations, the type of treatment-limiting events differed between the 2 treatment arms. Hypersensitivity reactions (rash, fever, allergic reaction) and anemia were more common in patients treated with dapsone, while gastrointestinal events (nausea, diarrhea, and vomiting) were more common in patients treated with MEPRON Suspension.

Table 6. Treatment-Limiting Adverse Experiences in the Dapsone Comparative PCP Prevention Study

Treatment-Limiting Adverse Experience	Percentage of Patients with Treatment-Limiting Adverse Experience			
	All Patients		Patients Not Taking Either Drug at Enrollment	
	MEPRON 1,500 mg/day (n = 536)	Dapsone 100 mg/day (n = 521)	MEPRON 1,500 mg/day (n = 238)	Dapsone 100 mg/day (n = 249)
Any event	24.4%	25.9%	20.2%	43.4%
Rash	6.3%	8.8%	7.6%	16.1%
Nausea	4.1%	0.6%	2.5%	0.8%
Diarrhea	3.2%	0.2%	2.1%	0.4%
Vomiting	2.2%	0.6%	1.3%	0.8%
Allergic reaction	1.1%	2.9%	0.8%	4.8%
Fever	0.6%	2.9%	0%	5.6%
Anemia	0%	1.5%	0%	2.0%

Table 7 summarizes the clinical adverse experiences reported by ≥20% of patients in any group in the aerosolized pentamidine comparative study of MEPRON Suspension (n = 549), regardless of attribution. The incidence of adverse experiences at the recommended dose was similar to that seen with aerosolized pentamidine. Rash was the only individual adverse experience that occurred significantly more commonly in patients treated with both dosages of MEPRON Suspension (39% to 46%) than in patients treated with aerosolized pentamidine

10

(28%). Among patients treated with MEPRON Suspension, there was no evidence of a dose-related increase in the incidence of adverse experiences. Treatment-limiting adverse experiences occurred less often in patients treated with aerosolized pentamidine (7%) than in patients treated with 1,500 mg MEPRON Suspension once daily (25%, P ≤ 0.001) or 750 mg MEPRON Suspension once daily (16%, P = 0.004). The most common adverse experiences requiring discontinuation of dosing in the group receiving 1,500 mg MEPRON Suspension once daily were rash (6%), diarrhea (4%), and nausea (3%). The most common adverse experience requiring discontinuation of dosing in the group receiving aerosolized pentamidine was bronchospasm (2%).

Table 7. Treatment-Emergent Adverse Experiences in the Aerosolized Pentamidine Comparative PCP Prevention Study

Treatment-Emergent Adverse Experience	Percentage of Patients with Treatment-Emergent Adverse Experience		
	MEPRON 1,500 mg/day (n = 175)	MEPRON 750 mg/day (n = 188)	Aerosolized Pentamidine (n = 186)
Diarrhea	42%	42%	35%
Rash	39%	46%	28%
Headache	28%	31%	22%
Nausea	26%	32%	23%
Cough increased	25%	25%	31%
Fever	25%	31%	18%
Rhinitis	24%	18%	17%
Asthenia	22%	31%	31%
Infection	22%	18%	19%
Abdominal pain	20%	21%	20%
Dyspnea	15%	21%	16%
Vomiting	15%	22%	11%
Patients discontinuing therapy due to an adverse experience	25%	16%	7%
Patients reporting at least 1 adverse experience	98%	96%	89%

Other events occurring in ≥10% of the patients receiving the recommended dose of MEPRON included sweating, flu syndrome, pain, sinusitis, pruritus, insomnia, depression, and myalgia. Bronchospasm occurred more frequently in patients receiving aerosolized pentamidine (11%) than in patients receiving MEPRON 1,500 mg/day (4%) and MEPRON 750 mg/day (2%).

Neither MEPRON nor aerosolized pentamidine was associated with a substantial change from baseline values in any measured laboratory parameter, nor were there any significant differences in any measured laboratory parameter between MEPRON and aerosolized pentamidine. Some patients had laboratory abnormalities considered serious by the investigator or that contributed to discontinuation of therapy.

11

PCP Treatment Studies: Table 8 summarizes all the clinical adverse experiences reported by ≥5% of the study population during the TMP-SMX comparative study of MEPRON (n = 408), regardless of attribution. The incidence of adverse experiences with MEPRON Suspension at the recommended dose was similar to that seen with the tablet formulation of atovaquone.

Table 8. Treatment-Emergent Adverse Experiences in the TMP-SMX Comparative PCP Treatment Study

Treatment-Emergent Adverse Experience	Percentage of Patients with Treatment-Emergent Adverse Experience	
	MEPRON (n = 203)	TMP-SMX (n = 205)
Rash (including maculopapular)	23%	34%
Nausea	21%	44%
Diarrhea	19%	7%
Headache	16%	22%
Vomiting	14%	35%
Fever	14%	25%
Insomnia	10%	9%
Asthenia	8%	8%
Pruritus	5%	9%
Monilia, oral	5%	10%
Abdominal pain	4%	7%
Constipation	3%	17%
Dizziness	3%	8%
Patients discontinuing therapy due to an adverse experience	9%	24%
Patients reporting at least 1 adverse experience	63%	65%

Although an equal percentage of patients receiving MEPRON and TMP-SMX reported at least 1 adverse experience, more patients receiving TMP-SMX required discontinuation of therapy due to an adverse event. Twenty-four percent of patients receiving TMP-SMX were prematurely discontinued from therapy due to an adverse experience versus 9% of patients receiving MEPRON. Four percent of patients receiving MEPRON had therapy discontinued due to development of rash. The majority of cases of rash among patients receiving MEPRON were mild and did not require the discontinuation of dosing. The only other clinical adverse experience that led to premature discontinuation of dosing of MEPRON by more than 1 patient was vomiting (<1%). The most common adverse experience requiring discontinuation of dosing in the TMP-SMX group was rash (8%).

Laboratory test abnormalities reported for ≥5% of the study population during the treatment period are summarized in Table 9. Two percent of patients treated with MEPRON and 7% of patients treated with TMP-SMX had therapy prematurely discontinued due to elevations in ALT/AST. In general, patients treated with MEPRON developed fewer abnormalities in

12

measures of hepatocellular function (ALT, AST, alkaline phosphatase) or amylase values than patients treated with TMP-SMX.

Table 9. Treatment-Emergent Laboratory Test Abnormalities in the TMP-SMX Comparative PCP Treatment Study

Laboratory Test Abnormality	Percentage of Patients Developing a Laboratory Test Abnormality	
	MEPRON	TMP-SMX
Anemia (Hgb<8.0 g/dL)	6%	7%
Neutropenia (ANC<750 cells/mm ³)	3%	9%
Elevated ALT (>5 x ULN)	6%	16%
Elevated AST (>5 x ULN)	4%	14%
Elevated alkaline phosphatase (>2.5 x ULN)	8%	6%
Elevated amylase (>1.5 x ULN)	7%	12%
Hyponatremia (<0.96 x LLN)	7%	26%

ULN = upper limit of normal range.
LLN = lower limit of normal range.

Table 10 summarizes the clinical adverse experiences reported by ≥5% of the primary therapy study population (n = 144) during the comparative trial of MEPRON and intravenous pentamidine, regardless of attribution. A slightly lower percentage of patients who received MEPRON reported occurrence of adverse events than did those who received pentamidine (63% vs 72%). However, only 7% of patients discontinued treatment with MEPRON due to adverse events, while 41% of patients who received pentamidine discontinued treatment for this reason (P<0.001). Of the 5 patients who discontinued therapy with MEPRON, 3 reported rash (4%). Rash was not severe in any patient. No other reason for discontinuation of MEPRON was cited more than once. The most frequently cited reasons for discontinuation of pentamidine therapy were hypoglycemia (11%) and vomiting (9%).

Table 10. Treatment-Emergent Adverse Experiences in the Pentamidine Comparative PCP Treatment Study (Primary Therapy Group)

Treatment-Emergent Adverse Experience	Percentage of Patients with Treatment-Emergent Adverse Experience	
	MEPRON (n = 73)	Pentamidine (n = 71)
Fever	40%	25%
Nausea	22%	37%
Rash	22%	13%
Diarrhea	21%	31%
Insomnia	19%	14%
Headache	18%	28%
Vomiting	14%	17%
Cough	14%	1%
Abdominal pain	10%	11%
Pain	10%	10%
Sweat	10%	3%
Monilia, oral	10%	3%
Asthenia	8%	14%
Dizziness	8%	14%
Anxiety	7%	10%
Anorexia	7%	10%
Sinusitis	7%	6%
Dyspepsia	5%	10%
Rhinitis	5%	7%
Taste perversion	3%	13%
Hypoglycemia	1%	15%
Hypotension	1%	10%
Patients discontinuing therapy due to an adverse experience	7%	41%
Patients reporting at least 1 adverse experience	63%	72%

Laboratory test abnormalities reported in ≥5% of patients in the pentamidine comparative study are presented in Table 11. Laboratory abnormality was reported as the reason for discontinuation of treatment in 2 of 73 patients who received MEPRON. One patient (1%) had elevated creatinine and BUN levels and 1 patient (1%) had elevated amylase levels. Laboratory abnormalities were the sole or contributing factor in 14 patients who prematurely discontinued pentamidine therapy. In the 71 patients who received pentamidine, laboratory parameters most frequently reported as reasons for discontinuation were hypoglycemia (11%), elevated creatinine levels (6%), and leukopenia (4%).

Table 11. Treatment-Emergent Laboratory Test Abnormalities in the Pentamidine Comparative PCP Treatment Study

Laboratory Test Abnormality	Percentage of Patients Developing a Laboratory Test Abnormality	
	MEPRON	Pentamidine
Anemia (Hgb<8.0 g/dL)	4%	9%
Neutropenia (ANC<750 cells/mm ³)	5%	9%
Hyponatremia (<0.96 x LLN)	10%	10%
Hyperkalemia (>1.18 x ULN)	0%	5%
Alkaline phosphatase (>2.5 x ULN)	5%	2%
Hyperglycemia (>1.8 x ULN)	9%	13%
Elevated AST (>5 x ULN)	0%	5%
Elevated amylase (>1.5 x ULN)	8%	4%
Elevated creatinine (>1.5 x ULN)	0%	7%

ULN = upper limit of normal range.
LLN = lower limit of normal range.

Observed During Clinical Practice: In addition to adverse events reported from clinical trials, the following events have been identified during post-approval use of MEPRON. Because they are reported voluntarily from a population of unknown size, estimates of frequency cannot be made. These events have been chosen for inclusion due to a combination of their seriousness, frequency of reporting, or potential causal connection to MEPRON.

Blood and Lymphatic System Disorders: Methemoglobinemia, thrombocytopenia.

Immune System Disorders: Hypersensitivity reactions including angioedema,

bronchospasm, and throat tightness.

Eye Disorders: Vortex keratopathy.

Gastrointestinal Disorders: Pancreatitis.

Skin and Subcutaneous Tissue Disorders: Erythema multiforme.

Renal and Urinary Disorders: Acute renal impairment.

OVERDOSAGE

There is no known antidote for atovaquone, and it is currently unknown if atovaquone is dialyzable. The median lethal dose is higher than the maximum oral dose tested in mice and rats (1,825 mg/kg/day). Overdoses up to 31,500 mg of atovaquone have been reported. In 1 such patient who also took an unspecified dose of dapsone, methemoglobinemia occurred. Rash has also been reported after overdose.

DOSAGE AND ADMINISTRATION

Dosage: Prevention of PCP: Adults and Adolescents (13 to 16 Years): The recommended oral dose is 1,500 mg (10 mL) once daily administered with a meal.

Treatment of Mild-to-Moderate PCP: Adults and Adolescents (13 to 16 Years): The recommended oral dose is 750 mg (5 mL) administered with meals twice daily for 21 days (total daily dose 1,500 mg).

Note: Failure to administer MEPRON Suspension with meals may result in lower plasma atovaquone concentrations and may limit response to therapy (see CLINICAL PHARMACOLOGY and PRECAUTIONS).
Administration: Foil Pouch: Open pouch by removing tab at perforation and tear at notch. Take entire contents by mouth. Can be discharged into a dosing spoon or cup or directly into the mouth.

Bottle: SHAKE BOTTLE GENTLY BEFORE USING.

HOW SUPPLIED

MEPRON Suspension (bright yellow, citrus flavored) containing 750 mg atovaquone in each teaspoonful (5 mL).

Bottle of 210 mL with child-resistant cap (NDC 0173-0665-18).

Store at 15° to 25°C (59° to 77°F). DO NOT FREEZE. Dispense in tight container as defined in USP.

5-mL child-resistant foil pouch - unit dose pack of 42 (NDC 0173-0547-00).

Store at 15° to 25°C (59° to 77°F). DO NOT FREEZE.

$$^1(A-a)DO_2 = [(713 \times FiO_2) - (PaCO_2/0.8)] - PaO_2 \text{ (mm Hg)}$$




GlaxoSmithKline
Research Triangle Park, NC 27709

©2006, GlaxoSmithKline. All rights reserved.

November 2006

RL-2331

Animal Health is our only Concern

 Bimeda Export

- Cattle
- Pigs
- Sheep
- Horses
- Dogs
- Lambs
- Goats
- Calves
- Foals
- Cats
- Poultry
- Chickens
- Swine
- Turkeys
- Dairy Cows
- Camels
- Animal housing
- Piglets
- Kids
- Chickens and other poultry
- All species
- Cows
- Mares
- Sows
- Ewes
- Ponies
- General disinfecting agent
- Topical disinfectant
- Cold sterilant
- Contact disinfectant



Fruvexon

ID	Name	Pack Size	Case Size	Skid Qty
81a	Fruvexon	50 ml 100 ml		



Product Search

Select Species and click GO to list or further refine by Category and then by Product

Contents

A potent injection treatment for theileriosis particularly for advanced cases with pulmonary oedema containing in each ml Parvaquone 150 mg and Frusemide 55 mg. Parvaquone is theilericidal acting on schizont and piroplasms Frusemide is a diuretic which relieves pulmonary oedema. Pulmonary and other acute symptoms are usually resolved after two injections but parasitic cure may require at least 4 injections. Daily treatment should be continued until parasitic cure is complete to reduce the risk of flare-up of the infection after apparent cure.

Indications

By i-m injection 1 ml - 30 Kg daily for 4 days

* CAUTION:

Where drug name is marked with * Federal law restricts this drug to use by or on the order of a licensed veterinarian.

Animal Health is our only Concern

Bimeda Export

- Cattle
- Pigs
- Sheep
- Horses
- Dogs
- Lambs
- Goats
- Calves
- Foals
- Cats
- Poultry
- Chickens
- Swine
- Turkeys
- Dairy Cows
- Camels
- Animal housing
- Piglets
- Kids
- Chickens and other poultry
- All species
- Cows
- Mares
- Sows
- Ewes
- Ponies
- General disinfecting agent
- Topical disinfectant
- Cold sterilant
- Contact disinfectant



Parvexon

ID	Name	Pack Size	Case Size	Skid Qty
82a	Parvexon	12 x 50 ml vials	12 x 100 ml vials	



Product Search

Select Species and click GO to list or further refine by Category and then by Product

Select Species First

Refine By Category

Refine By Product

Contents

A potent theilericide containing in each ml Parvaquone 150 mg. It is effective in the treatment of the piroplasm and schizont stages of Theileria. The product may be used both in animals showing clinical signs and also infected animals which have not yet displayed clinical signs.

Indications

By i-m injection 1 ml - 15 Kg
Repeat after 48 hours

* CAUTION:
Where drug name is marked with * Federal law restricts this drug to use by or on the order of a licensed veterinarian.



REALTOR LINKS
Sell/Buy, lands, plots, for
Residences, Offices and
godown at Hyderabad

www.searchindiajobs.com
Pharma, Veterinary, Chemical
Bulk Drug Industry Jobs.

www.yourhitechcity.com
To Sell / Buy

Site Navigation

- Home
- Bulk Drugs
- Dogs
- Classifieds
- Medicines
- Yellow Pages
- Pharma Machinery
- Lab Equipments
- Articles
- Newsletter
- Sub Menu**
- About Us
- Contact Us
- Feedback
- Technical Panel
- New Launches
- Payment Options
- Sitemap

Platinum Sponsors



Diamond Sponsors



Gold Sponsors

- NIULABS
- D.H.Organics
- Kathya Homeo Labs
- Bhogadi Kennels
- Front Line Kennels
- Sark Veterinary
- Vulcan Laboratories
- Naveen Farms
- Viskaan Pharma

User Tools

- Email this page
- Subscribe to newsletter
- Translate this page

Advertisements

- Syringes from Argentina
- Manne Papers Ltd

BUTALEX Profile

Product

BUTALEX

Company

Sarabhai Zydu
 Animal Health Limited

Group

Patent Allopathic
 Drugs

Subgroup

Anti
 haemoprotzoans
 Drugs

Main Combination

Buparvaquone

Storage

Room Temperature

Type

Injection

Packing

Packing 20 ml
 Mrp Rs 0
 Tax + inc.tax

Indication

Butalex is indicated for the treatment of theileriosis in exotic as well as cross bred cattle and calves, caused by strains of T.annulata and T.orientalis(seargenti)

Butalex is active against both the schizont and piroplasm stages of theileria species and may be used in the incubation period of the disease or when clinical signs are apparent. Treatment with Butalex should be given to clinically affected animals and to in-contact animals which may be infected but are not showing clinical signs.

Send Product Enquiry

No Image Found

**To publish the product
 image please mail to
 medicines@poulvet.com**

Sponsors

Naveen Farms

Advertisements

Composition

Each ml contains:

Buparvaquone : 50
mg
(in a solvent vehicle)

Dosage**Canine:**

N/A

Sheep

N/A

Poultry

N/A

Large Animals

1 ml per 20 kg b.w. by I/M route

A single injection of 1 ml Butalex per 20 kg b.w. (2.5 mg buparvaquone per kg) is usually sufficient.

In severe cases, a further treatment with Butalex, at the same dose rate of 1 ml per 20 kg b.w. may be required. Normally this should be given within 48-72 hours of the initial injection.

Others

1 ml per 20 kg b.w. by I/M route

A single injection of 1 ml Butalex per 20 kg b.w. (2.5 mg buparvaquone per kg) is usually sufficient.

In severe cases, a further treatment with Butalex, at the same dose rate of 1 ml per 20 kg b.w. may be required. Normally this should be given within 48-72 hours of the initial injection.

Administration

By I/M route

Advantages

N/A

Precautions

Butalex should not be given by intravenous or subcutaneous injection. Localised, painless, oedematous, swelling may occasionally be seen at the injection site especially in thin skinned animals.

Milk taken from lactating animals during the 48 hours immediately, following the treatment with Butalex should not be used for human consumption. Animals should not be slaughtered for human consumption within 42 days of the last treatment.

[Go Back](#)