

Prodrugs nichtsteroidaler Antirheumatika, 3. Mitt.¹⁾:

Synthese und Hydrolyse von Acyloxy-2-oxopropanen

Gerhard Schwenker* und Karlheinz Stiefvater²⁾

Pharmazeutisch-chemisches Institut der Universität Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 364, 6900 Heidelberg

Eingegangen am 23. Juli 1990

Als potentielle Prodrugs saurer nichtsteroidaler Antirheumatika werden deren 2-Oxopropylester untersucht. Die Ester sind durch eine hohe chemische Labilität bei pH 7.4 gekennzeichnet, während sie bei pH < 7 über eine höhere Stabilität verfügen. Die Geschwindigkeit der nicht-enzymatischen Hydrolyse der Ester bei pH 7.4 (37°C) ist abhängig von den sterischen und elektronischen Effekten, die vom jeweiligen Acyloxyrest ausgeht.

Synthesis and Hydrolysis of Acyloxy-2-oxopropanes

2-Oxopropylesters are examined as potential prodrugs of acidic non-steroidal anti-inflammatory drugs. The esters are characterized by a high degree of chemical lability at pH 7.4 (37°C) while exhibiting a higher stability at pH < 7. The rate of the non-enzymatic hydrolysis at pH 7.4 is dependent on steric and electronic effects which can be contributed to the particular acyloxy-rest.

Durch die Überführung nichtsteroidaler Antirheumatika (NSAR) in die jeweiligen Ester kann man den therapeutischen Nutzen dieser Verbindungen vergrößern, da die Ester einerseits gegenüber den freien Säuren gewöhnlich über eine geringere Ulzerogenität verfügen³⁾ und andererseits aufgrund der größeren Lipophilie der Prodrugs eine bessere Resorption nach kutaner Applikation zu erwarten ist⁴⁾. Ein wesentliches Kriterium für die Eignung eines Esters als Prodrug⁵⁾ für NSAR ist die rasche Hydrolysierbarkeit der Esterbindung unter physiologischen Bedingungen nach der Resorption, wobei die Esterspaltung auf enzymatischem Weg bzw. bei entspr. labilen Estern auch nichtenzymatisch erfolgen kann. Hinsichtlich des zuletzt genannten Wegs wären, insbesondere im Hinblick auf die topische Anwendung, Estertypen ideal, die beim schwach sauren pH-Wert der Haut stabil sind, jedoch leicht beim pH-Wert des Blutes von pH 7.4 hydrolysiert werden.

Die ungewöhnlich leichte Hydrolysierbarkeit der Ester von α -Hydroxyketonen in schwach alkalischem Milieu ist seit langem bekannt⁶⁾. So fand Schwyzer, daß der Hippursäure-2-oxopropylester ca. achtmal schneller alkalisch hydrolysiert wird als der entsprechende Cyanmethylester⁷⁾. Die zunächst dafür verantwortlich gemachten polaren Effekte des Alkohols erwiesen sich bei genauer Betrachtung als nicht ursächlich, da die Cyanmethylgruppe stärker elektronenziehend ist als die Acetylgruppe, wodurch gerade das umgekehrte Verhalten bei rein induktivem Einfluß zu erwarten gewesen wäre. Entscheidend bei der Hydrolyse dieser 2-Oxopropylester ist die Ausbildung einer cyclischen Zwischenstufe durch Angriff des Ketocarbonsauerstoffs auf die Estergruppe⁸⁾ mit anschließender Wanderung des Acylrestes, wobei ein Halbacylal entsteht (Schema 1). Halbacylale sind, von Ausnahmen wie z.B. den cyclischen Lactolen abgesehen, normalerweise sehr instabil, so daß die nachfolgende Säurefreisetzung sehr schnell erfolgen sollte.

Da für die Ausbildung der cyclischen Zwischenstufe die Addition eines Hydroxidions an die Ketogruppe im Alkoholteil erforderlich ist, sollten diese Ester bei pH-Werten < 7 wesentlich stabiler sein als im schwach Alkalischen.

Zur Untersuchung des Einflusses des Acyloxyrestes auf die Hydrolyse wurden die Carbonsäuren 1a-9a in die 2-Oxopropylester 1b-9b überführt.

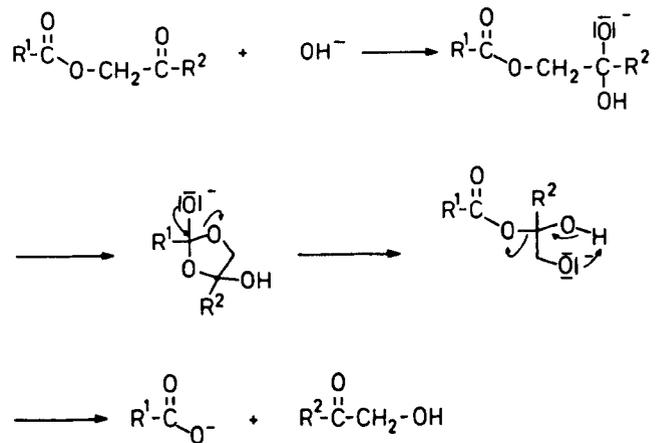
Der Salicylsäureester 7b⁹⁾ sowie der Benzoessäureester 8b⁸⁾ wurden als Vergleichssubstanzen für das Acetylsalicylsäurederivat 6b¹⁰⁾ synthetisiert.

Die Darstellung der Verbindungen ist, abgesehen von 1b, 2b, 4b und 5b durch Reaktion von Chloraceton mit den jeweiligen Triethylammoniumsalzen der Carbonsäuren in

Aceton bei Raumtemp. möglich, während bei 1b, 2b, 4b und 5b die Reaktionslösungen unter Rückfluß erhitzt werden mußten.

Die Hydrolyse der 2-Oxopropylester sollte je nach sterischen und elektronischen Einflüssen des Acyloxyteils unterschiedlich schnell ablaufen. Zur quantitativen Analyse der jeweiligen Reaktionslösung wurde die HPLC-Methode angewandt. Die Hydrolyse erfolgte bei allen untersuchten Verbindungen in einer Reaktion pseudoerster Ordnung (Gl. 1).

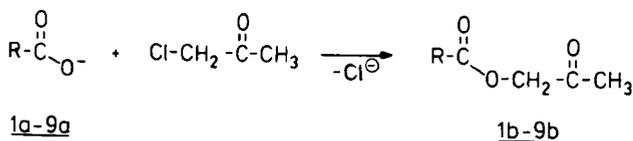
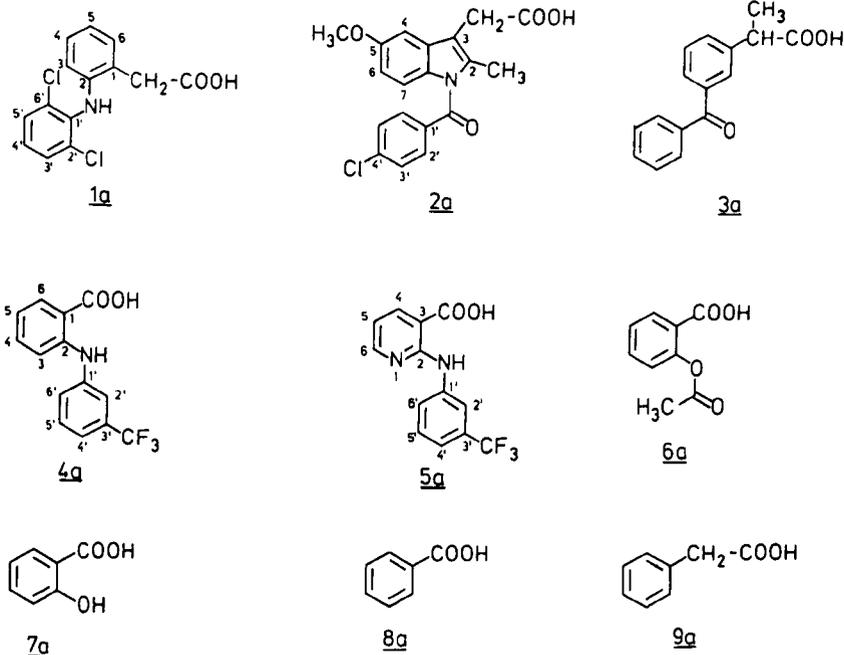
$$\ln c = \ln c_0 - k \cdot t \quad (1)$$



Schema 1: Hydrolyse von 2-Oxopropylestern

Tab. 1: Synthetisierte Prodrugs 1b-9b

| | derivatisierte Carbonsäure | Reaktionsbedingungen | Ausbeute in % |
|----|----------------------------|----------------------|---------------|
| 1b | 1a (Diclofenac) | Rückfl., 9 h | 56 |
| 2b | 2a (Indometacin) | Rückfl., 7 h | 62 |
| 3b | 3a (Ketoprofen) | Raumtemp., 24 h | 65 |
| 4b | 4a (Flufenaminsäure) | Rückfl., 9 h | 65 |
| 5b | 5a (Nifluminsäure) | Rückfl., 5 h | 53 |
| 6b | 6a (Acetylsalicylsäure) | Raumtemp., 24 h | 58 |
| 7b | 7a (Salicylsäure) | Raumtemp., 4 Tage | 51 |
| 8b | 8a (Benzoessäure) | Raumtemp., 24 h | 70 |
| 9b | 9a (Phenyllessigsäure) | Raumtemp., 24 h | 61 |



Die Ester **3b**, **6b**, **8b** und **9b** konnten aufgrund ausreichender Wasserlöslichkeit in Pufferlösungen ohne Zusatz von org. Lösungsmitteln bei 37°C untersucht werden. Die entspr. Halbwertszeiten sind in Tab. 2 zusammengestellt. Der Ketoprofenester **3b** wird im Vergleich zum Phenylsigsäureester **9b** infolge der größeren sterischen Hinderung durch die zusätzliche Methylgruppe in α -Position zur Ester-carbonylgruppe bei pH 7.4 um den Faktor 2 langsamer hydrolysiert.

Tab. 2: Halbwertszeiten (Stunden) von **9b**, **3b**, **6b** und **8b** in verschiedenen Pufferlösungen (37°C; $\mu = 0.2$)

| | 9b | 3b | 6b | 8b |
|--------|-------------------------|-----------|-----------|-----------|
| pH 8.0 | 0.58 | 1.30 | 2.20 | - |
| pH 7.4 | 2.05 | 4.20 | 7.10 | 15.80 |
| pH 6.0 | 67.10 | 275.00 | 123.00 | - |
| pH 5.0 | | | 771.00 | - |
| pH 4.0 | keine Abnahme nach 50 h | | - | |
| pH 3.0 | | - | | |
| pH 2.0 | | 504.00 | - | |
| pH 1.0 | - | - | 48.50 | - |

Die Hydrolyse des Acetylsalicylsäurederivates **6b** bei pH 7.4 verlief mit einer Halbwertszeit von 7.1 h im Vergleich zu **3b** und **9b** überraschend langsam. Trotzdem wurde bei pH 7.4 bevorzugt Acetylsalicylsäure freigesetzt, aus der dann langsam Salicylsäure gebildet wurde (Abb. 1).

Der 2-Oxopropylester der Salicylsäure **7b** konnte sowohl bei pH 7.4 als auch bei pH 8.0 nur in Spuren nachgewiesen

werden. An sich könnte man für die langsame Hydrolyse von **6b** den Acetoxyrest in ortho-Position verantwortlich machen, da dieser durch sterische Wechselwirkung die Ausbildung der cyclischen Zwischenstufe behindern könnte. Ein Vergleich mit dem Benzoesäureester **8b**, dessen Halbwertszeit bei pH 7.4 mit 15.8 h noch größer ist, zeigt jedoch, daß die sterische Hinderung des ortho-Substituenten hierfür nicht verantwortlich ist.

Im Gegensatz zu **6b** wird bei **7b** die Estergruppe mit dem Phenylring mehr oder weniger in einer Ebene liegen, da dies mesomere Wechselwirkungen der Carbonylgruppe mit dem aromatischen System ermöglicht. Bei **6b** ist die Estergruppe durch den sterischen Einfluß des ortho-Substituenten wahrscheinlich aus dieser Ebene gedreht, wodurch ein Angriff an dieser Gruppe im Vergleich zu **8b** erleichtert sein sollte.

Im Säuren sind die Verhältnisse hinsichtlich der Selektivität der Esterspaltungen gerade umgekehrt. Während bei pH 6.0 neben dem Salicylsäureester **7b** noch Acetylsalicylsäure detektiert werden konnte, wurde ab pH-Werten < pH 6.0 lediglich **7b** als Hydrolyseprodukt gefunden. Dieses Verhalten von **6b** war nicht sonderlich überraschend, da der Nachbargruppeneffekt des 2-Oxopropylrestes erst durch Addition eines Hydroxidions an die Ketocarbonylfunktion ermöglicht wird.

7b zeigte übrigens ein interessantes Verhalten auf der RP-18-Säule: Entgegen der Erwartung hatte **7b** eine längere Retentionszeit als die acetylierte Verbindung. Wahrscheinlich wird der polare Charakter von **7b** durch Ausbildung einer intramolekularen H-Brücke zwischen der phenolischen OH-Gruppe und dem benachbarten Estercarbonylsauerstoff geschwächt.

Bei den schlecht wasserlöslichen Verbindungen **1b**, **2b**, **4b** und **5b** wurde die Stabilität in Pufferlösungen mit einem

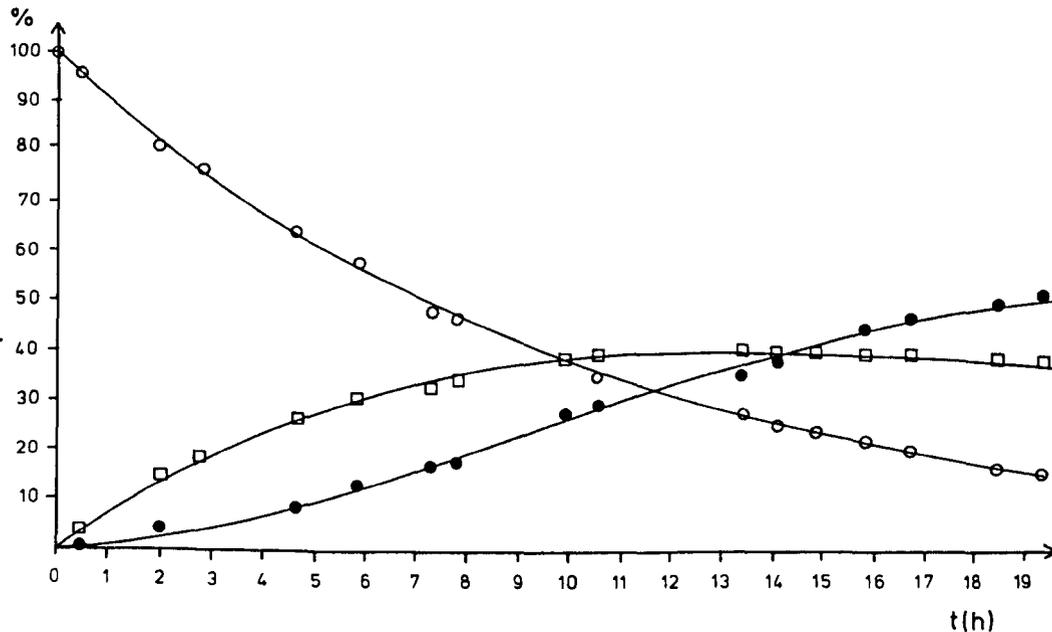


Abb. 1: c(%) - t Diagramm der Hydrolyse von 6b (O) bei pH 7.4 (37°C; $\mu = 0.2$); Acetylsalicylsäure 6a (□); Salicylsäure 7a (●).

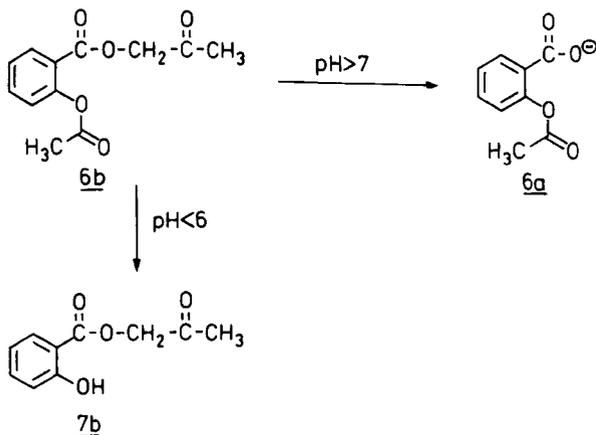


Abb. 2: Hydrolyse von 6b in Abhängigkeit vom pH-Wert.

Anteil von 10% Dioxan untersucht. Da durch den Zusatz von Dioxan die Hydrolyse verlangsamt wurde, erfolgten die Stabilitätsversuche nicht bei 37°C, sondern bei 57°C.

Die beiden Arylcarbonsäurederivate 4b und 5b werden analog zu 6b im Vergleich zu den Arylessigsäurederivaten 1b und 2b wesentlich langsamer hydrolysiert (vergl. Tab. 3).

Tab. 3: Halbwertszeiten (Minuten) von 1b, 2b, 4b und 5b bei verschiedenen pH-Werten unter Zusatz von 10% Dioxan; 57°C.

| | 1b | 2b | 4b | 5b |
|--------|-------|-------|--------|-------|
| pH 8.0 | 8.7 | 22.5 | 160.9 | 39.4 |
| pH 7.4 | 21.8 | 63.1 | 375.8 | 97.6 |
| pH 7.0 | 65.2 | 218.9 | 1300.5 | 273.0 |
| pH 6.0 | 565.9 | - | - | - |

Die raschere Hydrolyse des Nifluminsäurederivats 5b gegenüber dem sterisch gleichen Flufenaminsäureester 4b ist auf den elektronenziehenden Effekt zurückzuführen, der vom Pyridinring ausgeht.

Der Indometacinester 2b wird bei pH 7.4 um den Faktor 3 langsamer hydrolysiert als das Diclofenacderivat 1b. Mit Molekülmodellen kann man zeigen, daß bei 2b die sterischen Wechselwirkungen bei der Ausbildung der cyclischen Zwischenstufe größer sind als bei 1b. Der Methylester des Indometacins ist selbst in Gegenwart von Plasmaesternasen mit $t_{1/2} = 150$ h (80% Humanplasma; 37°C) wesentlich stabiler als 2b¹¹⁾. Um die außerordentliche Labilität dieser 2-Oxopropylester nochmals zu demonstrieren, wurde zusätzlich die Stabilität des Diclofenac-ethylesters¹²⁾ bei pH 7.4 unter gleichen Bedingungen wie 1b untersucht. Nach 19 h konnte weder eine Abnahme der Esterkonzentration noch die Freisetzung von Diclofenac nachgewiesen werden, während 1b unter diesen Bedingungen mit $t_{1/2} = 21.8$ min hydrolysiert wurde.

Die Hydrolyse der 2-Oxopropylester ist wie erwartet sensitiv gegenüber den sterischen und elektronischen Einflüssen des jeweiligen Acyloxyrestes. Gemeinsam ist allen untersuchten Verbindungen eine beachtliche Hydrolyseempfindlichkeit bereits bei schwach alkalischem pH-Wert (pH 7.4), während sie im Bereich zwischen pH 2.0 und pH 6.0 über eine hohe Stabilität verfügen.

Experimenteller Teil

Lsgm. wurden nach den üblichen Methoden gereinigt und getrocknet.- Sorbentien: Kieselgel der Fa. Macherey und Nagel (0.063 - 0.2 mm).- Schmp.: Kofler Heitzschmikroskop, unkorrigiert.- IR: Perkin-Elmer-Modell 325.- ¹H-NMR: 250.13 MHz (Bruker WH-250).- Elementaranalysen: Heraeus, automatischer C, H, N-Analysator.- HPLC: Pumpe Waters 6000 A; variabler UV-Durchflußdetektor Schöffel GM 770; Rheodyne Injektor; Autolab Minigrator, Physics.- Säule: Spherisorb C18-2, 4 x 250 mm, 5 μ m, Latek.- pH-Meter HI 8414, Hanna Instruments.

Allgemeine Darstellungsvorschrift für die Synthese von 1b-9b

10 mmol der jeweiligen Carbonsäure werden in 40 ml wasserfreiem Aceton mit 1.39 ml Triethylamin in die entspr. Triethylammoniumsalze

übergeführt. Zu dieser Lösung gibt man 1.6 ml (10 mmol) Chloracetone und läßt den Ansatz im Falle von **3b**, **6b**, **7b**, **8b** und **9b** bei Raumtemp. stehen, während bei **1b**, **2b**, **4b** und **5b** unter Rückfluß erhitzt wird (s.a. Tab. 1). Das ausgefallene Triethylammoniumchlorid wird abgesaugt, das Lösungsmittel i.Vak. abgezogen und der Rückstand in 50 ml Dichlormethan aufgenommen. Die Dichlormethanolösung wird nacheinander mit 20 ml Wasser, 20 ml 5 proz. NaHCO₃-Lösung, 20 ml 10 proz. HCl und 20 ml Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i.Vak. abgezogen. Der Rückstand wird im Falle fester Produkte durch Umkristallisation gereinigt. Ansonsten erfolgt die Reinigung destillativ (**8b**, **9b**) oder sc (**3b**) an Kieselgel mit Dichlormethan.

2-[(2,6-Dichlorphenyl)amino]phenyllessigsäure-2-oxopropylester (1b)
(Diclofenacester)

Ausb. 1.97 g (56%); Schmp. 83°C (Isopropanol/Hexan).- IR (KBr): $\nu = 3330$; 3320; 1749; 1728; 1590; 1582; 1569; 775; 746 cm⁻¹.- ¹H-NMR ([D₆]-DMSO): δ (ppm) = 2.09 (s; 3H, CO-CH₃), 3.91 (s; 2H, Aryl-CH₂), 4.83 (s; 2H, CH₂-CO), 6.27 (d; J = 8.0 Hz, 1H, H-3), 6.87 (dt; J = 6.9/1.1 Hz, 1H, H-5), 6.96 (s; 1H, NH), 7.07 (dt; J = 7.7/1.5 Hz, 1H, H-4), 7.15-7.25 (m; 2H, H-6, H-4'), 7.53 (d; J = 8.1 Hz, 2H, H-3', H-5').- C₁₇H₁₃Cl₂NO₃ (352.2) Ber. C 58.0 H 4.29 N 4.0 Gef. C 57.9 H 4.44 N 3.7.

1-(4-Chlorbenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-1H-indolyl-3-essigsäure-2-oxopropylester (2b)
(Indometacinester)

Ausb. 2.57 (62%); Schmp. 83°C (Isopropanol/Hexan).- IR (KBr): $\nu = 1751$; 1734; 1669; 1616; 1601; 1238; 1160; 810 cm⁻¹.- ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 2.12 (s; 3H, CO-CH₃), 2.39 (s; 3H, Indol-CH₃), 3.80 (s; 2H, Indol-CH₂), 3.85 (s; 3H, OCH₃), 4.68 (s; 2H, CH₂-CO), 6.67 (dd; J = 9.0/2.5 Hz, 1H, H-6), 6.88 (d; J = 9.0 Hz, 1H, H-7), 7.00 (d; J = 2.5 Hz, 1H, H-4), 7.57 (m; 4H, Aromaten-H).- C₂₂H₂₀ClNO₅ (413.9) Ber. C 63.9 H 4.87 N 3.4 Gef. C 63.7 H 4.97 N 3.6.

3-Benzoyl- α -methylphenyllessigsäure-2-oxopropylester (3b)
(Ketoprofenester)

Ausb. 2.1 g (65%); Öl.- IR (Film): $\nu = 1740$; 1728; 1657; 1594; 1577; 1280; 1151 cm⁻¹.- ¹H-NMR (CD₂Cl₂): δ (ppm) = 1.57 (d; J = 7.2 Hz, 3H, CH-CH₃), 2.05 (s; 3H, CO-CH₃), 3.93 (q; J = 7.2 Hz, 1H, CH-CH₃), 4.63 (s; 2H, CH₂-CO), 7.44-7.81 (m; 9H, Aromaten-H).

2-[[3-(Trifluormethyl)phenyl]amino]-benzoesäure-2-oxopropylester (4b)
(Flufenaminsäureester)

Ausb. 2.19 g (65%); Schmp. 65°C (Isopropanol/Petrolether).- IR (KBr): $\nu = 3315$; 1736; 1690; 1600; 1589; 1460; 1340; 1268; 810; 761; 754 cm⁻¹.- ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 2.25 (s; 3H, CO-CH₃), 4.88 (s; 2H, CH₂-CO), 6.84 (t; J = 7.6 Hz, 1H, H-5), 7.25-7.44 (m; 5H, Aromaten-H), 7.48 (s; 1H; H-2'), 8.09 (dd; J = 8.1/1.6 Hz, 1H, 6-H), 9.41 (s; 1H, NH).- C₁₇H₁₄F₃NO₃ (337.3) Ber. C 60.5 H 4.18 N 4.2 Gef. C 60.7 H 4.22 N 4.0.

2-[[3-(Trifluormethyl)phenyl]amino]3-pyridincarbonsäure-2-oxopropylester (5b)
(Nifluminsäureester)

Ausb. 1.79 (53%); Schmp. 93°C (Isopropanol/Hexan).- ¹H-NMR (CD₂Cl₂): δ (ppm) = 2.23 (s; 3H, CO-CH₃), 4.93 (s; 2H, CH₂-CO), 6.85 (dd; J = 7.9/4.7 Hz, 1H, H-5), 7.29 (d; J = 7.9 Hz, 1H, H-4'), 7.45 (t; J = 8.0 Hz, 1H, H-5'), 7.87 (d; J = 8.1 Hz, 1H, H-6'), 8.16 (s; 1H, H-2'), 8.37 (dd; J = 7.9/2.0 Hz, 1H, H-4), 8.44 (dd; J = 4.7/2.0 Hz, 1H, H-6), 10.17 (s; 1H, NH).- C₁₆H₁₃F₃N₂O₃ (338.3) Ber. C 56.8 H 3.87 N 8.3 Gef. C 57.1 H 3.84 N 8.2.

Salicylsäure-2-oxopropylester (7b)

Ausb. 990 mg (51%); Schmp. 72°C; (Lit.: 71°C)⁹.- ¹H-NMR ([D₆]-DMSO): δ (ppm) = 2.19 (s; 3H, CO-CH₃), 5.08 (s; 2H, CH₂-CO), 6.95-7.03 (m; 2H, H-3, H-5), 7.55 (dt; J = 7.9/1.7 Hz, 1H, H-4), 7.85 (dd; J = 7.9/1.7 Hz, 1H, H-6), 10.31 (s; 1H, OH).- C₁₀H₁₀O₄ (194.2) Ber. C 61.9 H 5.19 Gef. C 62.1 H 5.17.

Hydrolyseversuche

Pufferlösungen: pH 8.0 Phosphatpuffer; pH 7.4 Phosphatpuffer; pH 7.0 Phosphatpuffer; pH 6.0 Citratpuffer; pH 5.0 Citratpuffer; pH 4.0 Citratpuffer; pH 3.0 Citratpuffer; pH 2.0 Citratpuffer; pH 1.0 HCl/KCl Puffer; ($\mu = 0.2$; eingestellt mit KCl).

Sowohl der interne Standard als auch die zu untersuchenden Verbindungen werden als konzentrierte Stammlösung (10-50 μ l) der Verbindungen in CH₃CN zur jeweils auf 37.0°C (**3b**, **6b**, **8b**, **9b**) bzw. 57.0°C (**1b**, **2b**, **4b**, **5b**) vortemperierten Pufferlösung (2.5 od. 5.0 ml) gegeben, so daß die Endkonzentration im Bereich von 6 - 150 μ mol/100 ml liegt (je nach Löslichkeit und Extinktionskoeffizient). Jeweils 15-30 μ l der Reaktionslösung werden in regelmäßigen Zeitabständen (abhängig von $t_{1/2}$) zur Analyse in das chromatographische System injiziert. Weitere experimentelle Bedingungen: Tab. 4.

Tab. 4: Analysenbedingungen für die HPLC; Fließmittel FM (Methanol/Wasser/Essigsäure): FM1 (75/25/2), FM2 (65/35/0), FM3 (40/58/2), FM4 (70/30/0) (mit H₃PO₄ auf pH 3 eingestellt)

| Verbindung | Fließmittel | flow (ml/min) | Interner Standard | Detektion (nm) |
|------------|-------------|---------------|-------------------|----------------|
| 1b | FM4 | 1.0 | Benzil | 270 |
| 2b | FM1 | 0.9 | Benzil | 270 |
| 3b | FM2 | 1.0 | Benzophenon | 252 |
| 4b | FM1 | 1.0 | Methylbenzil | 285 |
| 5b | FM1 | 1.0 | Benzil | 285 |
| 6b | FM3 | 1.2 | Acetophenon | 278 |
| 8b | FM3 | 1.2 | Salicylsäure | 278 |
| 9b | FM2 | 1.0 | Benzophenon | 258 |

Literatur

2. Mitt.: G. Schwenker und K. Stiefvater, Arch. Pharm. (Weinheim) 324, 439 (1991).
- Aus der Dissertation K. Stiefvater, Heidelberg 1989.
- a) M.W. Whitehouse und K.D. Rainsford, J. Pharm. Pharmac. 32, 795 (1980); b) G. Jones in Design of Prodrugs (Ed. H. Bundgaard), S. 203-213, Elsevier Amsterdam, New York, Oxford 1985.
- T. Loftsson, N. Bodor, J. Pharm. Sci. 70, 756 (1981).
- H. Bundgaard in Bioreversible Carriers in Drug Design (Ed. E.B. Roche), S. 13-21, Pergamon Press, Oxford 1987.
- T. Reichstein und J. von Euw, Helv. Chim. Acta 21, 1181 (1938).
- R. Schwyzer, Helv. Chim. Acta 38, 69 (1955).
- E. Schätzle, H. Urheim, M. Thürkauf und M. Rottenberg, Helv. Chim. Acta 46, 2418 (1963).
- N. Fritsch, D. R. P. 70054 (Beilstein X, 83).
- Synthelabo Paris (Erfinder: D.P.R.L. Giudicelli und H. Najer), D.E. 2320945, 8.11.1973; C.A. 80, 26976z (1974).
- H. Bundgaard und N.M. Nielsen, J. Med. Chem. 30, 451 (1987).
- J.R. Geigy A.G.; Neth. Appl. 6,604,752 (1966); C.A. 67, 81925p (1961). [Ph863]