

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 972710 A7**

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

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application **972710**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -  
International patent classification

**C07C 233/87** (2006.01)

**C07C 237/36** (2006.01)

**C07D 213/82** (2006.01)

**A61K 31/215** (2006.01)

**A61K 31/455** (2006.01)

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **20.11.1995**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **23.06.1997**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **29.08.1997**

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

(86) Kansainvälinen hakemus - **20.11.1995** **PCT/US1995/015126**  
Internationell ansökan - International  
application

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

30.12.1994 US 366618

(71) Hakija - Sökande - Applicant

**1 • Celgene Corporation**, 7 Powder Horn Drive, Warren, NJ 07059, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

**1 • Muller, George**, Bridgewater, NJ 08807, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

**2 • Shire, Mary**, North Plainfield, NJ 07060, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

**3 • Stirling, David I.**, Branchburg, NJ 08876, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

**Papula Oy**, Mechelininkatu 1 a, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

**Uusia immunoterapeuttisia aryylamideja**

**Nya immunoterapeutiska arylamider**

## UUSIA IMMUUNITERAPEUTTISIA ARYYLIAMIDEJA

Keksintö koskee menetelmää TNF $\alpha$ -tasojen alen-  
tamiseksi nisäkkäässä ja siihen käyttökelpoisia yhdis-  
teitä ja seoksia.

5 TNF $\alpha$  eli kuoliokasvaintekijä  $\alpha$  on sytokiini,  
jota vapautuu ensi sijassa yksitumaisten syöjäsolujen  
avulla vastineena erilaisille immuunistimulanteille.  
Eläimille tai ihmisille annettuna se aiheuttaa tuleh-  
tusta, kuumetta, sydän-verisuonivaikutuksia, veren-  
10 vuotoa, hyytymistä ja akuuttien infektioiden ja shok-  
kitilojen aikana tavattuja vastaavia akuutteja vaihe-  
reaktioita.

Liiallinen tai säätelemätön TNF $\alpha$ -tuotanto on  
yhdistetty lukuisiin tautitiloihin. Näihin kuuluvat  
15 endotoksemia ja/tai myrkyllinen shokkioireyhtymä  
[Tracey et al., Nature 330, 662-664 (1987) ja Hinshaw  
et al., Circ. Shock 30, 279-292 (1990)]; näivetys  
[Dezube et al., Lancet, 335(8690), 662 (1990)] ja ai-  
kuisten hengitysvaikeusoireyhtymä (ARDS, adult respi-  
20 ratory distress syndrome), jossa yli 12000 pg/ml:n  
TNF $\alpha$ -pitoisuuksia on löydetty ARDS-potilaiden keuhko-  
aspiraateista [Millar et al., Lancet 2(8665), 712-714  
(1989)]. Rekombinaatio-TNF $\alpha$ :n systeeminen infuusio  
johti myös tyypillisesti ARDS:ssa tavattuihin muutok-  
25 siin [Ferrai-Baliviera et al., Arch. Surg. 124(12),  
1400-1405 (1989)].

TNF $\alpha$  näyttää liittyvän luun resorptiosairauk-  
siin, mukaanlukien niveltulehdus, joista on päätelty,  
että aktivoituna leukosyytit tuottavat luuta resorpoi-  
30 van vaikutuksen ja tiedot antavat olettaa, että TNF $\alpha$   
osaltansa vastaa tästä vaikutuksesta. [Bertolini et  
al., Nature 319, 516-518 (1986) ja Johnson et al., En-  
docrinology 124(3), 1424-1427 (1989).] On määritetty,  
että TNF $\alpha$  stimuloi luun resorptiota ja estää luun muo-  
35 dostumisen koeputkessa ja elimistössä stimuloimalla  
luunsyöjäsolun muodostusta ja aktivoitumista yhdistet-  
tynä luun emosolun toiminnan estämiseen. Vaikka TNF $\alpha$

voidaan liittää moniin luun resorptiosairauksiin, mukaanlukien niveltulehdus, tärkein yhteys sairauteen on kasvain- tai isäntäkudosten TNF $\alpha$ -tuotannon ja veren liikakalkkisuusuteen liittyvän pahalaatuisuuden välinen yhteensiirtyminen [Calci. Tissue Int. (US) 46 (Liite), S3-10 (1990)]. Siirrännäisen ja isännän välisessä reaktiossa lisääntyneet seerumin TNF $\alpha$ -tasot on liitetty akuutteja allogeenisia luuydinsiirrännäisiä seuraavaan pääkomplikaatioon [Holler et al., Blood, 75(4), 1011-1016 (1990)].

Aivomalaria on tappava veren korkeisiin TNF $\alpha$ -tasoihin liittyvä hyperakuutti neurologinen oireyhtymä ja vakavin malariapotilaissa esiintyvä komplikaatio. Seerumin TNF $\alpha$ -tasot korreloivat suoraan taudin vakavuuden ja akuuteissa malariakohtauksissa potilaiden ennusteen kanssa [Grau et al., N. Engl. J. Med. 320(24), 1586-1591 (1989)].

TNF $\alpha$  näyttelee tiettyä osaa myös kroonisten keuhkotulehdustautien alueella. Kvartsihiukkasten kerääntyminen johtaa kivipölykeuhkoon, fibroosista johtuvan reaktion aiheuttamaan progressiiviseen hengitysvajaussairauteen. TNF $\alpha$ :n vasta-aine esti täysin kvartsin aiheuttaman keuhkofibroosin hiirillä [Pignet et al., Nature, 344, 245-247 (1990)]. Korkeita TNF $\alpha$ -tuotannon tasoja (seerumissa ja eristetyissä histiosyyteissä) on osoitettu kvartsin ja asbestin aiheuttaman fibroosin eläinmalleissa [Bissonnette et al., Inflammation 13(3), 329-339 (1989)]. Hengityssarkoidoosipotilaista saatujen keuhkorakkulahistiosyyttien on myös havaittu vapauttavan spontaanisti suuria TNF $\alpha$ -määriä verrattuna normaaleista luovuttajista saatuihin histiosyytteihin [Baughman et al., J. Lab. Clin. Med. 115(1), 36-42 (1990)].

TNF $\alpha$  on myös osallisena uudelleen läpivalumista seuraavassa tulehduksellisessa reaktiossa, nimeltään reperfuusiovaurio, ja on pääsyy kudoksen vaurioitumiseen verenkierron häviämisen jälkeen [Vedder

et al., PNAS 87, 2643-2646 (1990)]. TNF $\alpha$  muuttaa myös endoteelisolujen ominaisuuksia ja sillä on erilaisia hyytymistä edistävän aineen vaikutuksia, kuten lisäyksen tuottaminen kudostekijän hyytymistä edistävään vaikutukseen ja hyytymistä estävän proteiini C:n kulun keskeyttäminen sekä trombomoduliinin toiminnan säätämisen<sup>†</sup> alaspäin [Sherry et al., J. Cell Biol. 107, 1269-1277 (1988)]. TNF $\alpha$ :lla on tulehdusta edistäviä vaikutuksia, jotka yhdessä sen varhaisen tuotannon kanssa (tulehduksellisen tilanteen alkuvaiheen aikana) tekevät siitä kudostekijän todennäköisen välittäjän useissa tärkeissä sairauksissa, mukaanlukien, mutta ei niitä rajoittaen, sydänlihaksen infarkti, sydänkohtaus ja verenkierron häiriö. Erityisen tärkeää saattaa olla TNF $\alpha$ :n aiheuttama adheesiomolekyylien, kuten solujen välisen adheesiomolekyylin (ICAM, intercellular adhesion molecule) tai endoteelileukosyyttiadheesiomolekyylin (ELAM, endothelial leukocyte adhesion molecule), toiminta endoteelisoluilla [Munro et al., Am. J. Path. 135(1), 121-132 (1989)].

Lisäksi on tunnettua, että TNF $\alpha$  on voimakas retroviruksen kertaantumisen aktivointiaine, mukaanlukien HIV-1:n aktivoiminen. [Duh et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 86, 5974-5978 (1989); Poll et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 87, 782-785 (1990); Monto et al., Blood 79, 2670 (1990); Clouse et al., J. Immunol. 142, 431-438 (1989); Poll et al., AIDS Res. Hum. Retrovirus, 191-197 (1992)]. AIDS seuraa T-lymfosyyttien tartutuksesta ihmisen immuunikatoviruksella (HIV). Aina-kin kolme HIV-tyyppiä eli HIV-tilaa on tunnistettu, s.o. HIV-1, HIV-2 ja HIV-3. HIV-tartunnan seurauksena T-solun välittämä immunitetti huononee ja tartunnan saaneilla yksilöillä ilmenee vakavia opportunistisia infektioita ja/tai epätavallisia kasvaimia. HIV:n pääsy T-lymfosyyttiin vaatii T-lymfosyytin aktivoitumisen. Muut virukset, kuten HIV-1, HIV-2 tarttuvat T-lymfosyytteihin T-solun aktivoitumisen jälkeen ja sel-

laista virusproteiinin toimintaa ja/tai kertaantumista välittää tai ylläpitää tällainen T-solun aktivoituminen. Kun aktivoitunut T-lymfosyytti on tartutettu HIV:lla, T-lymfosyytin täytyy jatkaa aktivoitumista ti-  
 5 lassa pysymistä HIV-geenin toiminnan ja/tai HIV:n kertaantumisen sallimiseksi. Sytokiinit, erityisesti  $\text{TNF}\alpha$ ,<sup>†</sup> ovat mukana aktivoitumista T-solussa, joka välittää HIV-proteiinin toimintaa ja/tai Viruksen kertaantumista ottamalla osaa T-lymfosyytin aktivoitumisen  
 10 ylläpitoon. Sen vuoksi sytokiini-vaikutuksen häirintä, kuten sytokiinituotannon, erityisesti  $\text{TNF}\alpha$ :n, estäminen tai ehkäiseminen HIV-tartunnan saaneessa yksilössä auttaa rajoittamaan HIV-tartunnan aiheuttaman T-lymfosyytin elatusta.

15 Monosyytit, histiosyytit ja niihin kuuluvat solut, kuten kupffer- ja hermotukisolut, on myös yhdistetty HIV-tartunnan elatukseen. Nämä solut, kuten T-solut, ovat virussyntyisen kertaantumisen kohteita ja virussyntyisen kertaantumisen taso riippuu solujen  
 20 aktivoitumistilasta. [Rosenberg et al., HIV-infektion immunologinen taudinsynty, *Advances in Immunology*, 57 (1989)]. Sytokiinien, kuten  $\text{TNF}\alpha$ , on osoitettu aktivoivan HIV:n kertaantumista monosyyteissä ja/tai histiosyyteissä [Poli et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87,  
 25 782-784 (1990)], sen vuoksi sytokiinituotannon tai -aktiivisuuden estäminen tai ehkäiseminen auttaa rajoittamaan HIV:n etenemistä, kuten edellä todettiin T-solujen osalta. Lisätutkimukset ovat tunnistaneet  $\text{TNF}\alpha$ :n yhteiseksi tekijäksi HIV:n aktivoinnissa koe-  
 30 maljassa ja tuottaneet selvän toimintamekanismin solujen solulimasta löydetyn tumaa säätelevän proteiinin kautta (Osborn et al., *PNAS* 86, 2336-2340). Tämä todiste antaa olettaa, että  $\text{TNF}\alpha$ -synteesin vähenemisellä saattaa olla viruksen vastainen vaikutus HIV-tartunnoissa pienentämällä jäljentymistä ja siten vi-  
 35 ruksen tuotantoa.

AIDS:n piilevän HIV:n viruskertaantumisen T-

solussa ja histiosyytissä voi saada aikaan TNF $\alpha$  [Folks et al., PNAS 86, 2365-2368 (1989)]. Viruksen aiheuttaman aktivoitumisen molekyylimekanismin viittaa TNF $\alpha$ :n kyky aktivoida solujen soluulimasta löydetty geeniä

5 säätelevä proteiini (NF $\kappa$ B), joka edistää HIV:n kertaantumista sitoutumalla viruksen syntyä säätelevään geenijonoon (LTR) [Osborn et al., PNAS 86, 2336-2340 (1989)]. AIDS:iin ja syöpään liittyvässä näivetyksessä esiintyvään TNF $\alpha$ :aan viittaavat potilaiden ääreisveren

10 monosyyteissä havaittu kohonnut seerumin TNF $\alpha$  ja spontaanin TNF $\alpha$ -tuotannon korkeat tasot [Wright et al., J. Immunol. 141(1), 99-104 (1988)].

TNF $\alpha$  on yhdistetty eri rooleissa muihin virussyntyisiin infektioihin, kuten sytomegaliavirus

15 (CMV), influenssavirus, adenovirus ja herpesvirusten ryhmä, samoista syistä kuin jo huomautettiin.

TNF $\alpha$ :n tuotannon tai toiminnan estämisen tai ehkäisemisen on siten ennustettu olevan tehokas terapeutinen toimintatapa monia tulehduksellisia, tarttuvia, immunologisia tai pahalaatuksia sairauksia vastaan. Näihin kuuluvat, mutta eivät rajoita niitä, verenmyrkytystä aiheuttava shokki, verenmyrkytys, endotoksinen shokki, hemodynaaminen shokki ja verenmyrkytysoireyhtymä, jälkiveretön reperfuusio vaurio, malaria, sienibakteeri-infektio, aivokalvontulehdus, psoriasis, verentungoksellinen sydänvika, fibroosin aiheuttama sairaus, näivetys, siirrännäisen hylkiminen, syöpä, autoimmuunisairaus, opportunistiset infektiot

25 AIDS:ssa, nivelreuma, reumaattinen nikamatulehdus, luu-niveltulehdus, muut niveltulehdustilat, Crohnin tauti, haavainen paksusuolentulehdus, multippeli skleroosi, systeeminen lupus erythematosus, ENL leprassa, säteilyvaurio ja hyperoksinen keuhkorakkulavamma. TNF $\alpha$ :n vaikutuksien keskeyttämiseen suunnatut ponnistukset ovat ulottuneet steroidien, kuten dexamethasone

30 ja prednisolone, käytöstä sekä polykloonattuihin että monokloonattuihin vasta-aineisiin [Beutler et al.,

Science 234, 470-474 (1985); WO 92/11383].

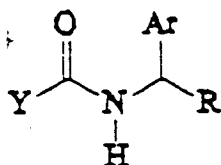
Tumatekijä  $\kappa B$  (NF $\kappa B$ ) on pleiotrooppinen jäljennystä aktivoiva aine (Leonardo et al., Cell 1989, 58, 227-29). NF $\kappa B$  on yhdistetty jäljennystä aktivoivana aineena lukuisiin sairauksiin ja tulehduksellisiin tiloihin ja sen ajatellaan säätelevän sytokiinitasoja, mukaahlukien, mutta ei niitä rajoittaen, TNF $\alpha$ , ja olevan myös HIV:n jäljennystä aktivoiva aine (Dbaibo et al., J. Biol. Chem. 1993, 17762-66; Duh et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 1989, 86, 5974-78; Bachelerie et al., Nature 1991, 350, 709-12; Boswas et al., J. Acquired Immune Deficiency Syndrome 1993, 6, 778-786; Suzuki et al., Biochem. And Biophys. Res. Comm. 1993, 193, 277-83; Suzuki et al., Biochem. And Biophys. Res. Comm. 1992, 189, 1709-15; Suzuki et al., Biochem. Mol. Bio. Int. 1993, 31(4), 693-700; Shakhov et al., 1990, 171, 35-47; ja Staal et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA 1990, 87, 9943-47). Täten NF $\kappa B$ :n sitoutumisen ehkäiseminen voi säädellä sytokiinigeenien jäljentämistä ja tämän moduloinnin ja muiden mekanismien kautta olla käyttökelpoinen monien tautitilojen ehkäisemisessä. Tämän patentin vaatimuksissa olevat yhdisteet voivat ehkäistä NF $\kappa B$ :n toimintaa tumissa ja ovat siten käyttökelpoisia lukuisten sairauksien hoidossa, mukaanlukien, mutta ei niitä rajoittaen, nivelreuma, reumaattinen nikamatulehdus, luu-niveltulehdus, muut niveltulehdistilat, verenmyrkytystä aiheuttava shokki, verenmyrkytys, endotoksinen shokki, siirrännäisen ja isännän välinen sairaus, kulumat, Crohnin tauti, haavainen paksusuolentulehdus, multippeli skleroosi, systeeminen lupus erythematosus, ENL leprassa, HIV, AIDS ja opportunistiset infektiot AIDS:ssa.

TNF $\alpha$ - ja NF $\kappa B$ -tasoihin vaikuttaa vastavuoroinen palautesilmukka. Kuten edellä on todettu, keksinnön yhdisteet vaikuttavat sekä TNF $\alpha$ - että NF $\kappa B$ -tasoihin. Tällä hetkellä ei kuitenkaan tiedetä, miten keksinnön yhdisteet säätelevät TNF $\alpha$ -, NF $\kappa B$ -tasoja tai

molempia.

Keksintö perustuu havaintoon, että tässä ha-  
kemuksessa tarkemmin kuvattu ei-polypeptidi-imidien  
ryhmä näyttää ehkäisevän TNF $\alpha$ :n toimintaa.

5 Keksintö koskee kaavan



10

yhdisteitä,

jossa Ar on (i) suora, haaroittunut tai syklinen  
1-12 hiiliatomin substituomaton alkyylili; (ii) suora,  
haaroittunut tai syklinen 1-12 hiiliatomin substituoi-  
15 tu alkyylili; (iii) fenyyli; (iv) yhdellä tai useammalla  
substituentilla, joista kukin on valittu toisistaan  
riippumatta ryhmästä, jossa on nitro, syaano, trifluo-  
rimetyyli, karbetoksi, karbometoksi, karbopropoksi,  
asetyyli, karbamoyyli, asetoksi, karboksi, hydroksi,  
20 amino, substituoitu amino, 1-10 hiiliatomin alkyylili,  
1-10 hiiliatomin alkoksi tai halo, substituoitu fenyy-  
li; (v) heterosyklinen rengas; tai (vi) yhdellä tai  
useammalla substituentilla, joista kukin on valittu  
toisistaan riippumatta ryhmästä nitro, syaano,  
25 trifluorimetyyli, karbetoksi, karbometoksi, karbopro-  
poksi, asetyyli, karbamoyyli, asetoksi, karboksi, hyd-  
roksi, amino, 1-10 hiiliatomin alkyylili, 1-10 hiiliato-  
min alkoksi tai halo, substituoitu heterosyklinen ren-  
gas;

30 R on -H, 1-10 hiiliatomin alkyylili, -CH<sub>2</sub>OH, -  
CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH tai -CH<sub>2</sub>COZ,

jossa Z 1-10 hiiliatomin alkoksi, bentsyylioksi  
tai NHR<sup>1</sup>, jossa R<sup>1</sup> on H tai 1-10 hiiliatomin alkyylili,  
ja

35 Y on i) substituomaton tai yhdellä tai useammalla  
substituentilla, joista kukin on valittu toisistaan  
riippumatta ryhmästä, jossa on nitro, syaano, trifluo-

rimettyyli, karbetoksi, karbometoksi, karbopropoksi, asetyyli, karbamoyyli, asetoksi, karboksi, hydroksi, amino, 1-10 hiiliatomin alkyyli, 1-10 hiiliatomin alkoksi tai halo, substituoitu fenyyli tai heterosyklinen rengas tai ii) naftyyli.

Ensimmäinen edullinen alaryhmä koskee yhdisteitä, joissa Ar on kahdella metoksiryhmällä substituoitu fenyyli;

R on  $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ ; ja

Y on substituoimaton tai yhdellä aminoryhmällä substituoitu fenyylirengas.

Tämän keksinnön tyypillisiin yhdisteisiin kuuluvat:

N-bentsoyyli-3-amino-3-(3',4'-dimetoksifenyyli) propaaniamidi,

N-bentsoyyli-3-amino-3-(3',4'-dietoksifenyyli) propaaniamidi,

N-bentsoyyli-3-amino-3-(3',4'-dietyylifenyyli) propaaniamidi,

N-bentsoyyli-3-amino-3-sykloheksyylipropaaniamidi, N-(3''-aminobentsoyyli)-3-amino-3-(3',4'-dietoksifenyyli)propaaniamidi,

metyyli-N-bentsoyyli-3-amino-3-(3',4'-dietoksifenyyli)propanoaatti,

metyyli-N-(3''-aminobentsoyyli)-3-amino-3-(3',4'-dietoksifenyyli)propanoaatti,

metyyli-N-(3''-metoksibentsoyyli)-3-amino-3-(3',4'-dietoksifenyyli)propanoaatti,

metyyli-N-(4''-aminobentsoyyli)-3-amino-3-(3',4'-dietoksifenyyli)propanoaatti,

N-(3''-metoksibentsoyyli)-3-amino-3-(3',4'-dietoksifenyyli)propaaniamidi,

N-(4''-metoksibentsoyyli)-3-amino-3-(3',4'-dietoksifenyyli)propaaniamidi,

metyyli-N-bentsoyyli-3-amino-3-(4-trifluori-metyyli-fenyyli)propanoaatti,

metyyli-N-bentsoyyli-3-amino-3-(4-asetyylifenyyli)

propanoaatti.

Hakemuksessa käytetty termi alkyyli ilmaisee yksiarvoisen tyydytetyn haaroittuneen tai suoran hiilivetyketjun. Ellei toisin ilmoiteta, tällaiset ketjut  
 5 voivat sisältää 1-18 hiiliatomia. Tällaisia alkyyli-ryhmiä kuvaavia ovat metyyli, etyyli, propyyli, isopropyyli, butyyli, isobutyyli, sek-butyyli, tert-butyyli, pentyyli, isopentyyli, neopentyyli, t-pentyyli, heksyyli, isoheksyyli, heptyyli, oktyyli,  
 10 nonyyli, desyyli, undesyyli, dodesyyli, tridesyyli, tetradesyyli, pentadesyyli, heksadesyyli, heptadesyyli, oktadesyyli ja vastaavat. Määriteltäessä alempi, alkyyli-ryhmä sisältää 1-6 hiiliatomia. Sama hiilisisältö on käyttökelpoinen kantatermiin alkaani ja johdannaistermeihin kuten alkoksi.

Yhdisteitä voidaan käyttää pätevien ammattilaisten johdolla ei-toivottujen TNF $\alpha$ -vaikutusten ehkäisemiseen. Yhdisteitä voidaan antaa hoidon tarpeessa  
 20 olevalle nisäkkäälle suun kautta, peräsuolen kautta tai ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti yksin tai yhdessä muiden terapeuttisten aineiden kanssa, mukaanlukien antibiootit, steroidit j.n.e. Suun kautta annettaviin annosmuotoihin kuuluvat tabletit, kapselit, lääkerakeet ja vastaavan muotoiset puristetut lääke-  
 25 muodot. Isotoonisia suolaliuoksia, jotka sisältävät 20-100 mg/ml, voidaan käyttää ruoansulatuskanavan ulkopuoliseen antamiseen, joihin kuuluvat lihaksen, peitekalvon, suonen ja valtimon sisäiset annostelureitit. Antaminen peräsuolen kautta voidaan suorittaa käyttämällä peräpuikkoja, jotka on formuloitu tavanomaisista kantoaineista, kuten kaakaovoi.

Annosteluohjeet täytyy mitoittaa tietyn taudinsyyn, iän, painon ja potilaan yleisen fyysisen kunnon ja halutun reaktion mukaan, mutta yleensä annokset  
 35 ovat tarpeen mukaan n. 1-500 mg/päivä yhtenä tai useana päivittäisenä antona. Yleensä alkuhoito-ohjelma voidaan kopioida siitä, minkä tiedetään keksinnön yh-

disteillä olevan tehokas puuttumaan TNF $\alpha$ -aktiivisuuteen muilla TNF $\alpha$  välitteisillä sairaustiloilla. Hoidetut yksilöt tarkistetaan säännöllisesti T-solujen lukumäärän ja T4/T8-suhteiden ja/tai viruskannan määritysten, kuten käänteisen transkriptaasin tai virusproteiinien tasojen, ja/tai sytokiinivälitteiseen sairauteen liittyvien ongelmien, kuten näivetyksen tai lihasten rappeutumisen, osalta. Jos mitään vaikutusta ei havaita normaalin hoito-ohjeen jälkeen, silloin sytokiiniaktiivisuuteen vaikuttavan annettavan aineen määrää lisätään, esim. 50 %:lla viikossa.

Keksinnön yhdisteitä voidaan käyttää myös ulkoisesti ulkoisten sairaustilojen hoitoon tai ehkäisyyn, joita välittää tai vastaavasti pahentaa liiallinen TNF $\alpha$ -tuotanto, kuten virussyntyiset infektiot, kuten herpesvirusten tai virussyntyisen konjunktiviitin j.n.e aiheuttamat.

Yhdisteitä voidaan käyttää myös muiden nisäkäiden kuin ihmisten eläinlääkintähoidossa tarvittaessa TNF $\alpha$ -tuotannon estämistä tai ehkäisemistä. TNF $\alpha$  välitteisiin sairauksiin terapeuttista tai ennaltaehkäisevää hoitoa varten kuuluvat edellä ilmoitetut tautitilat, mutta erityisesti virussyntyiset infektiot. Esimerkkeihin kuuluvat kissan immuunikatovirus, hevosen tarttuva anemiavirus, vuohen niveltulehdusvirus, lampaan visnavirus ja maedivirus samoin kuin muut lentivirukset.

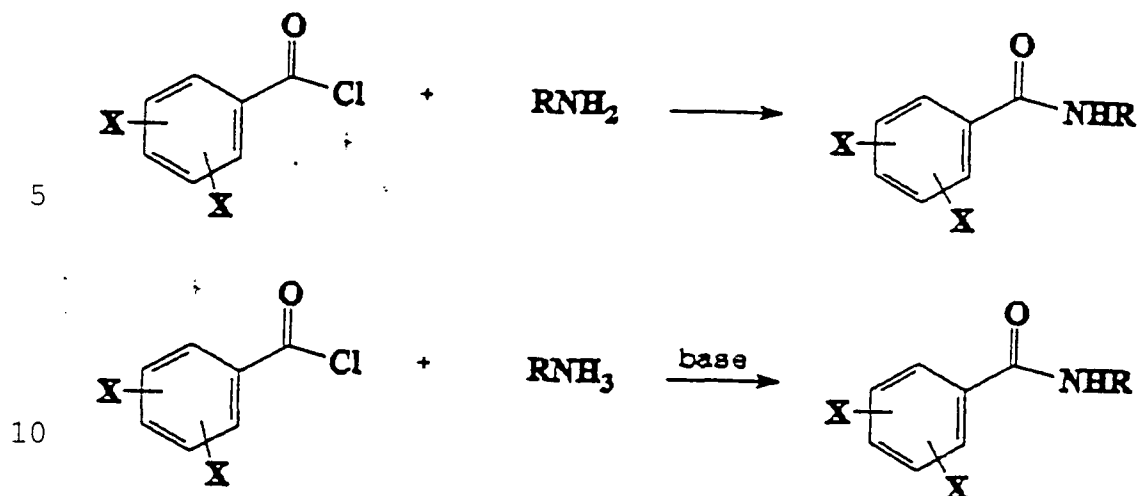
Tietyt näistä yhdisteistä omaavat päällekkäisiä peilikuvasta poikkeavia keskuksia ja voivat esiintyä optisina isomeereina. Sekä näiden isomeerien rasemaatit että yksittäiset isomeerit itse samoin kuin diastereomeerit, kun niissä on kaksi peilikuvasta poikkeavaa keskusta, ovat keksinnön suojapiirin sisällä. Rasemaatteja voidaan käyttää sellaisenaan tai ne voidaan erottaa yksittäisiksi isomeereikseen mekaanisesti esim. kromatografian avulla käyttäen poikkeavia rakenteita absorboivaa ainetta. Vaihtoehtoisesti yksit-

täisiä isomeereja voidaan valmistaa peilikuvasta poikkeavassa muodossa tai erottaa kemiallisesti seoksesta muodostamalla suoloja peilikuvasta poikkeavan hapon, kuten 10-kamferisulfonihapon, kamferihapon, alfa-bromikamferihapon, metoksietikkahapon, viinihapon, diasetyyyliviinihapon, omenahapon, pyrrolidoni-5-karboksyylihapon ja vastaavien yksittäisten enantio-  
 5 meerien kanssa, ja vapauttamalla sitten toinen tai molemmat liuenneista emäksistä valinnaisesti toistamalla prosessi jomman kumman tai molempien saamiseksi pää-  
 10 osin irti toisesta; s.o. muotoon, jonka optinen puhtaus on >95 %.

TNF $\alpha$ -tuotannon estämistä tai ehkäisemistä näiden yhdisteiden avulla voidaan analysoida tarkoituksenmukaisesti käyttäen anti-TNF $\alpha$ -vasta-aineita. Maljoja (Nunc Immunoplates, Roskilde, DK) käsitellään  
 15 esim. 5  $\mu$ g/ml:lla puhdistettuja kaniinin anti-TNF $\alpha$ -vasta-aineita 4°C:ssa 12-14 tunnin ajan. Sitten maljat eristetään 2 tunnin ajaksi 25°C:ssa PSB/0,05 % Tween-  
 20 liuoksella, joka sisältää 5 mg/ml BSA. Pesun jälkeen 100  $\mu$ l:n tuntemattomat samoin kuin vertailunäytteet kerätään ja maljoja inkuboidaan 4°C:ssa 12-14 tunnin ajan. Maljat pestään ja analysoidaan peroksidaasin (piparjuuren) ja hiiren anti-TNF $\alpha$ :n monokloonattujen  
 25 vasta-aineiden yhteenliittymällä ja väri kehitetään ofenyleenidiamiinilla fosfaatti-sitraattipuskurissa, joka sisältää 0,012 % vetyperoksidia, ja se luetaan 492 nm:n kohdalla.

Yhdisteitä voidaan valmistaa käyttäen menetelmiä, jotka ovat yleisesti tunnettuja imidejä valmistettaessa. Yleisiin reaktiokaavioihin kuuluvat  
 30 substituoidun amiinin tai ammoniumin reaktio substituoidun bentsoyylikloridin kanssa, kuten kaaviot kuvaavat:

35



Seuraavat esimerkit auttavat kuvaamaan edel-  
leen tämän keksinnön olemusta, mutta niitä ei pitäisi  
15 ottaa kirjaimellisesti sen suojapiirin rajoituksena,  
jonka määrittävät pelkästään liitteenä olevat patent-  
tivaatimukset.

#### ESIMERKKI 1

20 Metyyli-N-bentsoyyli-3-amino-3-(3,4-dimetoksifenyy-  
li)propionaatti

Jäähäuteessa jäähdytettyyn metyyli-3-amino-3-  
(3,4-dimetoksifenyyli)propionaattihydrokloridin (0,689  
g, 2,50 mmoolia) ja trietyyliamiinin (0,7 ml, 5 mmoo-  
lia) sekoitettuun suspensioon 15 ml:ssa tetrahydrofu-  
25 raania lisättiin 0,3 ml bentsoyylikloridia (2,6 mmoo-  
lia). Jäähdytysauke poistettiin 15 minuutin kuluttua  
ja seosta sekoitettiin vielä 45 minuuttia. Sitten re-  
aktioseos laimennettiin 15 ml:lla suolaliuosta ja 15  
ml:lla vettä ja konsentroitiin sitten osittain vakuu-  
30 mmissa tetrahydrofuraanin poistamiseksi. Reaktioliete  
suodatettiin, kiinteä aine kuivattiin ilmassa ja sit-  
ten vakuuimissa (60°C, <1 mm) tuotteen 0,86 g (100 %)  
saamiseksi valkoisena jauheena: <sup>1</sup>H NMR (dmso-d<sub>6</sub>) δ  
8,84(d, J=8,3 Hz, 1H, NH), 7,83(m, 2H, Ar), 7,60-  
35 7,35(m, 3H, Ar), 7,06(s, 1H, Ar), 6,90(m, 2H, Ar),  
5,50-5,30(m, 1H, CHN), 3,75(s, 3H, OCCH<sub>3</sub>), 3,72(s, 3H,

- OCH<sub>3</sub>); 3,46(s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,05-2,75(m, 2H, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (dmso-d<sub>6</sub>) δ 170,8, 165,6, 148,6, 147,9, 134,9, 134,5, 131,2, 128,3, 127,3, 118,5, 111,6, 110,6, 55,5, 55,5, 51,4, 49,7, 40,6. Laskettu analyysi C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub>:lle.
- 5 Teoreettinen C, 66,46; H, 6,16; N, 4,08. Löydetty C, 66,22; H, 6,05; N, 3,98.

#### ESIMERKKI 2

Metyyli-N-(3-nitrobentsoyyli)-3-amino-3-(3,4-dimetoksifenyyli)propionaatti

- 10 Jäähäuteessa jäähdytettyn metyyli-3-amino-3-(3,4-dimetoksifenyyli)propionaattihydrokloridin (1,38 g, 5,00 mmoolia) ja trietyyliamiinin (1,5 ml, 10,8 mmoolia) sekoitettuun suspensioon 10 ml:ssa tetrahydrofuraania lisättiin 3-nitrobentsoyylikloridia (0,928
- 15 g, 5,00 mmoolia) yhdessä osassa. Tuloksena oli paksu liete. Jäähdytyschaude poistettiin 15 minuutin kuluttua ja seos laimennettiin 10 ml:lla tetrahydrofuraania ja seosta sekoitettiin vielä tunti. Reaktioseos laimennettiin 50 ml:lla vettä ja konsentroitiin sitten osittain vakuuissa tetrahydrofuraanin poistamiseksi. Reaktioliete suodatettiin, kiinteä aine pestiin runsaalla määrällä vettä, kuivatettiin ilmassa ja sitten vakuuissa (60°C, <1 mm) tuotteen 1,85 g (95 %) saamiseksi harmahtavana jauheena: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz) δ
- 25 8,63(t, J=1,9 Hz, 1H), 8,35(m, 1H, Ar), 8,20(m, 1H, Ar), 7,77(d, J=8Hz, 1H, NH), 7,63(t, J=8,0 Hz, 1H), 6,95-6,75(m, 3H, Ar), 5,86(m, 1H, CHCO), 3,85(s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,84(s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,68(s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,01(m, 2H, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 172,0, 164,1, 149,1, 148,6,
- 30 148,2, 135,8, 133,1, 129,8, 126,1, 122,0, 118,2, 111,2, 109,9, 55,9, 55,8, 52,0, 50,2, 39,5.

#### ESIMERKKI 3

Metyyli-N-(3-aminobentsoyyli)-3-amino-3-(3,4-dimetoksifenyyli)propionaatti

- 35 Metyyli-N-(3-nitrobentsoyyli)-3-amino-3-(3,4-

dimetoksifenyyli)propionaatin (1,25 g, 3,22 mmoolia) liuokseen 150 ml etyyliasetaatin ja 75 ml metanolin seoksessa (seosta lämmitettiin varovasti kaiken kiinteän aineen liuottamiseksi ja annettiin sitten jäähtyä huoneenlämpötilaan) lisättiin 0,25 g 10 % Pd/C. Seosta käsiteltiin sitten 60 psi:n H<sub>2</sub>-paineessa 2,5 tunnin ajan Parr-tyyppisellä ravistelijalla. Reakti-  
 5 onemistä seurattiin TLC:n (1/9 etyyliasetaatti/metyleenikloridi, UV) avulla ja se päättyi 2,5 tunnin kuluttua. Reaktioseos suodatettiin seliitin läpi katalyytin poistamiseksi. Suodos konsentroitiin vakuu-  
 10 mmissa valkoisen kiinteän aineen saamiseksi, joka kuivattiin vakuu-  
 mmissa (60°C, <1mm) halutun tuotteen 1,07 g (93 %) saamiseksi: <sup>1</sup>H NMR (dmso-d<sub>6</sub>, 250 MHz) δ 8,60(d, J=8,5 Hz, 1H, NH), 7,15-6,80(m, 6H, Ar), 6,67(m, 1H, Ar), 5,40(m, 1H, CHCO), 5,24(m, 2H, ArNH<sub>2</sub>), 3,75(s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,72(s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,56(s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2,95(dd, J=8,9, 15,4 Hz, 1H), 2,81(dd, J=6,3, 15,4 Hz, 1H); <sup>13</sup>C  
 15 NMR (dmso-d<sub>6</sub>) δ 170,9, 166,4, 148,6, 148,6, 147,8, 135,6, 135,1, 128,6, 118,5, 116,4, 114,4, 112,8, 111,6, 110,6, 55,5, 55,5, 51,4, 49,6, 40,7.

#### ESIMERKKI 4

Metyyli-N-(4-nitrobentsoyyli)-3-amino-3-(3,4-dimetoksifenyyli)propionaatti

25 Jäähautteessa jäähdytettyyyn metyyli-3-amino-3-(3,4-dimetoksifenyyli)propionaattihydrokloridin (1,38 g, 5,00 mmoolia) ja trietyyliamiinin (1,5 ml, 10,8 mmoolia) sekoitettuun suspensioon 25 ml:ssa tetrahydrofuraania lisättiin 4-nitrobentsoylikloridia (0,928  
 30 g, 5,00 mmoolia) yhdessä osassa. 15 minuutin kuluttua jäähdytyschaude poistettiin ja seosta sekoitettiin 45 minuuttia. Sitten reaktioseos laimennettiin 50 ml:lla vettä. Reaktioliete suodatettiin ja kiinteä aine pestiin vedellä, kuivattiin ilmassa ja sitten vakuu-  
 35 mmissa (60°C, <1 mm) tuotteen 1,86 g (94 %) saamiseksi keltaisena jauheena: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>/TMS, 250 MHz) δ 8,27(d,

J=8,8 Hz, 2H), 7,98(d, J=8,8 Hz, 2H), 7,77(d, J=8,1 Hz, 1H, NH), 6,95-6,75(m, 3H, Ar), 5,55(m, 1H, CH), 3,86&3,85(2s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>), 3,68(s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,00(m, 2H, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>/TMS) δ 172,2, 164,4, 149,6, 149,1, 148,7, 139,7, 132,6, 128,2, 123,8, 118,1, 111,2, 109,9, 55,9, 55,8, 52,0, 50,0, 39,3.

#### ESIMERKKI 5

Metyyli-N-(4-aminobentsoyyli)-3-amino-3-(3,4-dimetoksifenyyli)propionaatti

10 Metyyli-N-(3-nitrobentsoyyli)-3-amino-3-(3,4-dimetoksifenyyli)propionaatin (1,25 g, 3,22 mmoolia) liuokseen 100 ml etyyliasetaatin ja 50 ml metanolin seoksessa (seosta lämmitettiin varovasti kaiken kiinteän aineen liuottamiseksi ja annettiin sitten jäähtyä huoneenlämpötilaan) lisättiin 0,25 g 10 % Pd/C. Seosta käsiteltiin sitten 60 psi:n H<sub>2</sub>-paineessa 2,5 tunnin ajan Parr-tyyppisellä ravistelijalla. Reaktion etenemistä seurattiin TLC:n (1/9 etyyliasetaatti/metyleenikloridi, UV) avulla ja se päättyi 2,5 h kuluttua. Reaktioseos suodatettiin seliitin läpi katalyytin poistamiseksi. Suodos konsentroitiin vakuumissa valkoisen kiinteän aineen saamiseksi, joka kuivattiin vakuumissa (60°C, <1mm) halutun tuotteen 1,10 g (96 %) saamiseksi: <sup>1</sup>H NMR (dmso-d<sub>6</sub>, 250 MHz) δ 8,32(d, J=8,5 Hz, 1H, NH), 7,57(d, J=8,6 Hz, 1H, Ar), 7,03(s, 1H, Ar), 6,88(m, 2H, Ar), 6,54(d, J=8,6 Hz, 2H, Ar), 5,62(s, 2H, NH<sub>2</sub>), 5,38(m, 1H, CHCO<sub>2</sub>), 3,74(s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,71(s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,56(s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2,94(dd, J=8,8, 15,3 Hz, 1H), 2,80(dd, J=6,5, 15,3, 1H); <sup>13</sup>C NMR (dmso-d<sub>6</sub>) δ 170,9, 165,5, 151,7, 148,5, 147,8, 135,4, 128,8, 121,1, 118,5, 112,5, 111,6, 110,6, 55,5, 55,5, 51,3, 49,4, 40,8.

#### ESIMERKKI 6

35 Metyyli-N-(3-metoksibentsoyyli)-3-amino-3-(3',4'-dimetoksifenyyli)propionaatti

Jäähauteessa sekoitettuun metyyli-3-amino-3-(3',4'-dimetoksifenyyli)propionaattihydrokloridin (0,689 g, 2,50 mmoolia) ja 0,7 ml trietyyliamiinin suspensioon 20 ml:ssa vedetöntä tetrahydrofuraania lisättiin 3-metoksibentsoylikloridia (2,5 mmoolia) ruiskun avulla. 30 minuutin kuluttua reaktioseoksen annettiin lämmetä huoneenlämpötilaan ja seosta sekoitettiin 1 tunti. Reaktioseosta käsiteltiin sitten 20 ml:lla vettä. Tetrahydrofuraani poistettiin vakuuissa ja saatu seos uutettiin metyleenikloridilla (2 kertaa 25 ml:lla). Yhdistetyt uutteenat kuivattiin natriumsulfaattilla ja konsentroitiin paksun öljyn saamiseksi. Raakatuote puhdistettiin liekkikromatografisesti (silikageeli, 1,4/8,6 etyyliasetaatti/heksaaneja) tuotteen 0,5 g (56 %) saamiseksi vaalean vihreänä kiinteänä aineena (vaha): sp. 123,5-125°C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3/\text{TMS}$ )  $\delta$  8,96(d,  $J=7,9$  Hz, 1H), 8,19(m, 1H), 7,45(m, 1H), 7,12-6,68(m, 5H), 5,59(m, 1H), 4,00(s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,87(s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,85(s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,63(s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2,96(m, 2H,  $\text{CH}_2$ );  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3/\text{TMS}$ )  $\delta$  171,6, 164,4, 157,6, 148,9, 148,2, 133,8, 132,8, 132,3, 121,3, 121,2, 118,1, 111,3, 111,2, 109,9, 55,8, 55,8, 51,6, 49,7, 40,4; TLC (2/8 etyyliasetaatti/heksaaneja, UV)  $R_f=0,26$ . Laskettu analyysi  $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_6$ :lle. Teoreettinen C, 64,33; H, 6,21; N, 3,75. Löydetty C, 64,31; H, 6,25; N, 3,63.

#### ESIMERKKI 7

Metyyli-N-nikotinoyyli-3-amino-3-(3',4'-dimetoksifenyyli)propionaatti

Jäähdytettyyn (0°C) 3-amino-3-(3',4'-dimetoksifenyyli)propionaattihydrokloridin (1,38 g, 5,00 mmoolia) ja trietyyliamiinin (1,5 ml, 10,8 mmoolia) sekoitettuun suspensioon 20 ml:ssa tetrahydrofuraania lisättiin nikotinoylikloridihydrokloridia (0,89 g, 5,0 mmoolia). Paksua lietettä sekoitettiin 15 minuuttia ja annettiin sitten lämmetä huoneenlämpötilaan ja

- sekoitusta jatkettiin 2 tunnin ajan. Reaktioseosta käsiteltiin sitten 20 ml:lla vettä, joka antoi tulokseksi väriltään ruskean liuoksen. Tetrahydrofuraani poistettiin vakuumissa ja vesipitoinen kerros uutettiin
- 5 metyleenikloridilla (3 kertaa 25 ml:lla). Yhdistetyt uutteet kuivattiin magnesiumsulfaatilla ja konsentroidtiin vakuumissa öljyn saamiseksi, joka jähmettyi yön aikana. Valkoinen kiinteä aine kuivattiin vakuumissa (60°C, <1 mm) raakatuotteen 0,52 g (30 %) saamiseksi.
- 10 Raakatuote puhdistettiin liekkikromatografisesti (silikageeli, 5 % metanoli/metyleenikloridi) ja kuivattiin vakuumissa (60°C, <1 mm) tuotteen 0,38 g (22 %) saamiseksi valkoisena kiinteänä aineena: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 9,10-9,00(m, 1H), 8,80-8,69(m, 1H), 8,19-8,08(m, 1H), 7,65-7,31(m, 2H), 6,96-6,76(m, 3H), 5,64-5,50(m, 1H), 3,87(s, 3H), 3,86(s, 3H), 3,67(s, 3H), 3,14-2,37(m, 2H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 172,1, 164,6, 152,4, 149,2, 148,7, 148,1, 135,0, 132,8, 129,9, 123,5, 118,1, 111,3, 111,2, 109,9, 109,8 55,9, 52,0,
- 15 49,8, 39,5. HPLC 99,47 %.
- 20

#### ESIMERKKI 8

Metyyli-N-asetyyli-3-(3,4-dimetoksifenyyli)propionaatti

- Jäähäuteessa jäähdytettyyn metyyli-3-amino-3-
- 25 (3,4-dimetoksifenyyli)propionaattihydrokloridin (1,97 g, 7,14 mmoolia) ja trietyyliamiinin (2,15 ml, 15,43 mmoolia) sekoitettuun suspensioon 30 ml:ssa tetrahydrofuraania lisättiin asetyylikloridia (0,51 ml, 7,14 mmoolia). Jäähdytyschaude poistettiin 15 minuutin kulu-  
 30 luttua ja seosta sekoitettiin vielä 2 tuntia. Reaktioseos laimennettiin vedellä (25 ml) ja konsentroidtiin sitten osittain vakuumissa tetrahydrofuraanin poistamiseksi. Jäljelle jäävä vesipitoinen liuos uutettiin metyylikloridilla (3 kertaa, 20 ml) ja yhdistetyt orgaaniset uutteet kuivattiin magnesiumsulfaatilla. Me-  
 35 tyleenikloridi poistettiin vakuumissa raakatuotteen

1,40 g saamiseksi oranssina öljynä. Raakatuote puhdistettiin liekkikromatografisesti (silikageeli, 5 % metanoli/metyleenikloridi) tuotteen 1,22 g saamiseksi öljynä, joka myöhemmin jähmettyi, joitakin vähäisiä epäpuhtauksia jäi jäljelle ja kiinteä aine kiteytettiin uudelleen heksaani/etyyliasetaatista. Valkoinen kiinteä aine kuivattiin vakuuissa (60°C, <1 mm) tuotteen 0,81 g (41 %) saamiseksi valkoisena kiinteänä aineena: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 6,92-6,79(m, 3H), 6,56-6,39(m, 1H), 5,45-5,03(m, 1H), 3,87(s, 3H), 3,86(s, 3H), 3,63(s, 3H), 3,02-2,75(m, 2H), 2,02(s, 3H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 171,7, 169,2, 149,1, 148,5, 133,1, 118,1, 111,2, 110,0, 55,9, 51,8, 49,4, 39,7, 23,4; HPLC 98,63 %.

#### 15 ESIMERKKI 9

Tabletteja, joista kukin sisältää 50 mg aktiivista ainetta, voidaan valmistaa seuraavalla tavalla:

##### Ainesosat (1000 tablettia varten)

|    |                          |                      |
|----|--------------------------|----------------------|
| 20 | aktiivinen aine          | 50,0 g               |
|    | laktoosi                 | 50,7 g               |
|    | vehnätärkkelys           | 7,5 g                |
|    | polyetyleeniglykoli 6000 | 5,0 g                |
|    | talkki                   | 5,0 g                |
| 25 | magnesiumstearaatti      | 1,8 g                |
|    | demineraloitu vesi       | täyteen määrään asti |

Kiinteät aineet pakotetaan aluksi 0,6 mm seulaverkon läpi. Sitten sekoitetaan aktiivinen aine, laktoosi, talkki, magnesiumstearaatti ja puolet tärkkelyksestä keskenään. Toinen puoli tärkkelyksestä suspendoidaan 40 ml:aan vettä ja tämä suspensio lisätään kiehuvaan polyetyleeniglykoliliuokseen 100 ml:ssa vettä. Saatu tahna lisätään hienojakoisiin aineisiin ja seos rakeistetaan, tarvittaessa lisätään vettä. Rakeita kuivataan yön yli 35°C:ssa, pakotetaan 1,2 mm seulaverkon läpi ja puristetaan halkaisijaltaan n. 6 mm

tablettien muovaamiseksi, jotka ovat koveria molemmilta sivuilta.

#### ESIMERKKI 10

5           Tabletteja, joista kukin sisältää 100 mg aktiivista ainetta, voidaan valmistaa seuraavalla tavalla:

|    |                                          |         |
|----|------------------------------------------|---------|
|    | <u>Ainesosat</u> (1000 tablettia varten) |         |
|    | aktiivinen aine                          | 100,0 g |
|    | laktoosi                                 | 100,0 g |
| 10 | vehnätärkkelys                           | 47,0 g  |
|    | magnesiumstearaatti                      | 3,0 g   |

15           Kaikki kiinteät aineet pakotetaan aluksi 0,6 mm seulaverkon läpi. Sitten sekoitetaan aktiivinen aine, laktoosi, magnesiumstearaatti ja puolet tärkkelyksestä keskenään. Toinen puoli tärkkelyksestä suspendoidaan 40 ml:aan vettä ja tämä suspensio lisätään 100 ml:aan kiehuvaan vettä. Saatu tahna lisätään hienojakoisiin aineisiin ja seos rakeistetaan, tarvittaessa  
20           lisätään vettä. Rakeita kuivataan yön yli 35°C:ssa, pakotetaan 1,2 mm seulaverkon läpi ja puristetaan halkaisijaltaan n. 6 mm tablettien muovaamiseksi, jotka ovat koveria molemmilta sivuilta.

#### ESIMERKKI 11

25           Pureskeltavia tabletteja, joista kukin sisältää 75 mg aktiivista ainetta, voidaan valmistaa seuraavalla tavalla:

|    |                                          |                      |
|----|------------------------------------------|----------------------|
|    | <u>Koostumus</u> (1000 tablettia varten) |                      |
|    | aktiivinen aine                          | 75,0 g               |
| 30 | mannitoli                                | 230,0 g              |
|    | laktoosi                                 | 150,0 g              |
|    | talkki                                   | 21,0 g               |
|    | glysiini                                 | 12,5 g               |
|    | steariinihappo                           | 10,0 g               |
| 35 | sakkariini                               | 1,5 g                |
|    | 5 % gelatiiniliuos                       | täyteen määrään asti |

Kaikki kiinteät aineet pakotetaan aluksi 0,25 mm seulaverkon läpi. Mannitoli ja laktoosi sekoitetaan, rakeistetaan lisäämällä gelatiiniliuos, pakotetaan 2 mm seulaverkon läpi, kuivataan 50°C:ssa ja pakotetaan jälleen 1,7 mm seulaverkon läpi. Aktiivinen aine, glysiini ja sakkariini sekoitetaan huolellisesti, lisätään mannitoli, laktoosirakeet, steariinihappo ja talkki ja koko seos sekoitetaan läpikotaisin ja puristetaan halkaisijaltaan n. 10 mm tablettien muovamiseksi, jotka ovat koveria molemmilta sivuilta ja joissa on murtoura yläsivulla.

ESIMERKKI 12

Tabletteja, joista kukin sisältää 10 mg aktiivista ainetta, voidaan valmistaa seuraavalla tavalla:

|    |                                          |                      |
|----|------------------------------------------|----------------------|
| 5  | <u>Koostumus</u> (1000 tablettia varten) |                      |
|    | aktiivinen aine                          | 10,0 g               |
|    | laktoosi                                 | 328,5 g              |
|    | maissitärkkelys                          | 17,5 g               |
|    | polyetyleeniglykoli 6000                 | 5,0 g                |
| 10 | talkki                                   | 25,0 g               |
|    | magnesiumstearaatti                      | 4,0 g                |
|    | demineraloitu vesi                       | täyteen määrään asti |

Kiinteät aineet pakotetaan aluksi 0,6 mm seulaverkon läpi. Sitten sekoitetaan aktiivinen aine, laktoosi, talkki, magnesiumstearaatti ja puolet tärkkelyksestä keskenään. Toinen puoli tärkkelyksestä suspendoidaan 65 ml:aan vettä ja tämä suspensio lisätään kiehuvaan polyetyleeniglykoliliuokseen 260 ml:ssa vettä. Saatu tahna lisätään hienojakoisiin aineisiin ja koko seos sekoitetaan ja rakeistetaan, tarvittaessa lisätään vettä. Rakeita kuivataan yön yli 35°C:ssa, pakotetaan 1,2 mm seulaverkon läpi ja puristetaan halkaisijaltaan n. 10 mm tablettien muovaamiseksi, jotka ovat koveria molemmilta sivuilta ja joissa on murtolovi yläsivulla.

ESIMERKKI 13

Kuivatäytettyjä gelatiinikapseleita, joista kukin sisältää 100 mg aktiivista ainetta, voidaan valmistaa seuraavalla tavalla:

|    |                                          |         |
|----|------------------------------------------|---------|
| 30 | <u>Koostumus</u> (1000 tablettia varten) |         |
|    | aktiivinen aine                          | 100,0 g |
|    | mikrokiteinen selluloosa                 | 30,0 g  |
|    | natriumlayryylisulfaatti                 | 2,0 g   |
| 35 | magnesiumstearaatti                      | 8,0 g   |

Natriumlayryylisulfaatti seulotaan aktiiviseen aineeseen 0,2 mm seulaverkon läpi ja näitä kahta komponenttia sekoitetaan perinpohjaisesti 10 minuutin ajan. Sitten lisätään mikrokiteinen selluloosa 0,9 mm  
 5 seulaverkon läpi ja koko seosta sekoitetaan jälleen 10 minuutin ajan. Lopuksi lisätään magnesiumstearaatti 0,8 mm seulaverkon läpi ja vielä 3 minuutin sekoituksen jälkeen seos annostellaan 140 mg osissa koon 0 (pitkulaisiin) kuivatäytegelatiinikapseleihin.

#### 10 ESIMERKKI 14

0,2 % ruiske- tai infuusioliuos voidaan valmistaa esim. seuraavalla tavalla:

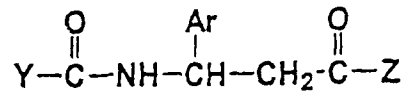
##### Koostumus

|    |                         |                  |
|----|-------------------------|------------------|
|    | aktiivinen aine         | 5,0 g            |
| 15 | natriumkloridi          | 22,5 g           |
|    | fosfaattipuskuri pH 7,4 | 300,0 g          |
|    | demineraloitu vesi      | 2500 ml:aan asti |

Aktiivinen aine liuotetaan 1000 ml:aan vettä  
 20 ja suodatetaan mikrosuodattimen läpi. Lisätään puskuriliuos ja koko seos täydennetään 2500 ml:aan vedellä. Yksikköannosmuotojen valmistamiseksi 1,0 tai 2,5 ml:n osuudet annostellaan lasiampulleihin (joista kukin sisältää vastaavasti 2,0 tai 5,0 mg aktiivista ainetta).

## PATENTTIVAATIMUKSET

1. Yhdiste, jolla on kaava:



jossa

Ar on fenyyli, joka on substituoitu yhdellä tai useammalla substituentilla, joista kukin on valittu toisistaan riippumatta ryhmästä, jossa on nitro, syaano, trifluorimetyyli, karbetoksi, karbometoksi, karbopropoksi, asetyyli, karbamoyyli, asetoksi, karboksi, hydroksi, amino, 1-10 hiiliatomin alkyyli, 1-10 hiiliatomin alkoksi ja halo;

Z on 1-10 hiiliatomin alkoksi, bentsyylioksi, amino tai 1-10 hiiliatomin alkyyliamino, ja

Y on i) fenyyli, joka on substituoimaton tai substituoitu yhdellä tai useammalla substituentilla, joista kukin on valittu toisistaan riippumatta ryhmästä, jossa on nitro, syaano, trifluorimetyyli, karbetoksi, karbometoksi, karbopropoksi, asetyyli, karbamoyyli, asetoksi, karboksi, hydroksi, amino, 1-10 hiiliatomin alkyyli, 1-10 hiiliatomin alkoksi ja halo, tai ii) naftyyli, sillä poikkeuksella että se ei ole N-bentsoyyli-3-amino-3-(2,4-dimetoksifenyyli)propioniamidi ja yhdiste, jossa Y on fenyyli ja Z on etoksi ja Ar on 2-hydroksi-5-metyylifenyyli tai 2-hydroksi-4-metyylifenyyli.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen koostumus, jossa Ar on kahdella metoksiryhmällä substituoitu fenyyli.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen koostumus, jossa Z on  $\text{OCH}_3$ .

4. Patenttivaatimuksen 2 mukainen koostumus, jossa Y on fenyyli.

5. Patenttivaatimuksen 2 mukainen koostumus,

jossa Y on naftyyli.

6. Patenttivaatimuksen 1 mukaisen yhdisteen käyttö lääkkeen valmistamiseksi, joka alentaa TNF $\alpha$ -tasoja nisäkkäällä.

7. Patenttivaatimuksen 1 mukaisen yhdisteen käyttö lääkkeen valmistamiseksi, joka ehkäisee TNF $\alpha$ :n aktivoiman retroviruksen kertaantumista nisäkkäässä.

8. Patenttivaatimuksen 2 mukaisen yhdisteen käyttö lääkkeen valmistamiseksi, joka ehkäisee TNF $\alpha$ :n aktivoiman retroviruksen kertaantumista nisäkkäässä.

9. Farmaseuttinen koostumus, joka sisältää patenttivaatimuksen 1 mukaista yhdistettä määrän, joka on tehokas yhtenä tai useana annoksena TNF $\alpha$ :n ehkäisemiseen.

10. Farmaseuttinen koostumus, joka sisältää patenttivaatimuksen 2 mukaista yhdistettä määrän, joka on tehokas yhtenä tai useana annoksena TNF $\alpha$ :n ehkäisemiseen.

11. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, joka on 3-(N-bentsoyyliamino)-3-(3,4-dimetoksifenyyli)propionamidi-(N-bentsoyyliamino)-3-(3,4-dimetoksifenyyli)propionamidi, 3-(N-bentsoyyliamino)-3-(3,4-dietyyliifenyyli)propionamidi, 3-[N-(3-aminobentsoyyli)amino]-3-(3,4-dietoksi-fenyyli)propionamidi, 3-[N-(3-metoksibentsoyyli)-amino]-3-(3,4-dietoksifenyyli)propionamidi, 3-[N-(4-metoksibentsoyyli)amino]-3-(3,4-dietoksifenyyli)-propionamidi, metyyli 3-(N-bentsoyyliamino)-3-(3,4-dietoksifenyyli)propionaatti, metyyli 3-[N-(3-aminobentsoyyli)amino]-3-(3,4-dietoksifenyyli)propionaatti, metyyli 3-[N-(3-metoksibentsoyyli)amino]-3-(3,4-dietoksifenyyli)propionaatti tai metyyli 3-[N-(4-metoksibentsoyyli)amino]-3-(3,4-dietoksifenyyli)propionaatti.

12. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste ehkäisemään TNF $\alpha$ :n aktivoiman retroviruksen kertaantumista nisäkkäässä.

13. Patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste  
ehkäisemään TNF $\alpha$ :n aktivoiman retroviruksen kertaantu-  
mista nisäkkäässä.

9  
7  
2  
2  
2  
6

8  
0  
6  
0  
4  
4

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar

Hakemus-, kuulutus- ja patenttijulkaisuja: - Ansökningspublikationer,  
utläggnings- och patentskrifter:

FI \_\_\_\_\_

CH \_\_\_\_\_

DE \_\_\_\_\_

DK \_\_\_\_\_

FR \_\_\_\_\_

GB \_\_\_\_\_

NO \_\_\_\_\_

SE \_\_\_\_\_

US \_\_\_\_\_

Merkitse hakemusjulkaisun (esim. saksal. Offenlegungsschrift) numeron eteen H ja vastaavasti kuulutus- ja patenttijulkaisun numeron eteen K ja P.

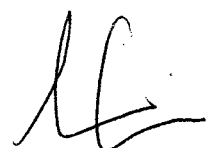
Käännä

Vänd

EP

WO A 9205271

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

25.9.08  APH

Allekirjoitus