

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

**PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE**

(10) FI 960849 A7

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **960849**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
**A61K 33/24
A61K 31/28**

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **19.08.1994**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **23.02.1996**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **23.02.1996**

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

(86) Kansainvälinen hakemus - **19.08.1994 PCT/GB1994/001817**
Internationell ansökan - International
application

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

25.08.1993 GB 9317686

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •AnorMED Inc., No.100, 20353 - 64th Avenue, Langley, British Columbia V2Y 1N5, KANADA, (CA)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Abrams, Michael Jeffrey, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

2 •Fricker, Simon Paul, United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)

3 •Murrer, Barry Anthony, Reading, Berkshire RG1 5SB, ISO-BRITANNIA, (GB)

4 •Vaughan, Owen John, Sverige, SVERIGE, (SE)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

Metallikomplekseja sisältäviä farmaseuttisia koostumuksia

Farmaceutiska kompositioner innehållande metallkomplexer

Metallikomplekseja sisältäviä farmaseuttisia koostumuksia

Tämä keksintö koskee uusia farmaseuttisia koostumuksia ja farmaseuttisia koostumuksia, jotka ovat aktiivisia sellaisia tauteja vastaan, joita typpioksidin liikatuotanto tai paikallinen suuri pitoisuus kehossa aiheuttavat tai jotka liittyvät näihin ilmiöihin.

Typpioksidi (NO) näyttölee vaihtelevaa ja elintärkeää osaa ihmisen kehossa. Esimerkiksi NO näyttölee elintärkeää osaa verenpaineen säädössä; se toimii hermovälittäjäaineena; se näyttölee osaa verihituleiden kasautumisen ehkäisemisessä (tärkeää veritulpassa tai verisuonten tukkeutumisessa), ja solujen kasvun ehkäisyssä (tärkeää kasvainten torjunnassa). NO:n liikatuotanto on kuitenkin kietoutunut lukuisiin tautitiloihin, kuten verisuoni/painetta lisääviin tauteihin, kuten tartunnalliseen sokkiin, verenvähyyttä seuraavaan aivovaurioon, migreeniin ja dialyysin aiheuttamaan munuaisten alentuneeseen paineeseen; immuunipatologisiin tauteihin, kuten maksavaurioon tulehduksessa ja verenmyrkytyksessä, kudossiirrännäisen hylkimiseen, siirrännäisen isäntään tuomiin tauteihin, sokeritautiin ja haavojen paranemiseen; hermoja rappeuttaviin tauteihin, kuten aivojen verenvähyyteen, tapaturmiin, krooniseen kaatumatautiin, Alzheimerin tautiin, Huntingtonin tautiin ja AIDS-tylsistymisöireyhtymään; ja hoidon sivuvaikutuksiin, kuten verisuoniplastiikkahoitoa seuraavaan uudelleenauhtautumiseen ja solumyrkkyhoitoa seuraavaan sekundääriseen verenpaineen alenemaan.

Typpioksidin farmakologinen modulointi missä tahansa näistä tautitiloista osoittautuisi erittäin edulliseksi.

Eräs edellä mainittu tauti, joka liittyy NO:n liikatuotantoon, on tartunnallinen sokki. Tätä jouduttaa paikallinen verenmyrkytys tai hajautumismyrkyttyminen (bakteerihajautumismyrkkyjen suuret paikalliset tasot).

Tuloksena on makrofagien, imusolujen, endoteelisolujen ja muiden sellaisten solutyyppeiden aktivoituminen, jotka kykenevät tuottamaan NO:a, jota näiden solujen solumyrkkytuotanto edelleen välittää. Aktivoituneet makrofagit tuottavat ylimäärin NO:a, mikä aiheuttaa verisuonten laajenemista ja johtaa paikalliseen suonivaurioon ja suonensähtämiseen. Tämä suonien yhtenäisyyden tuhoutuminen voi olla niin suurta, että se johtaa hemodynaamisen homeostasiksin romahtamiseen, jonka lopputuloksena on kuolema.

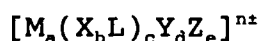
Nykyiset ajatukset typpioksidin farmakologiseksi moduloimiseksi tällaisissa taudeissa perustuvat tartuntalisen sokin välittäjäaineiden, kuten solumyrkkyjen, hajautumismyrkkyjen ja verihiutaleita aktivoivan tekijän (PAF) käsittelyyn. Lähestymistapoihin kuuluvat solumyrkkyjen vasta-aineiden, kuten kasvaimen kuoliotekijän (TNF), reseptorivastustajien, kuten interleukiini 1:n (IL-1), lipopolysakkaridin (hajautumismyrkky, jota gram-negatiiviset bakteerit tuottavat) vasta-aineiden ja PAF:n vastustajien käyttö. Vaikka kaikki tällaiset lähestymistavat asettuvat vastustamaan tulehduksellista sokkia välittävää tekijää, ne eivät yritä käsitellä taudin etiologiaa tai syytä. Viimeaikaiset edistysaskeleet NO:n ymmärtämisessä ovat johtaneet ehdotukseen, että NO:n syntaasientsyymin inhibiittorit, kuten N^G-monometyyli-L-arginiini (L-NMMA), saattavat olla hyödyllisiä tulehduksellisen sokin ja muiden NO:n liikatuotantoon liittyvien tautien hoidossa, koska ne ehkäisevät NO:n tuotantoa. Vaikka näillä inhibiittoreilla on osoittautunut olevan jonkin verran käyttöä eläinmalleissa ja alustavissa kliinisisissä tutkimuksissa, niiden haittana on, että ne ehkäisessivät epämieluisasti NO:n kokonaissynteesiä kehossa.

Esillä olevan keksinnön tavoitteena on saada aikaan uusia ja edellä mainittuja farmaseuttisia koostumuksia, jotka kykenevät moduloimaan NO-tasoja kehossa puhdistamalla tai poistamalla NO:a in situ niin, että välttämätön NO-

synteesi jatkuu, kun taas vaaralliset liikamäärät poistetaan. On havaittu, että tietyillä metallikomplekseilla on kykyä suorittaa tämä tärkeä tehtävä.

Eräitä metallikomplekseja tunnetaan farmaseuttisissa valmisteissa, jotka on tarkoitettu tautien hoitoon ihmiskehossa. Esimerkiksi tiettyjä platinan ja ruteniumin komplekseja on käytetty tai mainittu syövän hoidossa. Metallikomplekseja ei ole kuitenkaan aikaisemmin mainittu NO:n liikatuotantoon liittyvien tautien hoidossa.

Tämä keksintö kohdistuu neutraalin, anionisen tai kationisen metallikompleksin käyttöön, jossa on vähintään yksi koordinaatiokohta NO:a varten ja jolla on kaava



kaava I

15

lääkeaineen valmistamiseksi, joka on tarkoitettu NO-tasojen alentamiseen, kun NO on kietoutunut tautiin, jossa kaavassa:

M on metalli-ioni tai metalli-ionien seos;

20

X on kationi tai kationien seos;

L on ligandi tai ligandien seos, joista kukin sisältää vähintään kaksi eri luovuttaja-atomia, jotka on valittu jaksollisen järjestelmän ryhmän IV, ryhmän V tai ryhmän VI alkuaineista;

25

Y on ligadi tai saman tai eri ligandin seos, joista kukin sisältää vähintään yhden luovuttaja-atomin tai useampia kuin yhden luovuttaja-aiomin, joka luovuttaja-atomia on valittu jaksollisen järjestelmä ryhmän IV, ryhmän V tai ryhmän VI alkuaineista; ja

30

Z on halidi- tai pseudohalidi-ioni tai halidi-ionien ja pseudohalidi-ionien seos;

a = 1 - 3; b = 0 - 12; c = 0 - 18; d = 0 - 18; e = 0 - 18; ja n = 0 - 10;

35

edellyttäen, että ainakin yksi indekseistä c, d ja e on 1 tai suurempi;

ja kun c on 0; b on myös 0;

ja kun a on 1; c , d ja e ovat korkeintaan 9;

ja kun a on 2; c , d ja e ovat korkeintaan 12.

"Kompleksilla" tarkoitetaan tässä patenttimäärityksessä neutraalia tai anionista tai kationista kompleksia.

Tässä käytetyllä termillä "ryhmä" on ymmärrettävä jaksollisen järjestelmän pystysaraketta, jossa kunkin ryhmän alkuaineilla on samantapaiset fysikaaliset ja kemialliset ominaisuudet. Jaksollisen järjestelmän määritelmä on se, joka luetaan Mondelejevin ansioksi; Chambers Dictionary of Science and Technology, 1974, julkaisija W & R Chambers Ltd.

Tämän keksinnön voidaan myös sanoa kohdistuvan menetelmään NO-tasojen alentamiseksi, kun NO on kietoutunut ihmiskehon tauteihin, jossa menetelmässä annetaan potilaalle farmaseuttista koostumusta, joka sisältää kaavan I neutraalia, anionista tai kationista metallikompleksia.

Tämä keksintö voi myös kohdistua kaavan I neutraalin, anionisen tai kationisen metallikompleksin käyttöön lääkeaineen valmistuksessa, joka on tarkoitettu NO:n liikatuotantoon liittyvän taudin hoitoon.

Tämän keksinnön voidaan myös sanoa kohdistuvan menetelmään sellaisten ihmiskehon tautien hoitamiseksi, jotka ovat seurausta NO:n liikatuotannosta ihmiskehossa, jossa menetelmässä annetaan potilaalle farmaseuttista koostumusta, joka sisältää kaavan I neutraalia, anionista tai kationista metallikompleksia.

Kun kaava I esittää anionista kompleksia, myös kationi on läsnä. Kun kaava I esittää kationista kompleksia, myös anioni on läsnä. Metallikompleksit voivat olla hydratoituja.

M on edullisesti ensimmäisen, toisen tai kolmannen rivin siirtymämetalli-ioni. M voi esimerkiksi olla Rh-, Ru-, Os-, Mn-, Co-, Cr- tai Re-ioni ja se on edullisesti Rh-, Ru- tai Os-ioni.

M on sopivasti hapetustilassa III. Yllättäen on havaittu, että kun metalli-ioni, esimerkiksi rutenium on hapetustilassa III, nopeus, jolla se sitoutuu NO:iin, on merkittävästi suurempi kuin sen ollessa hapetustilassa II.

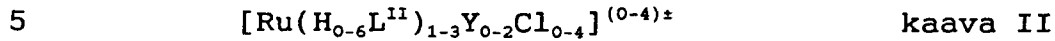
5 X voi olla mikä tahansa kationi, kuten yksi-, kaksi- tai kolmiarvoinen kationi. Sopivia kationeja voivat olla H^+ , K^+ , Na^+ , NH_4^+ tai Ca^{2+} . Sopivasti X voi olla H^+ , K^+ tai Na^+ .

10 L on edullisesti ligandi, joka sisältää sekä typpi- että happiluvuttaja-atomeja. Esimerkkejä sopivista tällaisista ligandeista ovat etyleenidiamiini-N,N'-dietikkahappo (edda), etyleenidiamiinitetraetikkahappo (edta), nitrilotrietikkahappo (nta), dipikoliinihappo (dipic), pikoliinihappo (pic), dietyleenitriamiinipentaetikkahappo
15 (dtpa), tiobis(etyleeninitrilo)tetraetikkahappo (tedta), ditioetaanibis(etyleeninitrilo)tetraetikkahappo (dtedta) ja N-(2-hydroksietyyli)etyleenidiamiinitrietikkahappo (hedtra).

20 Y on edullisesti ligandi, joka sisältää typpi-, happi-, rikki-, hiili- tai fosforiluvuttajaryhmiä. Sopivia typpiluvuttajaryhmiä voivat olla esimerkiksi ammiini-, amiini-, nitriili- ja nitridiryhmät tai niiden johdannaiset. Sopivia happiluvuttajaryhmiä voivat olla esimerkiksi karboksyylihappo-, esteriryhmät tai niiden johdannaiset,
25 vesi, oksidi-, sulfoksidi-, hydroksidi-, asestaatti-, laktaatti-, pripionaatti-, oksalaatti ja malto-laattiryhmät. Sopivia rikkiluvuttajaryhmiä voivat olla esimerkiksi sulfoksidi-, dialkyyylisulfidi-, ditiokarba-
30 maatti- tai ditiofosfaattiryhmät. Sopivia hiililuvuttajaryhmiä voivat olla esimerkiksi hiilimonoksidi tai isosyanidiryhmä. Sopivia fosforiluvuttajaryhmiä voi olla esimerkiksi trialkyylifosfiiniryhmä.

Z voi olla mikä tahansa halidi-ioni ja se on edullisesti kloridi-, bromidi- tai jodidi-ioni. Kaikkein sopi-
35 vimmin Z on kloridi-ioni.

Esimerkkejä esillä olevan keksinnön mukaisesti käytettävistä metallikomplekseista ovat valinnaisesti hydrotoidut ruteniumkompleksit, joilla on kaava:



jossa L^{II} on amidi- tai esteriryhmä tai niiden johdannainen tai monisakarainen aminokarboksylaattiligandi, esimerkiksi edta, nta, dipic, pic, edda, tropoloni, dtpa, hedtra, 10 tedta tai dtedta tai edtan tai dtpan diamidi tai minkä tahansa näistä seos ja Y on sama kuin edellä määriteltiin ja se voi olla valittu esimerkiksi asetyyliasetonista (asac), β -diketonaatista, vedestä, dimetyylisulfoksidista (dmso), karboksylaattista, kaksisakaraisesta karboksylaattista, katekolista, kojiinihaposta, maltolista, hydroksidista, tropolonista, malonihaposta, oksaalihaposta, 2,3-dihydroksinaftaleenista, skuariinihaposta, asetaatista, sulfaatista ja glykolaatista. Kokenut lukija kykenee korvaamaan ligandin Y muilla tunnetuilla ligandeilla, jotka 20 kuuluvat tämän keksinnön suojapiiriin. Ligandien tedta, dtedta ja edtan ja dtpan diamiini valmistusmenetelmiä kuvataan samassa järjestyksessä seuraavissa kirjallisuusviitteissä:

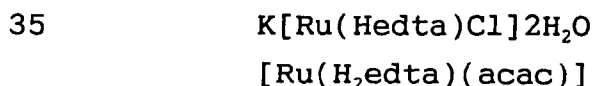
25 P. Tse & J. E. Powell, Inorg. Chem., (1985), 24, 2727,

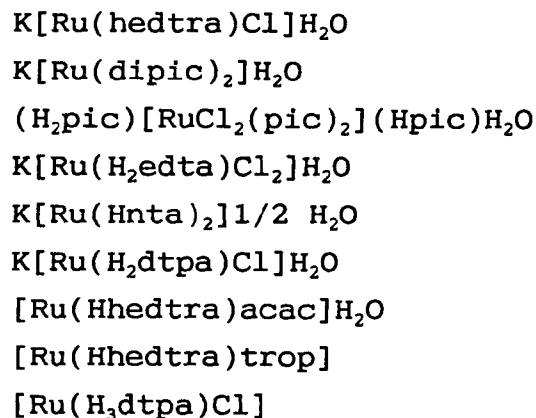
G. Schwartzenbach, H. senner, G. Anderegg, Helv. Chim. Acta 1957, 40, 1886,

30 M. S. Konings, W. C. Dow, D. B. Love, K. N. Raymond, S. C. Quay ja S. M. Rocklage, Inorg Chem (1990), 29, 1488 - 1491,

P. N. Turowski, S. J. Rodgers, R. C. Scarrow ja K. N. Raymond, Inorg. Chem. (1988), 27, 474 - 481.

Kun kaavan II kompleksi on anioni, tarvitaan kationi. Kaavan II komplekseja on läsnä esimerkiksi yhdisteissä





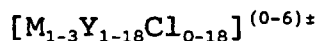
5

10

Kaavan II komplekseja ei parhaan tietämyksen mukaan ole aikaisemmin mainittu missään farmaseuttisessa koostumuksessa. Tämän vuoksi esillä oleva keksintö kohdistuu myös farmaseuttiseen koostumukseen, joka sisältää valinnaisesti hydratoitua kaavan II ruteniumkompleksia.

15

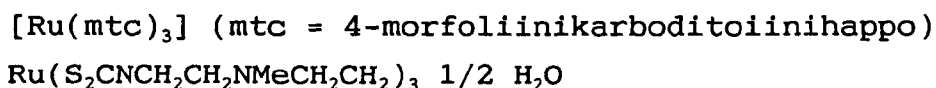
Lisäesimerkkejä esillä olevan keksinnön mukaisesti käytettävistä metallikomplekseista ovat valinnaisesti hydratoidut kaavan III kompleksit



kaava III

20

jossa Y on rikkiluovuttajaligandi. Tällaista kompleksia on läsnä esimerkiksi yhdisteissä



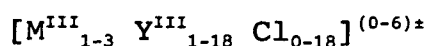
25

30

Kaavan III komplekseja, joissa Y on rikkiluovuttajaligandi, ei ole parhaan tiedon mukaan aikaisemmin mainittu missään farmaseuttisessa koostumuksessa. Tämän vuoksi esillä oleva keksintö kohdistuu myös farmaseuttiseen koostumukseen, joka sisältää valinnaisesti hydratoitua kaavan III kompleksia, jossa Y on rikkiluovuttajaligandi.

Vielä muita esimerkkejä metallikomplekseista, jotka on tarkoitettu käytettäväksi esillä olevan keksinnön mu-

kaisesti, ovat valinnaisesti hydratoituneet ruteniumin kompleksit, joilla on kaava



kaava III

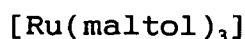
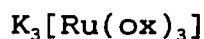
5

jossa M^{III} on rutenium ja Y^{III} on happiluvuttajaligandi, kuten asetaatti, laktaatti, vesi, oksidi, propionaatti (COEt), oksalaatti (ox) tai maltolaatti (maltol) tai näiden yhdistelmä. Näitä kaavan III komplekseja on läsnä yhdisteissä

10



15

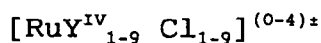


Eräitä kaavan III komplekseja ei parhaan tiedon mukaan ole aikaisemmin mainittu missään farmaseuttisessa koostumuksessa. Tämän vuoksi esillä oleva keksintö kohdistuu myös farmaseuttiseen koostumukseen, joka sisältää valinnaisesti hydratoitua kaavan III ruteniumkompleksia, jossa M^{III} on rutenium ja Y^{III} on happiluvuttajaligandi, joka on valittu ryhmästä, johon kuuluvat asetaatti, laktaatti, oksidi, propionaatti ja maltolaatti.

25

Muita esimerkkejä metallikomplekseista, jotka on tarkoitettu käytettäväksi esillä olevan keksinnön mukaisesti, ovat valinnaisesti hydratoituneet ruteniumin kompleksit, joilla on kaava

30

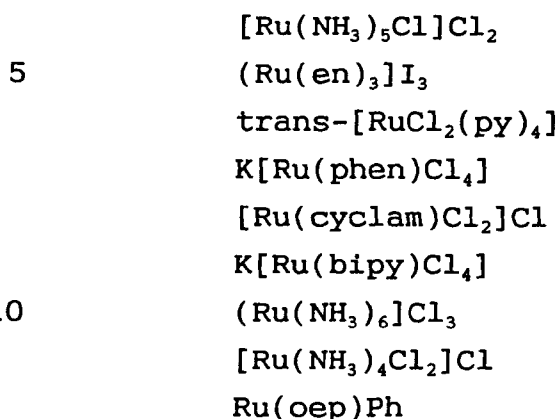


kaava IV

35

jossa Y^{IV} on typpiluvuttajaligandi, kuten ammiini, etyleenidiamiini (en), pyridiini (py), 1,10-fenantroliini (phen), 2,2-bipyridiini (bipy) tai 1,4,8,11-tetra-atsasyk-

lotetradekaani (cyclam), 2,3,7,8,12,13,17,18-oktaetyyli-
porfyriini (oep) tai näiden yhdistelmä. Kaavan IV komplek-
seja on läsnä esimerkiksi yhdisteissä

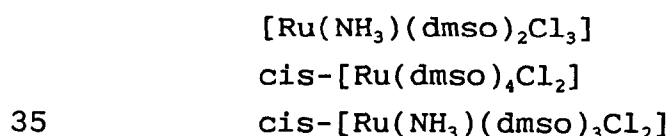


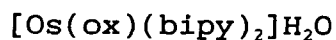
Eräitä kaavan IV komplekseja ei ole parhaan tiedon
mukaan aikaisemmin mainittu missään farmaseuttisessa koos-
tumuksessa. Tämän vuoksi esillä oleva keksintö kohdistuu
15 myös farmaseuttiseen koostumukseen, joka sisältää valin-
naisesti hydratoitua kaavan IV ruteniumkompleksia, jossa
 Y^{IV} on typpiluovuttajaligandi, joka on valittu ryhmästä,
johon kuuluvat en, py, phen, bipy, cyclam ja oep. Kokenut
20 lukija voi valmistaa näiden ligandien johdannaisia ja ne
kuuluvat tämän keksinnön suojapiiriin.

Vielä muita esimerkkejä metallikomplekseista, jotka
on tarkoitettu käytettäväksi esillä olevan keksinnön mu-
kaisesti, ovat valinnaisesti hydratoidut ruteniumin tai
25 osmiumin komplekset, joilla on yleinen kaava



jossa Y^{V} on edellä kuvattujen luovuttajalingadien, esimer-
30 kiksi ligandien ammiini, dmso, oksalaatti, bipy, acac ja
MeCN yhdistelmä. Kaavan V komplekseja on läsnä esimerkiksi
yhdisteissä





Kahden viimeksimainitun edellä olevan yhdisteen kompleksiooneja ei ole parhaan tiedon mukaan aikaisemmin mainittu missään farmaseuttisessa koostumuksessa. Tämän vuoksi esillä oleva keksintö kohdistuu myös farmaseuttiseen koostumukseen, joka sisältää valinnaisesti hydratoitua kaavan $[\text{Os}(\text{ox})(\text{bipy})_2]$ kompleksia; ja edelleen farmaseuttiseen koostumukseen, joka sisältää valinnaisesti hydratoitua kaavan $[\text{Ru}(\text{acac})_2(\text{MeCN})_2]^+$ kompleksia.

Käytössä esillä olevan keksinnön komplekseja voidaan sisällyttää aktiivisena komponenttina farmaseuttiseen koostumukseen, joka sisältää minkä tahansa kaavan I - V valinnaisesti hydratoitua kompleksia sekoitettuna farmaseuttisesti hyväksyttävään kantoaineeseen tai laimentimeen. Tällainen farmaseuttinen koostumus voidaan kokoonpanna hyvin tunnettujen periaatteiden mukaisesti ja se voi olla ruoansulatuskanavan ulkopuoliseen käyttöön tarkoitettun liuoksen tai suspension muodossa yhtenä tai toistuvina annoksina tai se voi olla kapselissa, tabletissa, lääkerakkeessa tai muussa kiinteässä koostumuksessa tai suun kautta nautittavana liuoksena tai suspensiona tai se voi olla seostettu emätinpuikkoihin tai peräpuikkoihin tai minkä tahansa edellä mainitun pitkävaikutteisiin muotoihin. Liuos tai suspensio voidaan antaa yhtenä tai toistuvana ruiskeena tai jatkuvana tiputuksena tai missä tahansa muussa järjestyksessä. Sopivia laimentimia, kantoaineita, täyteaineita ja muita komponentteja tunnetaan. Tällainen farmaseuttinen koostumus voi sisältää annoksia, jotka on määrätty tavanomaisten farmakologisten menetelmien mukaisesti ja jotka soveltuvat aikaansaamaan ihmisillä aktiivisia komplekseja annostusalueella 1 mg - 10 g/vrk. Kulloinkin vaadittu annos riippuu suuresti siitä, missä kohtaa kehoa NO:n liikapitoisuutta on ja kuinka pitkään liika-

tuotanto jatkuu tai kuinka paljon NO-tasojen alentumista vaaditaan, kun NO on kietoutunut tautiin.

Tätä keksintöä kuvataan nyt esimerkillä.

5 Lukuksia kaupallisesti saatavia yhdisteitä ja kirjallisuudessa tunnetuilla tavoilla valmistettuja yhdisteitä, jotka sisälsivät esillä olevan keksinnön komplekseja, testattiin in vitro, in vitro -soluviljelmässä ja ex-vivo tarkoituksena määrittää niiden kyky koordinoitua NO:n kanssa. Testatut kompleksit olivat seuraavat:

10

Esim. Yhdiste	Valmistuksen kirjallisuusviite
1 K[Ru(Hedta)Cl]2H ₂ O	A. A. Diamantis & J. V. Dubrawski, Inorg. Chem. (1981), <u>20</u> , 1142 - 1150
15 2 [Ru(H ₂ edta)(acac)]	A. A. Diamantis & J. V. Dubrawski, Inorg. Chem. (1983), <u>22</u> , 1934 - 1936
3 K[Ru(hedtra)Cl]H ₂ O	H. C. Bajaj & R. van Eldik, Inorg. Chem. (1982), <u>28</u> , 1980 - 1983
20 4 K[Ru(dipic) ₂]H ₂ O	N. H. Williams & J. K. Yandell, Aust. J. Chem. (1983), <u>36</u> (12), 2377 - 2386
25 5 (H ₂ pic)[RuCl ₂ (pic) ₂](Hpic)H ₂ O	J. D. Gilbert, D. Rose & G. Wilkinson, J. Chem. Soc. (A), (1970), 2765 - 2769
6 K[Ru(H ₂ edta)Cl ₂]H ₂ O	A. A. Diamantis & J. V. Dubrawski, Inorg. Chem. (1981), <u>20</u> , 1142 - 1150
30 7 K[Ru(Hnta) ₂]1/2H ₂ O	M. M. Taqui Khan, A. Kumar & Z. Shirin, J. Chem. Research (M), (1986), 1001 - 1009

	8	$K[Ru(H_2dtpa)Cl]H_2O$	M.M. Taqui Khan, A. Kumar & Z. Shirin, J. Chem. Research (M), (1986), 1001 - 1009
5	9	$[Ru_3O(lac)_6](lac)$	A. Spencer & G. Wilkinson, J. Chem. Soc. Dalton Trans, (1972), 1570 - 1577
	10	$[Ru_3O(OAc)_6](OAc)$	A. Spencer & G. Wilkinson, J. Chem. Soc. Dalton Trans. (1972), 1570 - 1577
10	11	$[Ru_2(OAc)_4]NO_3$	M. Mukaida, T. Nomura & T. Ishimori, Bull. Chem. Soc. Japan, (1972), <u>45</u> , 2143- 2147
	12	$[Ru_2(OCOEt)_4]NO_3$	A. Bino, F.A. Cotton & T.R. Felthouse, Inorg. Chem. (1979), <u>18</u> , 2599 - 2604
15	13	$K_3[Ru(ox)_3]$	C. M. Che, S. S. Kwong, C. K. Poon, T. F. Lai & T. C.W . Mak, Inorg. Chem. (1985), <u>24</u> , 1359 - 1363
20	14	$[Ru_2(OAc)_4]Cl$	R. W. Mitchell, A. Spencer & G. Wilkinson, J. Chem. Soc. Dalton Trans., (1973), 846 - 854
25	15	$[Ru(NH_3)_5Cl]Cl_2$	A. D. Allen, F. Bottomley, R. O. Harris, V. P. Reinsalu & C. V. Senoff, J. Amer. Chem. Soc. (1967), <u>89</u> , 5595 - 5599
30	16	$[Ru(en)_3]I_3$	T. J. Meyer & H. Taube, Inorg. Chem. (1968), <u>7</u> , 2369 - 2379
	17	$K[RuCl_4(phen)H_2O]$	B. R. James & R. S. McMillan, Inorg. Nucl. Chem. Lett. (1975), <u>11(12)</u> , 837 - 839

- | | | | |
|----|----|--|---|
| | 18 | $[\text{Ru}(\text{cyclam})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ | P. K. Chan, D. A. Isabirye & C. K. Poon, <i>Inorg. Chem.</i> (1975), <u>14</u> , 2579 - 2580 |
| 5 | 19 | $\text{K}[\text{RuCl}_4(\text{bipy})]$ | B. R. James & R. S. McMillan, <i>Inorg. Nucl. Chem. Lett.</i> (1975), <u>11(12)</u> , 837 - 839 |
| | 20 | $[\text{RuCl}_3(\text{dmsO})_2(\text{NH}_3)]$ | Patentti: International Publication WO 91/13 553 |
| 10 | 21 | $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ | Matthey Catalogue Sales: Cat. No [190245] |
| | 22 | $\text{cis}-[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$ | E. A. Alessio, G. Mestroni, G. Nardin, W. M. Attia, M. Calligaris, G. Sava & S. Zorget, <i>Inorg. Chem.</i> (1988), <u>27</u> , 4099 - 4106 |
| 15 | 23 | $\text{cis}-[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_3(\text{NH}_3)]$ | M. Henn, E. Alessio, G. Mestroni, M. Galligaris & V. M. Attia, <i>Inorg. Chim. Acta</i> (1991), <u>187</u> , 39 - 50 |
| 20 | 24 | $[\text{RuCl}_3(\text{dmsO})_3]$ | E. Alessio, G. Balducci, M. Calligaris, G. Costa, W. M. Attia & G. Mestroni, <i>Inorg. Chem.</i> (1991), <u>30</u> , 609 - 618 |
| 25 | 25 | $[\text{Ru}(\text{mtc})_3]$ | A. R. Hendrickson, J. M. Hope & R. L. Martin, <i>J. Chem. Soc. Dalton Trans.</i> (1976), <u>20</u> , 2032 - 2039 |
| 30 | 26 | $[\text{Ru}(\text{maltol})_3]$ | W. P. Griffith & S. J. Greaves, <i>Polyhedron</i> , (1988), <u>7(19)</u> , 1973 - 1979 |
| | 27 | $[\text{Ru}(\text{acac})_2(\text{MeCN})_2]-\text{CF}_3\text{SO}_3$ | Y. Kasahara, T. Hoshino, K. Shimizu & G. P. Sato, <i>Chem. Lett.</i> (1990), <u>3</u> , 381 - 384 |
| 35 | 28 | $\text{K}_2[\text{RuCl}_5(\text{H}_2\text{O})]$ | Matthey Catalogue Sales; Cat. No [190094] |

- | | | |
|----|--|---|
| 29 | $[\text{Os}(\text{ox})(\text{bipy})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ | D. A. Buckingham, F.P. Dwyer, H. A. Goodwin & A. M. Sargeson, Aust. J. Chem. (1964), 325 - 336 |
| 5 | | G. M. Bryant, J. E. Ferguson & H. K. J. Powell, Aust. J. Chem. (1971), <u>24(2)</u> , 257 - 273 |
| 10 | 30 $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{Cl}_2]\text{Cl}$ | S. D. Pell, M. M. Sherban, V. Tramintano & M. J. Clarke, Inorg. Synth. (1989), <u>26</u> , 65 |
| 15 | 31 $[\text{Ru}(\text{Hedtra})(\text{dppm})]$ | M. M. Taqui Khan, K. Venkatasubramanian, Z. Shirin, M. M. Bhadbhade, J. Chem. Soc. Dalt. Trans. (1992), 885 - 890 |
| 20 | 32 $\text{Ru}(\text{oep})\text{Ph}$ | M. Ke, S.J. Rettig, B.R. James D. Dolphin, J. Chem. Soc. Chem. Commun. (1987), 1110 |

Lukuisia uusia yhdisteitä valmistettiin seuraavien pöytäkirjojen mukaisesti. Ensimmäiset neljä yhdistettä ovat esimerkkejä kaavan $[\text{Ru}(\text{H}_{0-6}\text{L}^{\text{II}})_{1-3}\text{Y}_{0-2}\text{Cl}_{0-4}]^{(0-4)\pm}$ (kaava II) ruteniumkoplekseista, seuraavat kaksi ovat esimerkkejä kaavan $[\text{M}_{1-3}\text{Y}_{1-8}\text{Cl}_{0-18}]^{(0-6)\pm}$ (kaava III) komplekseista.

Yhdisteen $[\text{Ru}(\text{Hhedtra})\text{acac}] \cdot \text{H}_2\text{O}$ valmistus

- | | |
|----|---|
| 25 | Ylimäärin asetyyliasetonia (1 cm^3) lisättiin yhdisteen $\text{K}[\text{Ru}(\text{hedtra})\text{Cl}]$ (0,5 g) vesiliuokseen (5 cm^3). Liuoksen väri muuttui violetiksi. Seosta lämmitettiin 20 minuuttia ja jätettiin sitten seisomaan huoneenlämpötilaan 20 minuutiksi. Violetti liuos uutettiin kloroformilla (20 cm^3). Uutto toistettiin vielä kahdesti. Violetti tuote saostui vesijakeesta. Tuote suodatettiin, pestiin asetonilla ja kuivattiin alipaineessa, saanto 0,1 g (18 %). |
| 30 | |
| 35 | |

Analyysi, laskemalla kaavasta $C_{15}H_{25}O_{10}N_2Ru$: C 36,43, H 5,11, N 5,70. Kokeellisesti: C 36,16, H 5,42, N 5,61 %.

Yhdisteen $[Ru(Hedtra)_{trop}]2H_2O$ valmistus

Kolminkertainen ylimäärä tropolonia (0,78 g) liuotettuna veden ja absoluuttisen etanolin seokseen (5 cm³) suhteessa 50:50 lisättiin yhdisteen $K[Ru(hedtra)Cl]$ lämpimään vesiliuokseen (10 cm³). Seosta lämmitettiin 1 tunti. Tummanvihreän seoksen jäähtyttyä se uutettiin 3 x 20 cm³:n annoksilla dikloorimetaania. Vesijakeen seistystä siitä saostui tummanvihreä tuote. Tuote suodatettiin, pestiin vedellä (1 cm³), eetterillä ja kuivattiin alipaineessa, saanto 0,4 g (36 %).

Analyysi, laskemalla kaavasta $C_{17}H_{22}N_2O_9Ru \cdot 2H_2O$: C 38,13, H 4,86, N 5,23. Kokeellisesti: C 38,55, H 4,67; N 5,28 %.

Yhdisteen $[Ru(H_3dtpa)Cl]$ valmistus

Yhdistettä $K_2[RuCl_5H_2O] \cdot xH_2O$ (1 g) suspendoitiin $HClO_4$:iin (15 cm³, 1 mM) ja dietyleenitriamiinipentaetikkahappoa (1,05 g) lisättiin. Reaktioseosta kuumennettiin refluksoiden 1,5 tuntia, jolloin muodostui keltaruskea liuos. Sen jäähtyttyä keltainen tuote kiteytyi ja se kerättiin talteen suodattamalla, pestiin 90 % absoluuttista etanolia ja vettä sisältävällä liuoksella, dietyylieetterillä ja kuivattiin alipaineessa, saanto 0,75 g, 53 %.

Analyysi, laskemalla kaavasta $C_{14}H_{21}N_3O_{10}ClRu$: C 31,85, H 3,98, N 7,96, Cl 6,73. Kokeellisesti: C 29,77, H 3,81, N 7,36, Cl 6,64.

Yhdisteen $K[RuHhbedCl]3H_2O$ valmistus

0,41 g yhdistettä $K_2[RuCl_5] \cdot xH_2O$ liuotettiin veteen (20 ml). Tähän liuokseen lisättiin 1 ekvivalentti (0,39 g) N,N'-di(2-hydroksibentsyyli)etyleenidiamiini-N,N-dietikkahappoa (hbed) liuotettuna veteen (50 ml), jossa oli KOH:a (0,12 g) ja MeOH:a (1 ml). Tätä seosta kuumennettiin refluksoiden 90 minuuttia. Sen jäähtyttyä muodostui tumma, liukenematon sakka. Tämä materiaali poistettiin suodattamalla ja saatu punavioletti liuos haihdutettiin kuiviin

kiertohaihduttimella. Hiertäminen vedessä ja pesu asetonilla tuotti 90 mg tummaa kiinteää ainetta.

Analyysi, laskemalla kaavasta $C_{18}H_{22}N_2O_9RuClK$: C 36,89, H 3,96, N 4,78, Cl 6,04. Kokeellisesti: C 37,09, H 4,23, N 4,92, Cl 6,28.

Yhdisteen $Ru(S_2CNCH_2CH_2NMeCH_2CH_2)_3 \cdot 1/2H_2O$ valmistus

Yhdiste $Me_4N[S_2CNCH_2CH_2NMeCH_2CH_2]$ valmistettiin standardimenetelmällä ja kiteytettiin metanolin ja eetterin seoksesta 71 %:n saannolla.

- 10 Yhdistettä $RuCl_3 \cdot xH_2O$, 0,50 g, 2,15 mmol refluksotiin 30 ml:ssa metanolia 10 minuuttia ja jäähdytettiin. 1,87 g, 7,50 mmol yhdistettä $Me_4N[S_2CNCH_2CH_2NMeCH_2CH_2]$ lisättiin ja seosta refluksotiin 16 tuntia. Jäähdytyksen jälkeen 0,72 g epäpuhdasta tuotetta suodatettiin pois, liuotettiin dikloorimetaaniin ja suodatettiin. Suodos panostettiin 15 cm³:iin emäksistä alumiinioksidia ja eluoiitiin dikloorimetaanilla. Liuottimen poisto ja uudelleenkiteytys dikloorimetaanista eetterillä höyryfaasidiffuusiolla tuotivat 0,51 g, 0,80 mmol, 37 % ruskean mustia kiteitä,
- 15
- 20 $Ru(S_2CNCH_2CH_2NMeCH_2CH_2)_3 \cdot 1/2H_2O$.

Analyysi, laskemalla kaavasta $C_{18}H_{34}N_6O_{0,5}RuS_6$: C 34,00, H 5,39, N 13,2, S 30,25. Kokeellisesti: C 34,21, H 5,47, N 13,12, S 30,36.

Yhdisteen $Ru[S_2P(OC_2H_4OC_2H_4OMe)_2]_3$ valmistus

- 25 Yhdistettä $K[S_2P(OC_2H_4OC_2H_4OMe)_2]_3$ valmistettiin standardimenetelmällä ja se kiteytettiin metanolista 76 %:n saannolla.

- 30 $RuCl_3 \cdot xH_2O$:a, 1,00 g, 4,30 mmol refluksotiin 50 ml:ssa 0,1-N HCl, jossa oli 1 ml etanolia, 20 minuutin ajan ja jäähdytettiin. Tähän liuokseen lisättiin 5,28 g (ylimäärin) $K[S_2P(OC_2H_4OC_2H_4OMe)_2]_3$:a ja seosta sekoitettiin 30 °C:ssa 1 tunti. Reaktioseos uutettiin dikloorimetaanilla ja liuotin poistettiin. Jäännös uutettiin eetteri-heksaanilla ja liuottimet poistettiin. Tämä jäännös kiteytettiin 25 ml:sta kuumaa eetteriä jäähdyttämällä -20 °C:seen,
- 35

jolloin saatiin 2,98 g punaisia kiteitä. 2,41 g epäpuhdasta tuotetta puhdistettiin kromatografisesti 60 cm³:lla piidioksidigeeliä käyttäen 5 % etanolia eetterissä. Ensimmäinen jae kerättiin talteen, haihdutettiin kuiviin ja ki-
 5 teytettiin eetteristä jäähdyttämällä -20 °C:seen. Ru[S₂P-(OC₂H₄OC₂H₄OMe)₂]₃:n punaisten kiteiden saanto oli 2,16 g, 56 %.

Analyysi, laskemalla kaavasta C₃₀H₆₆O₁₈P₃RuS₆: C 32,72, H 6,04, S 17,47. Kokeellisesti: C 32,68, H 6,08, S 17,16.

10 In vitro -kokeissa, jotka suoritettiin argon-atmosfäärissä, jokaista yhdistettä (1 x 10⁴ mol) liuotettiin kaksoistislattuun, ionivaihdettuun ja happipoistettuun veteen. Saatu liuos asetettiin kolmikaulaiseen päärynänmuotoiseen kolviin ja sitä sekoitettiin magneettisekoittimella 1 000 rpm:n vakionopeudella 20 - 24 °C:n vakiolämpötilassa. Manometri liitettiin kolviin ja puhdistettua, kuivattua typpioksidikaasua (tunnettu tilavuus välillä 3 - 5 cm³) syötettiin väliseinän kautta käyttäen kaasuruiskua ilmakehän paineessa rekatioliuoksen yläpuolella olevaan
 15 tilaan. Kolvissa oleva paine rekisteröitiin jaksottain yhden tunnin aikana.

Tarkistuskoe suoritettiin edellä esitetyn mukaisesti, mutta ilman kopleksin läsnäoloa.

25 Rekisteröidyt paineet yhdessä tarkistuskokeen tulosten kanssa analysoitiin tarkoituksena määrittää NO:n sitoutumisnopeus ajan funktiona kullakin testatulla yhdisteellä.

Jokaisen in vitro -kokeen päätyttyä reaktioliuos pakastekuivattiin. Pakastekuivatun tuotteen infrapunaspektri antoi tietoa metalli-NO-sidoksen muodostumisesta.
 30

In vitro -soluviljelmäkokeissa rottaeläimen (RAW 264) makrofagisolulinjoja, jotka voidaan panna tuottamaan typpioksidia, istutettiin 10⁶ solua/syvennys tilavuudeltaan 2 ml:n/syvennys oleville 24 syvennyksen viljelylevyille
 35 Eaglesin modifioituun minimi elintärkeään väliaineeseen

(MEM) ynnä 10 %:iin naudansikiöseerumia ilman fenoli-punaista.

Solut aktivoitiin tuottamaan typpioksidia käyttäen 10 µg/ml lipopolysakkaridia ja 100 yksikköä/ml interferoni
 5 y:aa 18 tunnin ajan. Samanaikaisesti koeyhdisteitä, jotka oli muodostettu MEM-liuoksessa, lisättiin solumyrkyttöminä pitoisuuksina.

Edellä kuvattuja tarkistussoluja, jotka aktivoitiin tuottaman typpioksidia kuten edellä, mutta joihin ei li-
 10 sätty koeyhdistettä, käytettiin solujen kokeiden aikana tuottaman typpioksidimäärän mittaamiseen.

Taustatyyppioksidi määritettiin nitraatin ja nitrii-
 tin mittauksella soluissa, joita ei aktivoitu.

Solujen elinkelpoisuus varmistettiin Trypan-sini-
 15 värin poissulkemisella idätysjakson lopussa.

Tyyppioksidi määritettiin mittaamalla nitraatti ja nitriitti solujen yläpuolisessa nesteessä. Nämä anionit ovat NO:n reaktioiden stabiileja lopputuotteita liuokses-
 20 sa. Tällaiset reaktiot voivat katalysoitua tai olla katalysoitumatta biologisissa systeemeissä. Nitriitti- ja nitraattipitoisuuksien summa antaa NO:n kokonaistuotannon. Nitriitti määritettiin käyttäen Griess-reaktiota, jossa nitriitti reagoi 1-%:isen sulfaniiliamidin kanssa 5 % H_3PO_4 ja 0,1 % naftyylietyleenidiamiinin dihydrokloridia sisäl-
 25 tävässä liuoksessa muodostaen kromoforin, joka absorboi aallonpituudella 540 nm. Nitraatti määritettiin pelkistämällä nitraatti nitriitiksi Pseudomonas oleovorans -lajista saadulla bakteeriperäisellä nitraattireduktaasilla ja mittaamalla sitten nitriitti Griess-reaktiolla. Ilman koe-
 30 yhdisteitä nitriittipitoisuus ynnä nitraattipitoisuus ovat yhtä kuin kokonaistyyppioksidituotanto. Koeyhdisteiden vaikutus käytettävissä olevaan typpioksidin (mitattu nitriitistä + nitraatista) määritettiin. Käytettävissä olevan typpioksidin vähenemistä verrattuna tarkistustasoon voi-

daan pitää osoituksena koeyhdisteiden aikaansaamasta NO:n sitomisasteesta.

Ex vivo -kokeissa osia rotan häntävaltimosta (0,8 - 1,5 cm) leikattiin irti verenpaineeltaan normaaleista aikuisista Wistar-rotista. Valtimot huuhdeltiin sisältä Krebsin liuoksella (mM: NaCl 118, KCl 4,7, NaHCO₃ 25, NaH₂PO₄ 1,15, CaCl₂ 2,5, MgCl₂ 1,1, glukooosi 5,6 ja kaasukäsiteltiin 95 % O₂ ja 5 % CO₂ sisältävällä seoksella pH:n pitämiseksi arvossa 7,4) virtaukseltaan muuttumattomassa läpihuuhdeltiteessa. Paine-eroanturi, joka sijaitsi ylävirtaan astiasta, ilmaisi vastapaineen muutokset. Rotanhännän valtimovalmiste esisupistettiin 6,5 µM fenylefriinillä fysiologisesti normaalin 13,3 - 16,0 kPa:n (100-120 mmHg) paineen aikaansaamiseksi. Esisupistetut suonet läpihuuhdeltiin sitten koeyhdisteellä. Valtimot läpihuuhdeltiin Krebsin liuoksella koeyhdisteen käyttöjen välillä koeyhdisteen pesemiseksi pois.

Systeemin paineen muutokset toimivat osoittaen valtimon supistumista. Suonen supistuminen on suora seuraus sisäsyntyisen typpioksidin (edrf) poistosta rotan häntävaltimon endoteelisolusta.

Tulokset

Tulokset in vitro -kokeissa, in vitro -soluviljelmäkokeissa ja ex vivo -kokeista olivat seuraavat:

25 In vitro -kokeet

Esimerkki 1: K[Ru(Hedta)Cl]2H₂O

Paineen lasku osoitti NO:n sitoutumista metalliyhdisteeseen. Tätä kuvataan kuviossa 1.

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1 897 cm⁻¹, mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 2: [Ru(H₂edta)(acac)]

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1896 cm⁻¹, mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 3: $K[Ru(hedtra)Cl]H_2O$

Paineen lasku osoitti NO:n sitoutumista metalliyhdisteeseen. Tätä kuvataan kuviossa 1.

5 IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1889 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 4: $K[Ru(dipic)_2]H_2O$

Paineen lasku osoitti NO:n sitoutumista metalliyhdisteeseen. Tätä kuvataan kuviossa 1.

10 IR-sepktrissä oli piikki kohdassa 1915 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 5: $(H_2pic)[RuCl_2(pic)_2](Hpic)H_2O$

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1888 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 6: $K[Ru(H_2edta)Cl_2]H_2O$

15 Paineen lasku osoitti NO:n sitoutumista metalliyhdisteeseen. Tätä kuvataan kuviossa 1.

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1896 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 7: $K[Ru(Hnta)_2]1/2H_2O$

20 Paineen lasku osoitti NO:n sitoutumista metalliyhdisteeseen. Tätä kuvataan kuviossa 1.

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1889 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 8: $K[Ru(H_2dtpa)Cl]H_2O$

25 Paineen lasku osoitti NO:n sitoutumista metalliyhdisteeseen. Tätä kuvataan kuviossa 1.

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1905 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 9: $[Ru_3O(lac)_6](lac)$

30 IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1884 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 10: $[Ru_3O(OAc)_6](OAc)$

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1877 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 11: $[\text{Ru}_2(\text{OAc})_4]\text{NO}_3$

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1891 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 12: $[\text{Ru}(\text{OCOEt})_4]\text{NO}_3$

5 IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1891 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 13: $\text{K}_3[\text{Ru}(\text{ox})_3]$

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1889 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

10 **Esimerkki 14:** $[\text{Ru}_2(\text{OAc})_4]\text{Cl}$

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1895 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 15: $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_5\text{Cl}]\text{Cl}_2$

15 IR-spektrissä oli kaksi piikkiä kohdissa 1909 ja 1928 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 16: $[\text{Ru}(\text{en})_3]\text{I}_3$

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1906 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 17: $\text{K}[\text{RuCl}_4(\text{phen})]\text{H}_2\text{O}$

20 IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1904 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 18: $[\text{Ru}(\text{cyclam})\text{Cl}_2]\text{Cl}$

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1895 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

25 **Esimerkki 19:** $\text{K}[\text{RuCl}_4(\text{bipy})]$

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1885 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 20: $[\text{RuCl}_3(\text{dmsO})_2(\text{NH}_3)]$

30 IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1889 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 21: $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1910 cm^{-1} , mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 22: cis-[RuCl₂(dmsO)₄]

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1881 cm⁻¹, mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 23: cis[RuCl₂(dmsO)₃(NH₃)]

5 IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1893 cm⁻¹, mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 24: [RuCl₃(dmsO)₃]

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1880 cm⁻¹, mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

10 Esimerkki 25: [Ru(mtc)₃]

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1862 cm⁻¹, mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 26: [Ru(maltol)₃]

15 IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1866 cm⁻¹, mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 27: [Ru(acac)₂(MeCN)₂]CF₃SO₃

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1899 cm⁻¹, mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 28: K₂[RuCl₅(H₂O)]

20 IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1903 cm⁻¹, mikä osoitti Ru-NO-sidoksen läsnäoloa.

Esimerkki 29: [Os(ox)(bipy)₂]H₂O

IR-spektrissä oli piikki kohdassa 1894 cm⁻¹, mikä osoitti Os-NO-sidoksen läsnäoloa.

25 In vitro -soluviljelmäkokeet

Tulokset esitetään taulukossa 1 ja kuviossa 2.

Esimerkki 1: K[Ru(Hedta)Cl]2H₂O

Käytettävissä oleva typpioksidi väheni annoksesta riippuvalla tavalla ja 75 %:n maksimivähennys saavutettiin
30 100 µM pitoisuudella.

Esimerkki 2: [Ru(H₂edta)(acac)]

Käytettävissä oleva typpioksidi väheni 82 %:lla koeyhdisteen 100 µM pitoisuudella.

Esimerkki 3: $\text{K}[\text{Ru}(\text{Hedtra})\text{Cl}]\text{H}_2\text{O}$

Käytettävissä oleva typpioksidi väheni 42 %:lla
100 μM pitoisuudella.

Esimerkki 6: $\text{K}[\text{Ru}(\text{H}_2\text{edta})\text{Cl}_2]\text{H}_2\text{O}$

5 Käytettävissä oleva typpioksidi väheni 77 %:lla
koeyhdisteen 100 μM pitoisuudella.

Esimerkki 14: $[\text{Ru}_2(\text{OAc})_4]\text{Cl}$

Käytettävissä oleva typpioksidi väheni 47 %:lla
100 μM pitoisuudella.

Esimerkki 15: $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_5\text{Cl}]\text{Cl}_2$

10 Käytettävissä oleva typpioksidi väheni 86 %:lla
koeyhdisteen 100 μM pitoisuudella.

Esimerkki 26: $[\text{Ru}(\text{maltolato})_3]$

15 Käytettävissä oleva typpioksidi väheni 71 %:lla
100 μM pitoisuudella.

Taulukko 1

		Käytettävissä olevan typpioksidin vä- henemis-%
20	Esimerkki 1	25 μM
		50 μM
		100 μM
25	Esimerkki 2	100 μM
	Esimerkki 3	100 μM
	Esimerkki 6	100 μM
	Esimerkki 14	100 μM
	Esimerkki 15	100 μM
	Esimerkki 26	100 μM

Ex vivo-kokeet**Esimerkki 2**

5 Koeyhdisteen käyttö johti annoksesta riippuvaan suonen supistumiseen 10 μM ja 100 μM pitoisuuksilla. Tämä vaikutus oli palautuva huuhdottaessa Krebsin liuoksella.

Esimerkki 3

Koeyhdisten käyttö johti annoksesta riippuvaan suonen supistumiseen 10 μM ja 100 μM pitoisuuksilla. Tämä vaikutus oli palautuva huuhdottaessa Krebsin liuoksella.

10 **Esimerkki 14**

Koeyhdisteen käyttö johti annoksesta riippuvaan suonen supistumiseen 10 μM ja 100 μM pitoisuuksilla. Tämä vaikutus oli palautuva huuhdottaessa Krebsin liuoksella.

Esimerkki 15

15 Koeyhdisteen käyttö johti annoksesta riippuvaan suonen supistumiseen 10 μM ja 100 μM pitoisuuksilla. Tämä vaikutus oli palautuva huuhdottaessa Krebsin liuoksella.

Esimerkki 26

20 Koeyhdisteen käyttö johti annoksesta riippuvaan suonen supistumiseen 10 μM ja 1 000 μM pitoisuuksilla. Tämä vaikutus oli palautuva huuhdottaessa Krebsin liuoksella.

Taulukko 2

		Suonen supistumis-%
5	Esimerkki 2	10 μ M
		100 μ M
	Esimerkki 3	10 μ M
		100 μ M
	Esimerkki 14	10 μ M
10		100 μ M
	Esimerkki 15	10 μ M
		100 μ M
	Esimerkki 26	10 μ M
		100 μ M
		1 000 μ M

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä typpioksiditasojen alentamiseksi,
t u n n e t t u siitä, että saatetaan typpioksidin kanssa
5 kosketukseen neutraali, anioninen tai kationinen metalli-
kompleksi, jossa on vähintään yksi NO:n koordinaatiokohta
ja jolla on kaava



10

jossa M on ruteniumioni;

X on kationi tai kationien seos;

L on ligandi tai ligandien seos, joista kukin si-
sältää vähintään kaksi eri luovuttaja-atomia, jotka on
15 valittu typpi-, happi- ja rikkiluovuttaja-atomeista;

Y on ligandi tai saman tai eri ligandien seos,
joista kukin sisältää vähintään yhden luovuttaja-atomin,
joka luovuttaja-atomi on valittu tyydestä, hapestä, rikis-
tä, hiilestä tai fosforista edellyttäen, että ligandi ei
20 ole sulfoksidiryhmä, 1,10-fenantroliini tai substituoitu
1,10-fenantroliini, substituoitu 2,2-bipyridiini tai di-
hydrofenatsiini; ja

Z on halidi- tai pseudohalidi-ioni tai halidi-io-
nien ja pseudohalidi-ionien seos;

25 a = 1 - 3; b = 0 - 12; c = 0 - 18; d = 0 - 18; ja
n = 0 - 10;

edellyttäen, että ainakin yksi indekseistä c, d ja e on 1
tai suurempi;

ja kun c on 0, b on myös 0;

30 ja kun a on 1; c, d ja e ovat yhteensä korkeintaan
9;

ja kun a on 2; c, d ja e ovat yhteensä korkeintaan
12;

35 ja kun a on 3; c, d ja e ovat yhteensä korkeintaan
18;

ja kun d on 3, Y ei ole emäksinen heterosyklinen yhdiste, joka sisältää vähintään yhden typpi-atomin.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä typpi-
5 oksiditasojen alentamiseksi, t u n n e t t u siitä, että ruteniumioni on hapetustilassa III.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä typpioksiditasojen alentamiseksi, t u n n e t t u siitä, että X on yksi-, kaksi- tai kolmiarvoinen kationi.

4. Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä typpi-
10 oksiditasojen alentamiseksi, t u n n e t t u siitä, että X on H^+ , K^+ , Na^+ , NH_4^+ tai Ca^{2+} .

5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä typpi-
15 oksiditasojen alentamiseksi, t u n n e t t u siitä, että L on monisakarainen aminokarboksylaattiligandi.

6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä typpi-
oksiditasojen alentamiseksi, t u n n e t t u siitä, että L on edda, edta, nta, dipic, pic, dtpa, hedtra, tedta tai dtedta.

7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä typpi-
20 oksiditasojen alentamiseksi, t u n n e t t u siitä, että mainittu N-luovuttajaryhmä on ammiini-, amiini-, amidi-, nitriili- tai nitridiryhmä tai niiden johdannainen.

8. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä typpi-
25 oksiditasojen alentamiseksi, t u n n e t t u siitä, että mainittu O-luovuttajaryhmä on karboksyylihappo- tai esteriryhmä tai niiden johdannainen, vesi, oksidi-, hydroksidi-, asetaatti-, laktaatti-, propionaatti-, oksalaatti- tai maltolaattiryhmä.

9. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä typpi-
30 oksiditasojen alentamiseksi, t u n n e t t u siitä, että mainittu S-luovuttajaryhmä on dialkyyli-sulfidi-, dialkyylikarbamaatti-, ditiokarbamaatti- tai ditiiofosfaattiryhmä.

10. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä typpi-
oksiditasojen alentamiseksi, t u n n e t t u siitä, että

mainittu C-luovuttajaryhmä on hiilimonoksidi tai isosyani-
diryhmä.

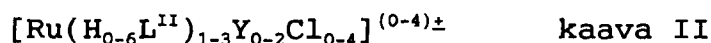
11. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä typpi-
oksiditasojen alentamiseksi, t u n n e t t u siitä, että
5 mainittu P-luovuttajaryhmä on trialkyylifosfiini.

12. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että Z on halidi-ioni.

13. Patenttivaatimuksen 12 mukainen menetelmä typ-
pioksiditasojen alentamiseksi, t u n n e t t u siitä,
10 että Z on kloridi-ioni.

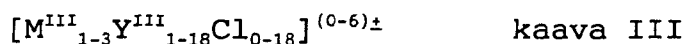
14. Menetelmä typpioksiditasojen alentamiseksi,
t u n n e t t u siitä, että saatetaan typpioksidin kanssa
kosketukseen valinnaisesti hydratoitua ruteniumkompleksia,
jolla on kaava

15



jossa L^{II} on amidi- tai esteriryhmä tai niiden johdannainen
tai monisakarainen aminokarboksylaattiligaddi, esimerkiksi
20 edda, edta, nta, dipic, pic, dtpa, hedtra, tedta tai
dtedta tai minkä tahansa näistä seos ja Y on sama kuin
edellä määriteltiin ja voi olla valittu esimerkiksi ase-
tyyliasetoni- (acac), β -diketonaattiryhmästä, vedestä,
karboksylaatti-, kaksisakaraisesta karboksylaatti-, kate-
25 koli-, kofiinihappo-, maltoli-, hydroksidi-, tropoloni-,
malonihappo-, oksaalihappo-, 2,3-dihydroksinaftaleeni-,
skuariinihappo-, asetaatti-, sulfaatti- ja glykolaattiryh-
mästä.

15. Menetelmä typpioksiditasojen laskemiseksi,
30 t u n n e t t u siitä, että saatetaan kosketukseen typpi-
oksidin kanssa valinnaisesti hydratoitua ruteniumin komp-
leksia, jolla on kaava



jossa M^{III} on rutenium ja Y^{III} happiluovuttajaligandi, kuten asetaatti-, laktaattiryhmä, vesi, oksidi-, propionaatti-,
 5 oksalaatti- tai maltolaattiryhmä tai näiden yhdistelmä.

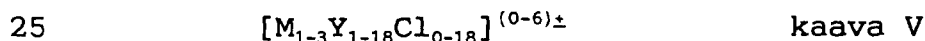
16. Menetelmä typpioksiditasojen alentamiseksi, t u n n e t t u siitä, että saatetaan kosketukseen typpioksidin kanssa valinnaisesti hydratoitua ruteniumin kompleksia, jolla on kaava

10



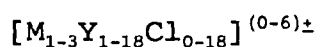
jossa Y^{IV} on typpiluovuttajaligandi, kuten ammiini-, etyleenidiamiini- (en), pyridiini- (py), 1,4,8,11-tetra-atsa-
 15 syklotetradekaani- (cyclam), 2,3,7,8,12,13,17,18-oktaetyyliporfyyriiniryhmä (oep) tai näiden yhdistelmä, edellyttäen että kun kompleksilla on kaava $[RuY^{IV}_3Cl_{1-9}]^{(0-4)\pm}$, Y ei ole emäksinen heterosyklinen yhdiste, joka sisältää vähintään yhden typpiatomia.

20 17. Menetelmä typpioksiditasojen alentamiseksi, t u n n e t t u siitä, että saatetaan kosketukseen typpioksidin kanssa valinnaisesti hydratoitua ruteniumin kompleksia, jolla on yleinen kaava



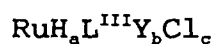
jossa Y on patenttivaatimuksen 14, 15 tai 16 mukainen yhdistelmä.

30 18. Menetelmä typpioksiditasojen alentamiseksi, t u n n e t t u siitä, että saatetaan kosketukseen typpioksidin kanssa valinnaisesti hydratoitua kompleksia, jolla on yleinen kaava



jossa Y on muu rikkiluovuttajaligandi kuin sulfoksidiryhmä.

19. Analogisia menetelmiä, t u n n e t t u siitä, että niillä valmistetaan neutraalia, anionista tai kationista, valinnaisesti hydratoitua kompleksia, jolla on yleinen kaava



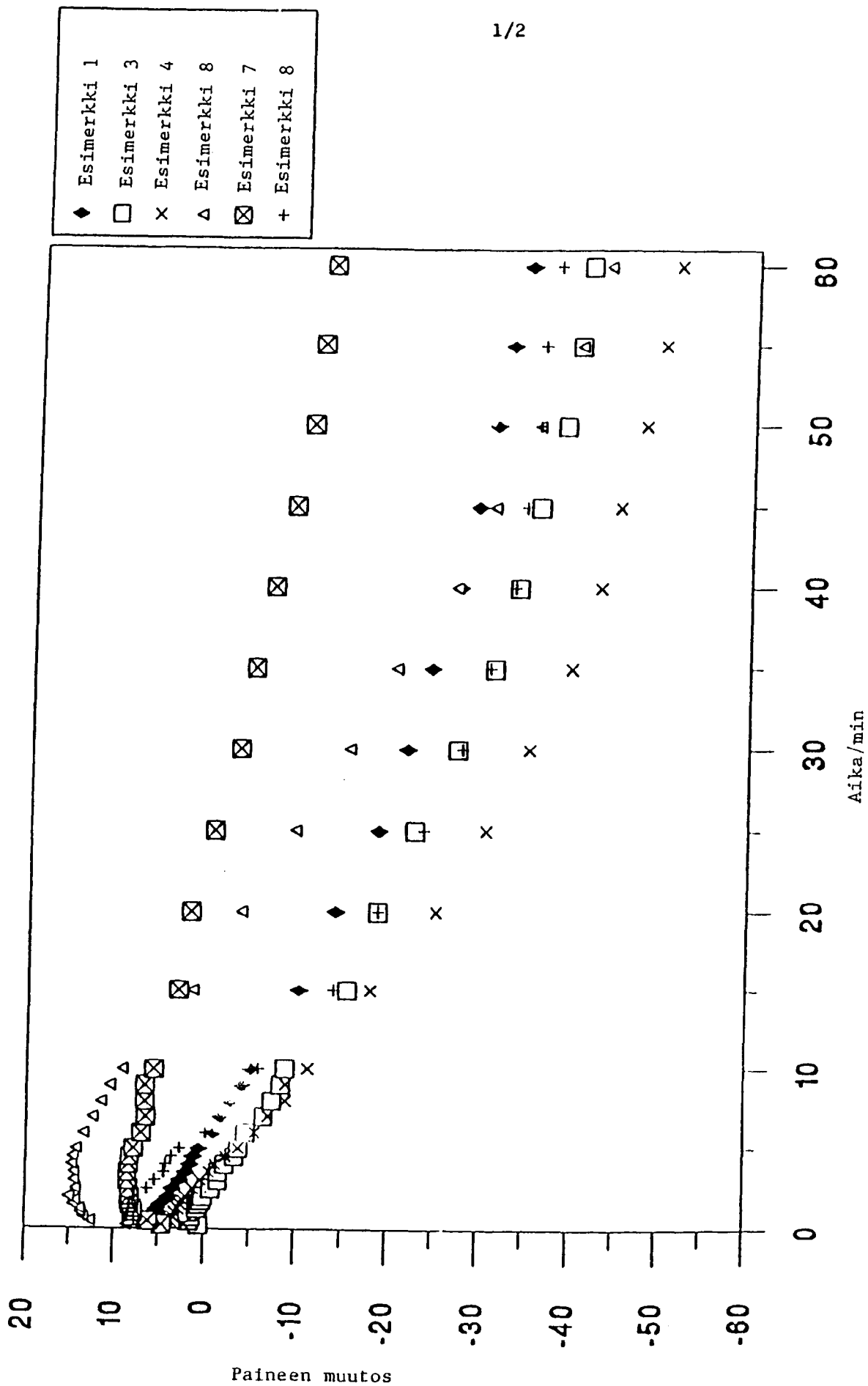
- 10 jossa L^{III} on hedtra, dtpa tai hbed; Y on acac tai trop; a on 1 tai 3; b on 0 tai 1 ja c on 0 tai 1; edellyttäen, että b ja c eivät ole samoja.

20. Analogisia menetelmiä, t u n n e t t u siitä, että niillä valmistetaan neutraalia, anionista tai kationista, valinnaisesti hydratoitua kompleksia, jolla on yleinen kaava



- 20 jossa Y on $\text{S}_2\text{CNCH}_2\text{CH}_2\text{NMeCH}_2\text{CH}_2$ tai $\text{S}_2\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_2\text{OC}_2\text{H}_4\text{OMe})_2$.

Kuvio 1



Kuvio 2

