

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

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

(10) FI 955643 A7

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **955643**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
**C07C323/25
C07F 9/165**

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **28.04.1994**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **23.11.1995**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **23.11.1995**

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

(86) Kansainvälinen hakemus - **28.04.1994 PCT/US1994/004662**
Internationell ansökan - International
application

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

26.05.1993 US 069302

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Merrell Pharmaceuticals, Inc., 2110 East Galbraith Road, Cincinnati, OH 45215, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Edwards, Michael Louis, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

2 • Snyder, Ronald Duayne, Loveland, OH 45140, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

N-alkyyliotiopolyaminnijohdannaiset säteilyltä suojaavina aineina

N-alkyltiopolyaminderivat som strålningsskyddande ämnen

N-alkyyliitiopolyamiini johdannaiset säteilyltä suojaavina aineina

Keksinnön tausta

5 Säteilyltä suojaavat aineet, jotka tunnetaan myös nimellä säteilysuojajat, määritellään aineiksi, jotka suojaavat soluja tai organismeja vahingollisilta soluvai-
kutuksilta, kun ne altistuvat ionisoivalle säteilylle. Nämä vahingolliset soluvaikutukset sisältävät vaurion so-
10 lun DNA:han, kuten DNA-juosteen katkeamisen, solun toimin-
nan sekaisin saattamisen, solukuoleman, kasvaimen indusoi-
tumisen ja niiden kaltaiset vaikutukset. Tämän suojaavan
vaikutuksen mekanismi voi ainakin osaltaan johtua sätei-
lyltä suojaavien aineiden radikaalisieppausominaisuuksis-
15 ta.

 Näiden aineiden mahdollinen käyttökelpoisuus ympä-
ristön säteilyltä suojaamiseksi, kuin myös syöpäsäteilyte-
rapiassa, on tunnettu kauan. Nämä aineet, jotka annetaan
ennen altistusta tai altistuksen aikana, poistavat tai
20 alentavat niiden vahingollisten soluvaikutusten vakavuut-
ta, jotka johtuvat altistuksesta ympäristön ionisoivalle
säteilylle, kuten sellaiselle, joka johtuu ydinräjähdyk-
sestä, radioaktiivisen materiaalin vuodosta, radioaktii-
visen materiaalin läheisyydestä ja sen kaltaisista sei-
25 koista.

 Lisäksi näiden aineiden uskotaan antavan selektii-
visen suojauksen normaaleille soluille eikä syöpäsoluille
syöpäsäteilyterapian aikana. Nämä aineet annettuna esimer-
kiksi syöpäpotilaalle ennen säteilyterapiaa tai sen aika-
30 na, absorboituvat normaaleihin ei-syöpäsoluihin antaen
niille suojaavan vaikutuksen. Säteilyltä suojaavat aineet
eivät kuitenkaan absorboidu samassa määrin kasvainsoluihin
johtuen kasvaimen liittyvästä huonosta verisuonituksesta.
Sen vuoksi säteilyltä suojaavat aineet antavat selektii-
35 visen suojaavan vaikutuksen normaaleille soluille verrat-

tuna kasvainsoluihin ja ne poistavat tai alentavat säteilyterapian vahingollisten soluvaikutusten vakavuutta normaaleille soluille. Lisäksi, jotkin säteilyltä suojaavat aineet voivat toimia esilääkkeinä ja ne tarvitsevat akti-

5 vaation solun selllaisten entsymaattisten prosessien toimesta, jotka eivät ole täysin toiminnallisia syöpäsoluissa. Nämä aineet, vaikka ne absorboitaisiin samoina konsentraatioina normaaleihin ja syöpäsoluihin, aktivoituvat ainoastaan soluissa, joissa on normaalit entsymaattiset

10 prosessit, eivätkä syöpäsoluissa. Nämä säteilyltä suojaavat esilääkeaineet aktivoituvat saaden aikaan selektiivisen suojausvaikutuksen ainoastaan normaaleissa soluissa ja poistavat tai alentavat näin ollen säteilyterapian vahingollisten soluvaikutusten vakavuutta normaaleissa soluissa.

15

Lisäksi, jotkin säteilyltä suojaavat aineet antavat selektiivisen suojauksen sellaisia vahingollisia soluvai-

kutuksia vastaan normaaleissa soluissa, jotka johtuvat tietyistä DNA:n kanssa reagoivista aineista, kuten kisplatiinista, syklofosfoamidista, dietyylinitrosoamiinista, bentso(a)pyreenistä, karboplatiinista, doksorubisiinista, mitomysiini-C:stä ja niiden kaltaisista. Monet näistä DNA:n kanssa reagoivista aineista ovat kemoterapeuttisia

20 aineita, jotka ovat käyttökelpoisia syöpäterapiassa. Säteilyltä suojaavat aineet ovat käyttökelpoisia poistettaessa tai alennettaessa selllaisten vahingollisten vaikutusten vakavuutta normaaleihin soluihin, jotka johtuvat altistumisesta näille DNA:n kanssa reagoiville aineille, kuten DNA:n kanssa reagoivilla kemoterapeuttisilla aineil-

25 la tapahtuvan syöpäterapian aikana.

30

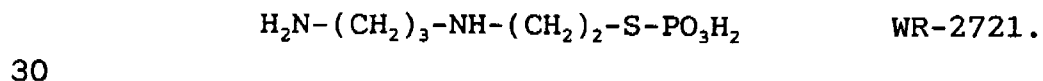
Lisäksi, jotkin säteilyltä suojaavat aineet antavat selektiivisen suojauksen terapian indusoimaa sekundaarikasvaininduktiota vastaan [Katso Grdina et al., Pharmac. Ther. 39, 21 (1988)]. Säteilytys ja kemoterapia muodostavat tehokkaat hoidot erilaisia kasvaintautitiloja vastaan.

35

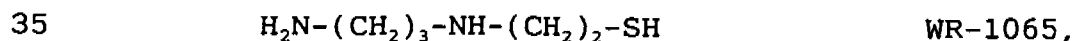
Valitettavasti nämä hoidot itsessään ovat usein mutageenisia ja/tai karsinogeenisia ja johtavat terapian indusoimaan sekundaarikasvaininduktioon. Esimerkiksi potilaat, joita hoidettiin Hodgkinin taudin suhteen, tuntuvat omaavan suhteellisen korkean riskin terapian indusoimaa akuuttia myelogeenista leukemiaa ja non-Hodgkinin lymfoomaa kohtaan. Säteilyltä suojaavat aineet antavat selektiivisen suojauksen vahingollisia soluvaikutuksia vastaan, kuten kasvaininduktiota vastaan, joka johtuu säteilyterapiasta tai DNA:n kanssa reagoivalla kemoterapeuttisella aineella tehdystä kemoterapiasta. Säteilyltä suojaavat aineet ovat näin ollen käyttökelpoisia poistettaessa tai alennettaessa sekundaarikasvaininduktio riskiä, jonka saa aikaan säteilyterapia tai kemoterapia.

Näin ollen säteilyltä suojaavat aineet ovat käyttökelpoisia poistettaessa tai alennettaessa sellaisten vahingollisten soluvaikutusten vakavuutta normaaleissa soluissa, jotka on aiheuttanut altistuminen ympäristön ionisoivalle säteilylle, syöpäsäteilyterapialle ja hoito DNA:n kanssa reagoivilla kemoterapeuttisilla aineilla. Katso yleisesti Weiss ja Simic, Pharmac. Ther. 39, 1 (1988).

Säteilyltä suojaavan aineen prototyyppi, joka on kehitetty Antiradiation Drug Development Program -projektissa Walter Reed Army Institute of Research -laitoksessa, on WR-2721 tai S-2(3-aminopropyyliamino)etyylifosforotiohappo, jonka rakenne on



Muita tunnettuja säteilyltä suojaavia aineita ovat WR-1065, jonka uskotaan olevan WR-2721-yhdisteen metaboliitti, jonka rakenne on



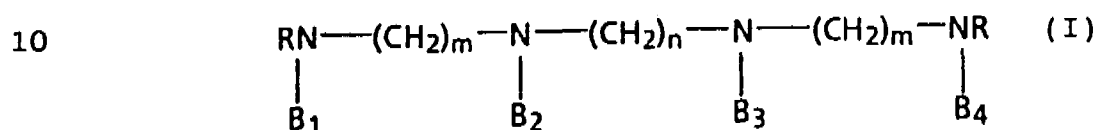
ja WR-151,327, jonka rakenne on



WR-151,327.

5 **Keksinnön yhteenveto**

Esillä oleva keksintö esittää uudet säteilyltä suo-
jaavat aineet ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät
lisäyssiä, jotka ovat kaavan (I)



jossa

m on kokonaisluku 2 - 4,

15 n on kokonaisluku 3 - 10,

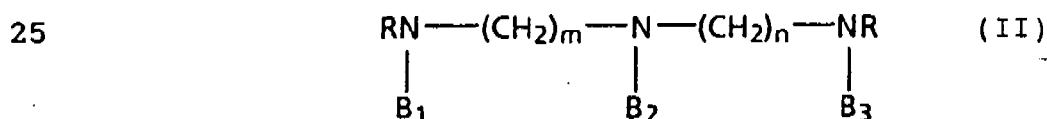
R on C₂-C₆-alkyyli ja

B₁, B₂, B₃ ja B₄ ovat kukin toisistaan riippumatto-
masti H, -CH₂CH₂SH tai -CH₂CH₂SPO₃H₂;

mukaisia; sillä edellytyksellä, että ainakin yksi B₁:stä,

20 B₂:sta, B₃:sta tai B₄:stä on muu kuin H.

Esillä oleva keksintö esittää lisäksi uudet sätei-
lyltä suojaavat aineet ja niiden farmaseuttisesti hyväk-
syttävät lisäyssiä, jotka ovat kaavan (II)



jossa

m on kokonaisluku 2 - 4,

30 n on kokonaisluku 3 - 10,

R on C₂-C₆-alkyyli ja

B₁, B₂ ja B₃ ovat kukin toisistaan riippumattomasti
H, -CH₂CH₂SH tai -CH₂CH₂SPO₃H₂;

mukaisia; sillä edellytyksellä, että ainakin yksi B₁:stä,

35 B₂:sta tai B₃:sta on muu kuin H.

Esillä oleva keksintö esittää lisäksi menetelmän
 nisäkässolujen suojaamiseksi sellaisilta vahingollisilta
 soluvaikutuksilta, jotka johtuvat altistumisesta ionisoi-
 valle säteilylle tai DNA:n kanssa reagoivalle aineelle,
 5 joka sisältää vaiheen, jossa mainitut solut saatetaan kos-
 ketukseen kaavan (I) tai (II) mukaisen yhdisteen suojaavan
 määrän kanssa.

Esillä oleva keksintö esittää myös menetelmän ihmi-
 sen ei-syöpäsolujen suojaamiseksi sellaisilta vahingolli-
 10 silta soluvaikutuksilta, jotka johtuvat altistumisesta
 ionisoivalle säteilylle tai DNA:n kanssa reagoivalle ai-
 neelle, joka sisältää vaiheen, jossa mainitulle ihmiselle
 annetaan suojaava määrä kaavan (I) tai (II) mukaista yh-
 distettä.

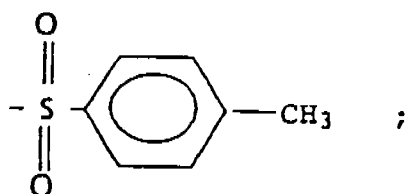
Esillä oleva keksintö esittää lisäksi menetelmän
 säteilyterapian tarpeessa tai DNA:n kanssa reagoivan kemo-
 terapeuttisen aineen kanssa tapahtuvan kemoterapian tar-
 peessa olevan potilaan hoitamiseksi, joka sisältää vai-
 heen, jossa mainitulle potilaalle annetaan suojaava määrä
 20 kaavan (I) tai (II) mukaista yhdistettä.

Keksinnön yksityiskohtainen kuvaus

Tässä käytettyinä seuraavilla termeillä on alla
 osoitetut merkitykset.

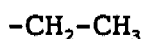
(1) Termi "C₂-C₆-alkyyli" viittaa kyllästettyyn suo-
 25 raketjuiseen tai haarautuneeseen hiilivetyradikaaliin,
 jossa on 1 - 6 hiiliatomia. Tämän termin piiriin sisälty-
 vät etyyli, n-propyyli, isopropyyli, n-butyyl, isobutyyl-
 li, sec-butyyl, t-butyyl, n-pentyyli, n-heksyyli, 1,1-
 dimetyyllipropyyli, 3,3-dimetyyllipropyyli, 1-metyyllibutyyl-
 30 li, 2-metyyllibutyyl ja niiden kaltaiset.

(2) Termi "Ts" viittaa kaavan



mukaiseen tosyyliryhmään;

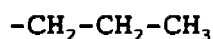
(3) termi "Et" viittaa kaavan



5

mukaiseen etyyyliryhmään;

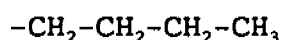
(4) Termi "Pr" viittaa kaavan



10

mukaiseen propyyyliryhmään;

(5) Termi "Bu" viittaa kaavan



15

mukaiseen butyyyliryhmään;

(6) Termi "halogeeni" tai "halo" viittaa kloori-, bromi- tai jodiatomiin.

(7) Termin "farmaseuttisesti hyväksyttävät lisäyso-

20 suolat" on tarkoitettu sisältävän kaavojen (I) tai (II) mukaisten emäsyhdisteiden minkä tahansa ei-myrkyllisen orgaanisen tai epäorgaanisen happolisäyssuolan. Kuvaavia epäorgaanisia happoja, jotka muodostavat sopivia suoloja, ovat suola-, vetybromi-, rikki- ja fosforihappo ja happo-

25 metallisuolat, kuten natriummonovetyortofosfaatti ja kaliumvetysulfaatti. Kuvaavia orgaanisia happoja, jotka muodostavat sopivia suoloja, ovat mono-, di- ja trikarboksyylihapot. Kuvaavia sellaisia happoja ovat esimerkiksi etikka-, glykoli-, maito-, palorypäle-, maloni-, meripihka-,

30 glutaari-, fumaari-, omena-, tartaari-, sitruuna-, askorbiini-, maleiini-, hydroksimaleiini-, bentso-, hydroksibentso-, fenyylietikka-, kaneli-, salisyyli-, 2-fenoksibentso-, p-tolueenisulfonihappo ja sulfonihapot, kuten metaanisulfonihappo ja 2-hydroksietaanisulfonihappo. Sellaiset suolat voivat olla joko hydraattimuodossa tai

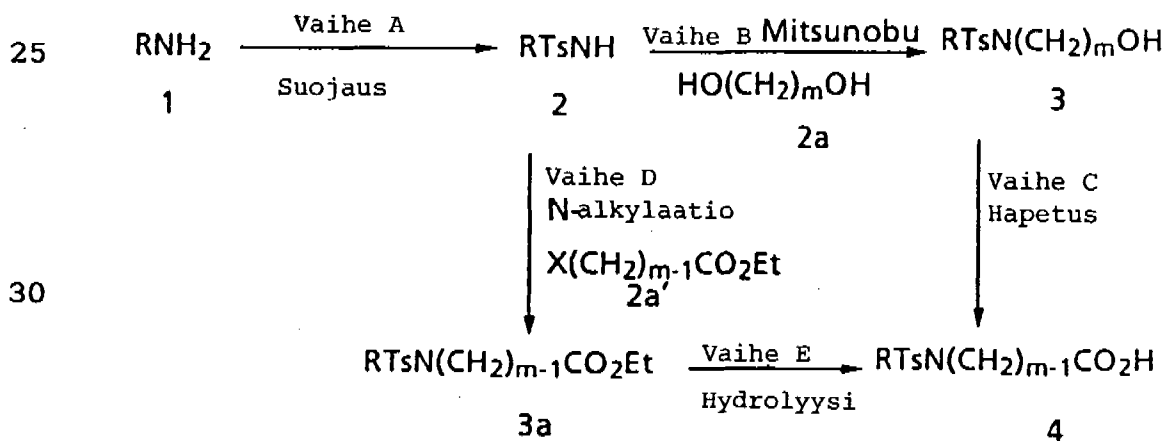
35

oleellisesti anhydraattimuodossa. Yleisesti näiden yhdisteiden happolisäyssi suolat ovat veteen ja erilaisiin hydrofiilisiin orgaanisiin liuottimiin liukenevia ja verrattuna niiden vapaisiin emäsmuotoihin, niillä on yleensä korkeammat sulamispisteet.

Kaavan (I) mukaiset polyamiinijohdannaiset voidaan valmistaa käyttäen alalla hyvin tunnettuja menetelmiä. Minkä tahansa spesifisen valmistusreitin valinta riippuu eri tekijöistä. Esimerkiksi reaktanttien yleinen saatavuus ja hinta, tiettyjen yleisten reaktioiden soveltuvuus spesifisille yhdisteille ja niin edelleen, ovat kaikki tekijöitä, jotka alan asiantuntijat täysin ymmärtävät ja kaikki ne ottavat osaa minkä tahansa kaavan (I) sisältävän spesifisen yhdisteen valmistussynteesireitin valintaan.

Seuraavat reaktiokaaviot ovat kuvaavia niistä reiteistä, joilla kaavan (I) mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa. Kaikki substituentit, jollei muuta ole osoitettu, ovat aiemmin määriteltyn mukaisia. Reagenssit ja lähtömateriaalit ovat alan asiantuntijan helposti saatavissa. Kaaviossa II käytettävän lähtömateriaalin valmistus on kuvattu kaaviossa I.

Kaavio I



X = Kloori tai bromiatomi

Kaavion I vaiheessa A primaarinen amiini (1) suojataan tosylaattijohdannaisena, joka on kuvattu rakenteena (2), alalla hyvin tunnetuissa olosuhteissa, jotka on kuvattu EP-patenttijulkaisussa numero 0 349 224, joka on julkaistu 1.3.1990.

Primaarinen amiini (1) liuotetaan esimerkiksi dikloorimetaanin ja 10 % natriumhydroksidin seokseen ja jäähdytetään 0 °C:seen. Sekoitettuun liuokseen lisätään tiipoittain ylimäärä p-tolueenisulfonyylikloridia. Noin yhden tunnin kuluttua reaktio lämmitetään huoneenlämpötilaan ja sen annetaan sekoittua noin kaksi vuorokautta. Reaktio neutraloidaan 0,5 N suolahapolla ja uutetaan sopivalla orgaanisella liuottimella, kuten metyleenikloridilla. Orgaaninen faasi huuhdellaan vedellä, suolavedellä, kuivataan vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodatetaan ja konsentroidaan tyhjiössä niin, että saadaan suojattu sekundaarinen amiini (2).

Vaiheessa B suojattu sekundaarinen amiini (2) altistetaan Mitsunobu-reaktiolle käyttäen sopivasti substituoitua diolia (2a) niin, että saadaan primaarinen alkoholi, jota kuvataan rakenteena (3).

Suojattu sekundaarinen amiini (2) liuotetaan esimerkiksi sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten tetrahydrofuraaniin, ja sitä käsitellään yhdellä ekvivalentilla trifenyylifosfiinia. Tätä käsitellään sitten yhdellä ekvivalentilla sopivasti substituoitua diolia (2a), jonka jälkeen käsitellään yhdellä ekvivalentilla dietyyliatsodikarboksylaattia. Tämän annetaan sekoittua noin 25 °C:ssa 4 - noin 18 tuntia. Tuote eristetään alalla hyvin tunnetuilla uutوسmenetelmillä, kuten uuttamalla metyleenikloridiin, huuhtelemalla vedellä, suolavedellä, kuivattamalla vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodattamalla ja konsentroidamalla tyhjiössä. Jäännös puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä, kuten nopealla kromatografialla käyttäen silikageeliä ja sopivaa eluenttiseosta, kuten metano-

li/metyleenikloridia niin, että saadaan primaarinen alkoholi (3).

Vaiheessa C primaarinen alkoholi (3) hapetetaan kemian alalla hyvin tunnetuissa ja ymmärretyissä olosuhteissa, jotka on kuvannut March teoksessa *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure*, McGraw-Hill Book Company, 2. painos, 1977, 1107 - 1108 niin, että saadaan karboksyylihappo, jota kuvataan rakenteena (4).

Primaarinen alkoholi (3) liuotetaan esimerkiksi asetoniin 0 °C:ssa ja pieni ylimäärä Jonesin reagenssia (Bowden, K. et al., *J. Chem. Soc.*, 39, 1946) lisätään ti-poittain. Reaktion annetaan sekoittua 1 - 4 tuntia 0 °C:ssa. Sitten lisätään isopropanolia ja reaktio suodatetaan piimaan läpi, joka huuhdellaan useilla erillä asetonia ja metyleenikloridia. Suodos konsentroidaan tyhjiössä ja jäännös puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä, kuten nopealla kromatografialla käyttäen silikaageeliä ja sopivaa eluenttiseosta, kuten metanoli/metyleenikloridia niin, että saadaan karboksyylihappo (4).

Karboksyylihappo voidaan vaihtoehtoisesti valmistaa seuraamalla kaavion I vaiheita D ja E aloittaen suojatusta sekundaarisesta amiinista (2).

Vaiheessa D suojattu sekundaarinen amiini (2) N-alkyloidaan sopivasti substituoidulla etyylihalokarboksylaattilla (2a') niin, että saadaan N-alkyloitu suojattu amiini, jota kuvataan rakenteena (3a), jossa X on kloori- tai bromiatomi.

Suojattu sekundaarinen amiini (2) liuotetaan esimerkiksi sopivaan liuottimeen, kuten tetrahydrofuraaniin, ja sitä käsitellään yhdellä ekvivalentilla sopivaa emästä, kuten natriumhydridiä. Reaktion annetaan sekoittua noin 30 minuuttia ja lisätään yksi ekvivalentti sopivasti substituotua etyylihalokarboksylaattia, kuten etyyli-4-bromibutyraattia. Sitten reaktiota kuumennetaan noin 30 - 67 °C:seen noin 1 - 24 tuntia. Sitten N-alkyloitu suojattu

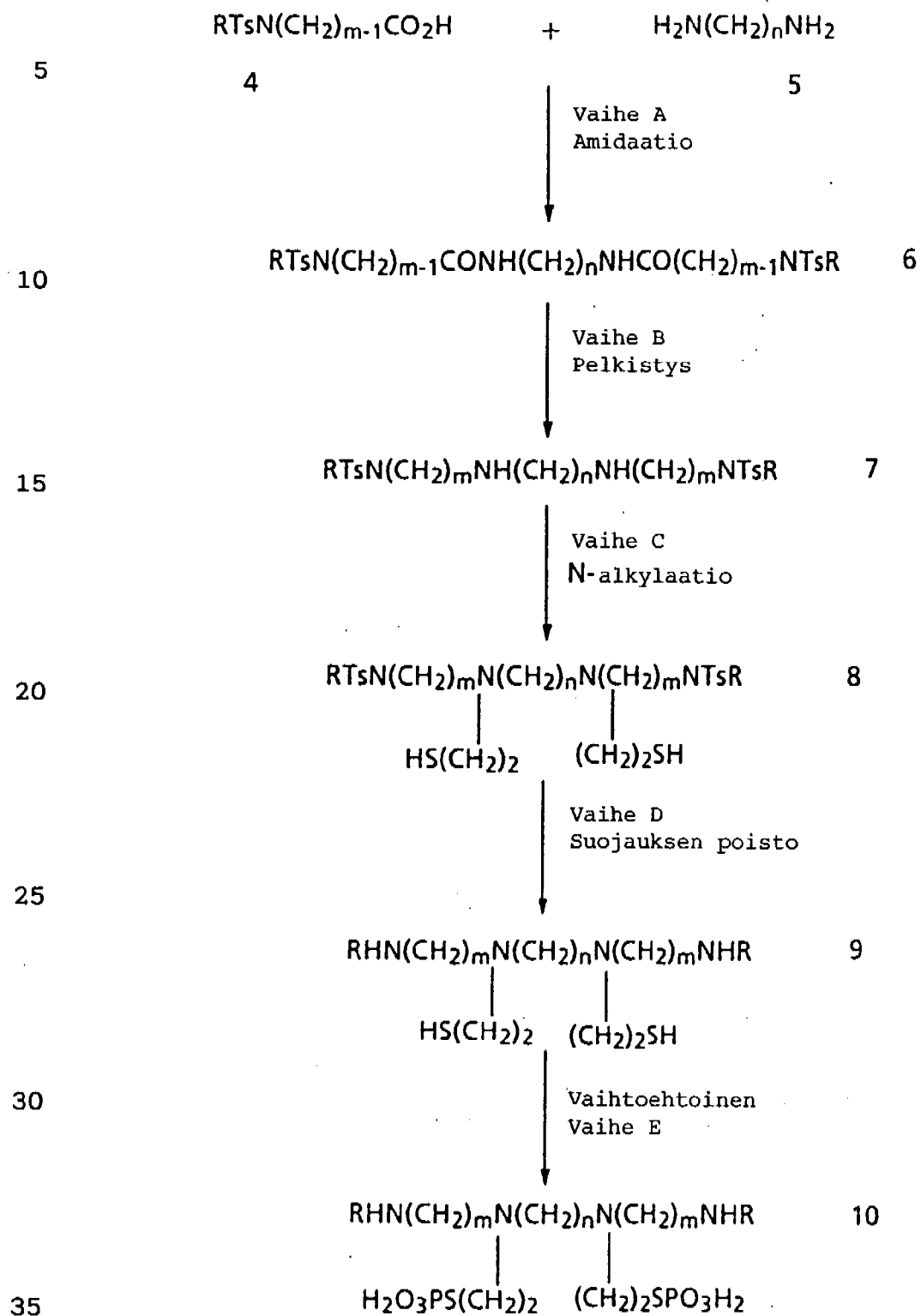
amiini (3a) eristetään reaktioseoksesta alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä.

5 Vaiheessa E N-alkyloidun suojatun amiinin (3a) esteriryhmä hydrolysoidaan alalla hyvin tunnetuissa olosuhteissa niin, että saadaan karboksyylihappo (4).

10 N-alkyloitu suojattu amiini (3a) liuotetaan esimerkiksi sopivaan liuotinseokseen, kuten metanoli/veteen, ja sitä käsitellään ekvivalentilla määrällä sopivaa emästä, kuten natriumhydroksidia. Reaktioon annetaan sekoitettua huoneenlämpötilassa noin 1 - 24 tuntia. Sitten reaktio neutraloidaan 1 N suolahapolla ja uutetaan sopivalla liuottimella, kuten metyleenikloridilla. Yhdistetyt orgaaniset uutokset kuivataan vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodatetaan ja konsentroidaan tyhjiössä niin, että saadaan
15 karboksyylihappo (4).

20 Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa B_1 ja B_4 on H, ja B_2 ja B_3 on $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$ tai $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SPO}_3\text{H}_2$, voidaan valmistaa, kuten on kuvattu kaaviossa II. Kaikki substituentit, jollei muuta ole osoitettu, ovat aiemman määritelmän mukaisia. Reagenssit ja lähtömateriaalit ovat alan asiantuntijan helposti saatavissa.

Kaavio II



Kaavion II vaiheessa A diamiini (5) altistetaan amidaatioreaktiolle alalla hyvin tunnetuissa olosuhteissa kahden ekvivalentin kanssa happoa (4) niin, että saadaan diamidi (6).

5 Esimerkiksi kaksi ekvivalenttia happoa (4) liuotetaan sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten tetrahydrofuraaniin, jonka jälkeen lisätään yksi ekvivalentti sopivaa diamiinia. Sitten lisätään 2,2 ekvivalenttia N-etoksi-karbonyyli-2-etoksi-1,2-dihydrokinoliinia (EEDQ). Reakti-
10 ota sekoitetaan 2 - 24 tuntia huoneenlämpötilassa. Sitten se konsentroidaan tyhjiössä. Jäännös puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä, kuten nopealla kromatografialla niin, että saadaan diamidi (6).

 Diamidi (6) voidaan vaihtoehtoisesti valmistaa alla
15 kuvatulla tavalla. Kaksi ekvivalenttia happoa (4) liuotetaan sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten tetrahydrofuraaniin, ja sitä käsitellään kahdella ekvivalentilla N-metyylimorfoliinia. Reaktio jäähdytetään -20 °C:seen ja sitä käsitellään kahdella ekvivalentilla isobutyrylikloori-
20 formaattia. Reaktiota sekoitetaan noin 30 minuuttia ja lisätään yksi ekvivalentti sopivasti substituotua diamiinia (5), joka on liuotettu dimetyyliformamidiin. Reaktiota sekoitetaan -20 °C:ssa useita tunteja, lämmitetään huoneenlämpötilaan ja laimennetaan eetterillä ja vedellä.
25 Kerrokset erotetaan ja orgaaninen kerros kuivataan magnesiumsulfaatin yllä, suodatetaan ja konsentroidaan tyhjiössä. Jäännös puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä, kuten nopealla kromatografialla niin, että saadaan diamidi (6).

30 Vaiheessa B diamidi (6) pelkistetään alalla hyvin tunnetuissa olosuhteissa niin, että saadaan tetra-amiini, jota kuvataan rakenteena (7).

 Esimerkiksi seuraten yleisesti menetelmää, jonka on kuvannut Borch, Tetrahedron Lett. 1, 61 (1968), 2,2 ekvi-
35 valenttia trietyylioksoniumtetrafluoriboraattia liuotetaan

sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten metyleenikloridiin, ja lisätään kaksi ekvivalenttia diamidia (6). Reaktiota sekoitetaan huoneenlämpötilassa noin 24 tuntia ja sitten liuotin poistetaan tyhjiössä. Jäännös liuotetaan etanoliin ja sekoitettuun liuokseen lisätään 4,5 ekvivalenttia natriumboorihydridiä osissa 0 °C:ssa. Kun kaikki on lisätty, reaktio lämmitetään huoneenlämpötilaan ja sekoitetaan noin 18 - 24 tuntia. Tuote eristetään alalla hyvin tunnetuilla uuttomenetelmillä. Jäännös voidaan puhdistaa nopealla kromatografialla niin, että saadaan tetraamiini (7).

Tetra-amiini (7) voidaan vaihtoehtoisesti valmistaa alla kuvatulla tavalla. Diamidi (6) liuotetaan sopivaan liuottimeen, kuten tetrahydrofuraaniin, ja sitä käsitellään kahdella ekvivalentilla boraania (1 M liuos tetrahydrofuraanissa) 0 °C:ssa ja sekoitetaan takaisinvirtaksella 18 tuntia niin, että saadaan tetra-amiini (7) sen jälkeen, kun on eristetty ja puhdistettu alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä.

Vaiheessa C tetra-amiini di-N-alkyloidaan etyleenisulfidilla niin, että saadaan sopivasti substituoitu di-N-alkyloitu amiini, jota kuvataan rakenteena (8).

Tetra-amiini (7) liuotetaan esimerkiksi sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten tetrahydrofuraaniin, ja sitten käsitellään noin 2,2 ekvivalentilla etyleenisulfidia 2 - 10 tuntia lämpötilassa, joka on huoneenlämpötilasta takaisinvirtautuslämpötilaan. Liuotin poistetaan tyhjiössä ja tuote eristetään ja puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä niin, että saadaan di-N-alkyloitu amiini (8).

Vaiheessa D di-N-alkyloidun amiinin (8) suojaus poistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä niin, että saadaan tetra-amiini, josta suojaus on poistettu (9).

Di-N-alkyloitu amiini (8) liuotetaan esimerkiksi sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten 1,2-dimetoksietaa-

niin, ja sitä käsitellään pienellä ylimäärällä litiumalumiinihydridiä. Sitten reaktiota kuumennetaan takaisinvirtautukseen noin 18 tuntia. Jäähdytyksen jälkeen ylimääräinen litiumalumiinihydridi tukahdutetaan ja tuote eristetään käyttäen alalla hyvin tunnettuja menetelmiä niin, 5 että saadaan tetra-amiini, josta suojaus on poistettu (9).

Di-N-alkyloidun amiinin (8) suojaus voidaan vaihtoehtoisesti poistaa seuraten yleisesti menetelmää, joka on kuvattu EP-patenttihakemuksessa numero 349 224, joka on 10 julkaistu 1.3.1990. Di-N-alkyloitu amiini (8) liuotetaan vedettömään tetrahydrofuraaniin, jäähdytetään -78 °C:seen ja sitä käsitellään ylimäärällä kondensoitua ammoniakkaa. Ylimäärä natriumia lisätään hitaasti -78 °C:ssa ja reaktiota sekoitetaan noin 4 tuntia. Sitten se lämmitetään huoneenlämpötilaan yli yön niin, että ammoniakki haihtuu. 15 Lisätään dietyylieetteriä ja sen jälkeen lisätään varovasti etanolia ja sen jälkeen lisätään varovasti vettä reaktion lopulliseksi lopettamiseksi. Liuottimet poistetaan tyhjiössä ja jäännös uutetaan dietyylieetterillä ja kloroformilla. Yhdistetyt uutokset kuivataan vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodatetaan ja konsentroidaan tyhjiössä. 20 Jäännös puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä, kuten nopealla kromatografialla niin, että saadaan amiini, josta suojaus on poistettu (9).

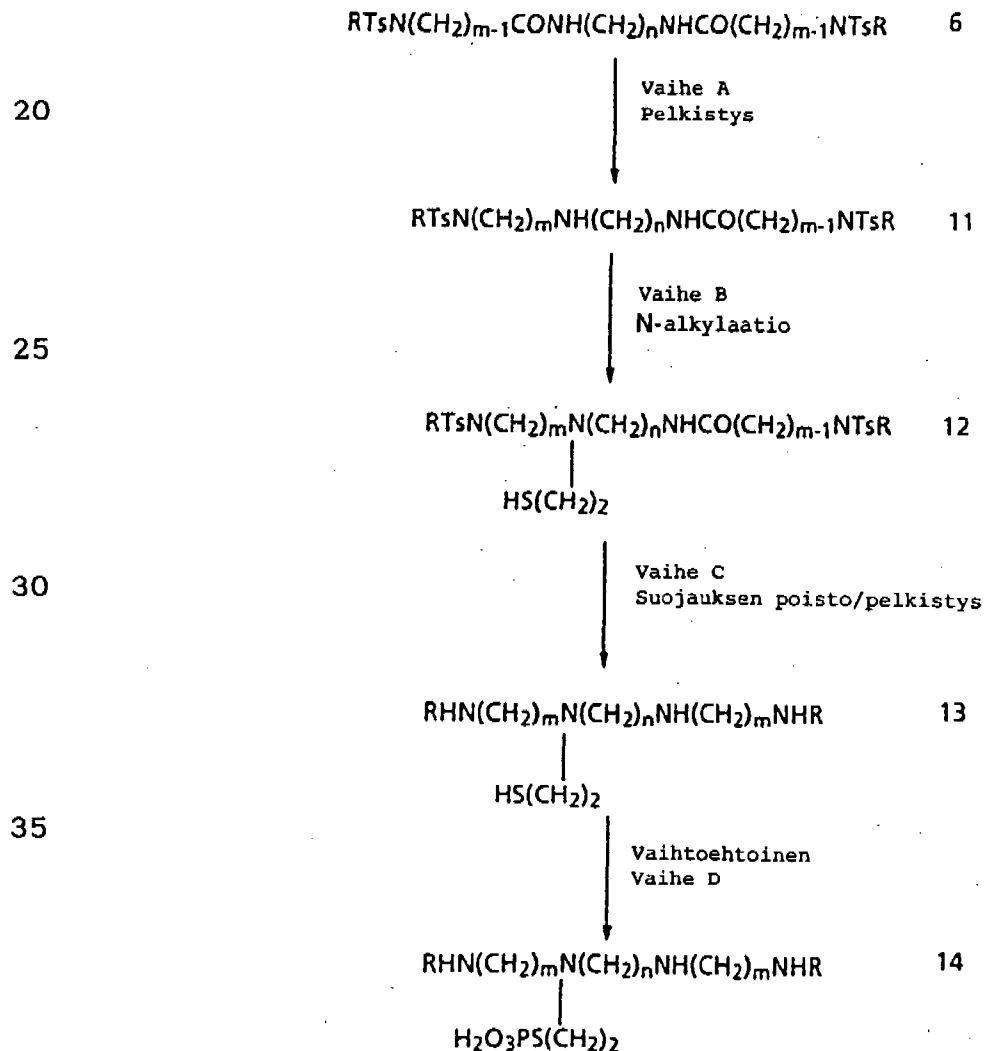
Vaihtoehtoisessa vaiheessa E yhdisteen (9) tioliiryhmät voidaan muuttaa vastaaviksi rakenteen (10) fosforotioaateiksi. 25

Esimerkiksi sopivasti substituoitua amiinia, josta suojaus on poistettu (9), käsitellään neljällä ekvivalentilla trietyylifosfiittia ja kahdella ekvivalentilla bromitrikloorimetaania. Reaktiota sekoitetaan 1 - 3 tuntia lämpötila-alueella, joka on huoneenlämpötilasta takaisinvirtautuslämpötilaan. Vastaava bis(dietyylifosforotioaatti)välimuoto otetaan talteen reaktiosta poistamalla haihtuvat aineet tyhjiössä ja puhdistamalla nopealla kromato- 35

grafialla. Sitten bis(dietyylifosforotioaatti)välimuoto katkaistaan käsittelemällä ylimäärällä trimetyylisilyyli-bromidia. Reaktantit saatetaan kosketukseen sopivan orgaanisen liuottimen, kuten metyleenikloridin, kanssa noin 2 - 24 tunniksi lämpötila-alueella, joka on -20°C - takaisin-virtautuslämpötila. Sitten haihtuvat aineet poistetaan tyhjiössä ja jäännös puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä niin, että saadaan rakenteen (10) mukaiset fosforotioaatit.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa B_1 , B_3 ja B_4 on H ja B_2 on $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$ tai $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SPO}_3\text{H}_2$, voidaan valmistaa, kuten on kuvattu kaaviossa III. Kaikki substituentit, jollei muuta ole osoitettu, on määriteltä aiemmin. Reagenssit ja lähtömateriaalit ovat alan asiantuntijan helposti saatavissa.

Kaavio III



Kaavion III vaiheessa A kaavion II vaiheessa A valmistettu diamidi (6) pelkistetään alalla hyvin tunnetuissa olosuhteissa niin, että saadaan monoamidi, jota kuvataan rakenteena (11).

5 Esimerkiksi diamidi (6) liuotetaan sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten tetrahydrofuraaniin, ja sitä käsitellään yhdellä ekvivalentilla boraania (1 M liuos tetrahydrofuraanissa) 0 °C:ssa ja sitten sekoitetaan 6 - 8 tuntia takaisinvirtautuksella niin, että saadaan monoamidi
10 (11) sen jälkeen, kun on eristetty ja puhdistettu alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä.

Vaiheessa B monoamidi mono-N-alkyloidaan etyleenisulfidilla niin, että saadaan sopivasti substituoitu mono-N-alkyloitu amidi, jota kuvataan rakenteena (12).

15 Esimerkiksi monoamidi (11) liuotetaan sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten bentseeniin, ja sitten sitä käsitellään yhdellä ekvivalentilla etyleenisulfidia 2 - 10 tuntia lämpötilassa, joka on huoneenlämpötilasta takaisinvirtautuslämpötilaan. Liuotin poistetaan tyhjiössä ja tuote eristetään ja puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla
20 menetelmillä niin, että saadaan mono-N-alkyloitu amidi (12).

Vaiheessa C mono-N-alkyloidun amidin (12) suojaus poistetaan ja samanaikaisesti pelkistetään käsittelemällä
25 sopivalla pelkistimellä niin, että saadaan mono-N-alkyloitu tetra-amiini, jota kuvataan rakenteena (13).

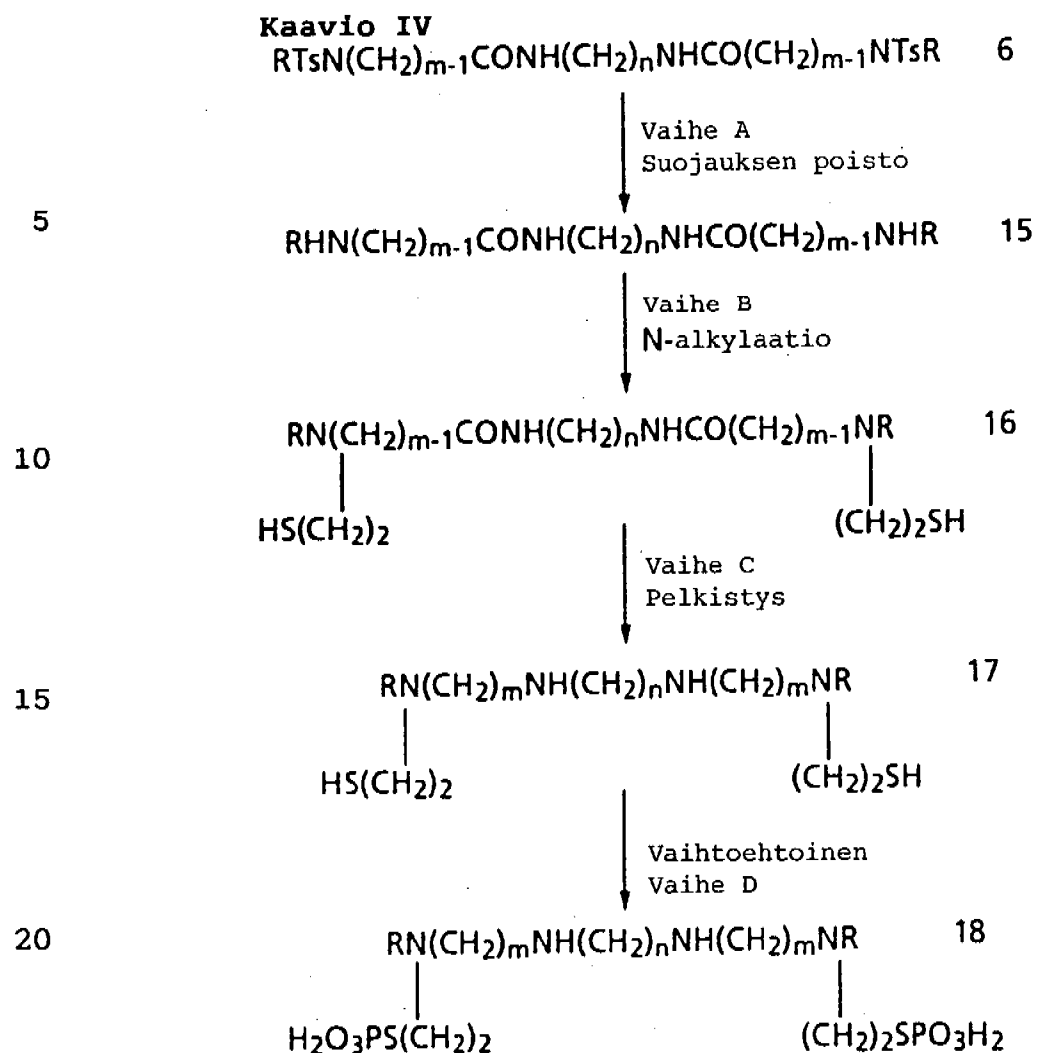
Esimerkiksi mono-N-alkyloitu amidi (12) liuotetaan sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten 1,2-dimetoksietaaniin, ja sitä käsitellään neljällä ekvivalentilla sopivaa pelkistintä, kuten litiumalumiinihydridiä. Reaktiota kuumennetaan takaisinvirtautukseen noin 18 tunniksi. Sitten reaktio lopetetaan lisäämällä vesi: 10 % natriumhydroksidi:vesi -liuosta, jonka tilavuussuhde on 1,0:1,5:3,0, jossa ensimmäinen vesilisäysmäärä on ekvivalentti litiumalumiinihydridin painomäärälle. Sitten tuote eristetään ja
35

puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä niin, että saadaan mono-N-alkyloitu tetra-amiini (13).

Vaihtoehtoisessa vaiheessa D mono-N-alkyloidun tetra-amiinin (13) tioliryhmä muutetaan vastaavaksi rakenteen (14) mukaiseksi mono-fosforotioaatiksi seuraten yleisesti kaavion II vaihtoehtoisessa vaiheessa E kuvattua menetelmää.

Esimerkiksi sopivasti substituoitua mono-alkyloitua tetra-amiinia (13) käsitellään kahdella ekvivalentilla trietyylifosfiittia ja yhdellä ekvivalentilla bromitrikloorimetaania. Reaktiota sekoitetaan 1 - 3 tuntia lämpötila-alueella, joka on huoneenlämpötilasta takaisinvirtauslämpötilaan. Vastaava dietyylifosforotioaattivälimuoto otetaan talteen reaktiosta poistamalla haihtuvat aineet tyhjiössä ja puhdistamalla nopealla kromatografialla. Sitten dietyylifosforotioaattivälimuoto katkaistaan käsittelemällä ylimäärällä trimetyylisilylibromidia. Reaktantit saatetaan kosketukseen sopivan orgaanisen liuottimen, kuten metyleenikloridin, kanssa noin 2 - 24 tunniksi lämpötila-alueella, joka on -20°C - takaisinvirtauslämpötila. Sitten haihtuvat aineet poistetaan tyhjiössä ja jäännös puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä niin, että saadaan rakenteen (14) mukainen monofosforotioaatti.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa B_1 ja B_4 on $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$ tai $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SPO}_3\text{H}_2$ ja B_2 ja B_3 on H, voidaan valmistaa, kuten on kuvattu kaaviossa IV. Kaikki substituentit, jollei muuta ole osoitettu, on määriteltä aiemmin. Reagenssit ja lähtömateriaalit ovat alan asiantuntijan helposti saatavissa.



Kaavion IV vaiheessa A kaavion II vaiheessa A valmistetun diamidin (6) suojaus poistetaan alalla hyvin tunnetuissa olosuhteissa niin, että saadaan diamidi, jonka suojaus on poistettu, jota kuvataan rakenteena (15).

Esimerkiksi diamidin (6) suojaus voidaan poistaa seuraten yleisesti menetelmää, joka on kuvattu EP-patentihakemuksessa numero 349 224, joka on julkaistu 1.3.1990. Diamidi (6) liuotetaan vedettömään tetrahydrofuraaniin, jäähdytetään $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:seen ja sitä käsitellään ylimäärällä kondensoitua ammoniakkaa. Lisätään ylimäärä natriumia hitaasti $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa ja reaktiota sekoitetaan noin 4 tuntia. Sitten se lämmitetään huoneenlämpötilaan yli yöksi niin, että ammoniakki haihtuu. Lisätään dietyylieetteriä, jonka

jälkeen lisätään varovasti etanolia, jonka jälkeen lisätään varovasti vettä reaktion lopulliseksi lopettamiseksi. Liuottimet poistetaan tyhjiössä ja jäännös uutetaan dietyylieetterillä ja kloroformilla. Yhdistetyt uutokset
 5 kuivataan vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodatetaan ja konsentroidaan tyhjiössä. Jäännös puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä, kuten nopealla kromatografialla niin, että saadaan diamidi, josta suojaus on poistettu (15).

10 Vaiheessa B diamidi, josta suojaus on poistettu (15), di-N-alkyloidaan samalla N-alkylointimenetelmällä, joka on kuvattu kaavion II vaiheessa C niin, että saadaan di-N-alkyloitu diamidi, jota kuvataan rakenteena (16).

Vaiheessa C di-N-alkyloitu diamidi (16) pelkistetään alalla hyvin tunnetuissa olosuhteissa niin, että saadaan tetra-amiini, jota kuvataan rakenteena (17).
 15

Esimerkiksi di-N-alkyloitu diamidi (16) liuotetaan sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten 1,2-dimetoksietaaniin, ja sitä käsitellään kahdella ekvivalentilla sopivaa pelkistintä, kuten litiumalumiinihydridiä. Reaktiota kuumennetaan takaisinvirtautukseen noin 5 - 18 tunniksi. Sitten reaktio lopetetaan lisäämällä vesi: 10 % natriumhydroksidi:vesi -liuosta, jonka tilavuussuhde on 1,0:1,5:3,0, jossa ensimmäinen vesilisäysmäärä on ekvivalentti litiumalumiinihydridin painomäärälle. Sitten tuote eristetään alalla hyvin tunnetuilla uutto- ja puhdistusmenetelmillä niin, että saadaan tetra-amiini (17).
 20
 25

Vaihtoehtoisessa vaiheessa D tetra-amiinin (17) tioliryhmät muutetaan vastaaviksi rakenteen (18) mukaiseksi fosforotioaateiksi samalla menetelmällä, joka on aiemmin kuvattu kaavion II vaihtoehtoisessa vaiheessa E.
 30

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa B_1 , B_2 ja B_3 on H ja B_4 on $-CH_2CH_2SH$ tai $CH_2CH_2SPO_3H_2$, voidaan valmistaa, kuten on kuvattu kaaviossa V. Kaikki substituentit, jollei muuta ole osoitettu, on määritelty aiemmin. Reagenssit ja
 35

lähtömateriaalit ovat alan asiantuntijan helposti saatavissa.

Kaavio V

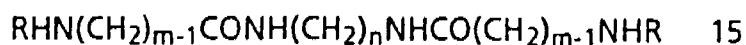
5

10

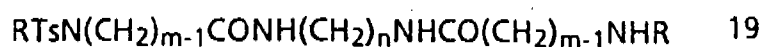
15

20

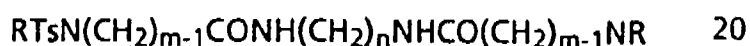
25



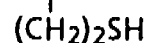
Vaihe A



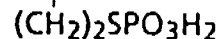
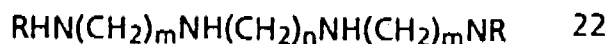
Vaihe B
N-alkylaatio



Vaihe C
Pelkistys/
suojauksen poisto



Vaihtoehtoinen
Vaihe D



Kaavion V vaiheessa A kaavion IV vaiheessa A valmistettu diamidi, josta suojaus on poistettu (15), monosuojataan niin, että saadaan monosuojattu diamidi, jota kuvataan rakenteena (19).

Esimerkiksi diamidi, josta suojaus on poistettu (15), liuotetaan metyleenikloridiin ja 10 % natriumhydroksidiin ja jäähdytetään 0 °C:seen. Sekoitettuun liuokseen

lisätään tipoittain yksi ekvivalentti p-tolueenisulfonyylikloridia. Noin yhden tunnin kuluttua reaktio lämmitetään huoneenlämpötilaan ja sen annetaan sekoittua 1 - 48 tuntia. Reaktio neutraloidaan 0,5 N suolahapolla ja uutetaan

5 sopivalla orgaanisella liuottimella, kuten metyleenikloridilla. Orgaaninen faasi huuhdotaan vedellä, suolavedellä, kuivataan vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodataan ja konsentroidaan tyhjiössä niin, että saadaan monosuojattu diamidi (19).

10 Vaiheessa B monosuojattu diamidi (19) N-alkyloidaan samalla N-alkylointimenetelmällä, joka on kuvattu kaavion III vaiheessa B niin, että saadaan N-alkyloitu diamidi, jota kuvataan rakenteena (20).

Vaiheessa C N-alkyloitu diamidi (20) pelkistetään

15 ja samanaikaisesti sen suojaus poistetaan samalla menetelmällä, joka on aiemmin kuvattu kaavion III vaiheessa C niin, että saadaan N-alkyloitu tetra-amiini, jota kuvataan rakenteena (21).

Vaihtoehtoisessa vaiheessa D N-alkyloidun tetra-amiinin (21) tioliryhmä voidaan muuttaa vastaavaksi rakenteen (22) mukaiseksi fosforotioaattitetra-amiiniksi seuraten menetelmää, joka on aiemmin kuvattu kaavion III vaihtoehtoisessa vaiheessa D.

20

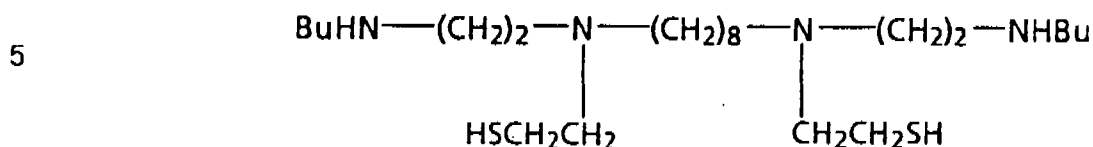
Seuraavat esimerkit edustavat tyypillisiä kaavion (I) mukaisten yhdisteiden, jotka on kuvattu kaavioissa I, II, III, IV ja V, synteesejä. Nämä esimerkit ovat ainoastaan kuvaavia eikä niitä pidä pitää millään tavoin keksintöä rajoittavina. Reagenssit ja lähtömateriaalit ovat alan asiantuntijan helposti saatavissa. Käytettyinä seuraavissa

25

30 esimerkeissä seuraavilla termeillä on osoitetut tarkoitukset: "ek." tarkoittaa ekvivalentteja, "g" tarkoittaa grammoja, "mg" tarkoittaa milligrammoja, "mmol" tarkoittaa millimoolia, "ml" tarkoittaa millilitroja, "°C" tarkoittaa Celsius-asteita, "TLC" tarkoittaa ohutkerroskromato-

grafiaa, "R_f" tarkoittaa retentiotekijää ja "δ" tarkoittaa miljoonasosia tetrametyyllisilaanin alapuolella.

Esimerkki 1



10 2-[[8-[(2-merkaptotyyli)-(2-butyyliminoetyyli)-amino]oktyyli)-(2-butyyliminoetyylimino]etaanitiolin valmistus

Kaavio I, vaihe A: Liuota butyylimiinia (10 mmol) metyleenikloridiin (50 ml) ja 10 % natriumhydoksidiin (50 ml). Jäähdytä 0 °C:seen. Lisää ylimäärä p-tolueenisulfonyylikloridia sekoittaen. Tunnin kuluttua anna reaktion 15 lämmitä huoneenlämpötilaan ja sekoita kaksi vuorokautta. Neutraloi reaktio 0,5 N suolahapolla ja uuta vesifaasi metyleenikloridilla (2 x 100 ml). Huuhdo yhdistetyt orgaaniset uutokset vedellä (100 ml), suolavedellä (100 ml), kuivata vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä N-butyyli-4-metyyllibentseenisulfonamidin 20 saamiseksi.

Kaavio I, vaihe B: Liuota N-butyyli-4-metyyllibentseenisulfonamidi (10 mmol) tetrahydrofuraaniin (50 ml) ja lisää trifenyylifosfiinia (10 mmol). Käsittele tätä etyleeniglykolilla (10 mmol), jonka jälkeen lisää dietyyliatsodikarboksylaattia (10 mmol). Sekoita reaktiota 25 °C:ssa 18 tuntia. Konsentroi reaktio tyhjiössä. Puhdistajäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, tolueeni/etyyliasetatti) N-butyyli-N-(2-hydroksietyyli)-4-metyyllibentseenisulfonamidin saamiseksi. 30

Kaavio I, vaihe C: Liuota N-butyyli-N-(2-hydroksietyyli)-4-metyyllibentseenisulfonamidi (10 mmol) asetoniin (50 ml) ja jäähdytä 0 °C:seen. Lisää pieni ylimäärä Jonesin reagenssia tipoittain ja anna reaktion sekoittua 4 35 tuntia 0 °C:ssa. Lisää ylimäärä isopropanolia ja suodata

reaktio piimaatulpan läpi. Huuhdo tulppa asetonilla (2 x 50 ml) ja metyleenikloridilla (3 x 50 ml). Yhdistä suodokset ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi)

5 [butyyli-(tolueeni-4-sulfonyyli)amino]etikkahapon saamiseksi.

Vaihtoehtoinen menetelmä [butyyli-(tolueeni-4-sulfonyyli)amino]etikkahapon valmistamiseksi.

Kaavio I, vaihe D: Liuota N-butyyli-4-metyylibentseenisulfonamidi (10 mmol) tetrahydrofuraaniin (50 ml) ja käsittele natriumhydridillä (10 mmol). Sekoita reaktiota 10 30 minuuttia ja lisää etyylibromiasetaattia (10 mmol). Sekoita reaktiota takaisinvirtautuksella 18 tuntia. Sitten lisää metyleenikloridia (100 ml) ja huuhdo vedellä 15 (100 ml), suolavedellä (100 ml), kuivata vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi raa'an etyyli-[butyyli-(tolueeni-4-sulfonyyli)amino]asetaatin saamiseksi.

Kaavio I, vaihe E: Liuota raaka etyyli-[butyyli-(tolueeni-4-sulfonyyli)amino]asetaatte (10 mmol) metanoliin (25 ml) ja veteen (25 ml). Lisää natriumhydroksidia 20 (10 mmol) ja sekoita reaktiota huoneenlämpötilassa 5 tuntia. Laimenna reaktio vedellä (100 ml) ja huuhdo metyleenikloridilla. Neutraloi vesipohjaisella 1 N suolahapolla ja uuta metyleenikloridilla (3 x 75 ml). Yhdistä orgaaniset 25 uutokset ja huuhdo vedellä (100 ml), suolavedellä (100 ml), kuivata vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodatta ja konsentroi tyhjiössä [butyyli-(tolueeni-4-sulfonyyli)amino]etikkahapon saamiseksi.

Kaavio II, vaihe A: Liuota kaavion I vaiheessa C 30 tai E valmistettu [butyyli-(tolueeni-4-sulfonyyli)amino]etikkahappo (20 mmol) tetrahydrofuraaniin (50 ml) ja lisää 1,8-diamino-oktaania (10 mmol). Lisää N-etoksikarbonyyli-2-etoksi-1,2-dihydrokinoliinia (EEDQ)(22 mmol). Sekoita huoneenlämpötilassa 6 - 7 tuntia. Konsentroi reaktio tyh-

jiössä. Puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) diamidin saamiseksi.

Diamidi voidaan vaihtoehtoisesti valmistaa kaavion II vaiheessa A liuottamalla [butyyli-(tolueeni-4-sulfonyyli)amino]etikkahappo (20 mmol) tetrahydrofuraaniin (50 ml), jonka jälkeen lisätään N-metyylimorfoliinia (20 mmol). Jäähdytä reaktio -20 °C:seen ja lisää isobutyryliklooriformaattia (20 mmol). Sekoita reaktiota 30 minuuttia ja lisää 1,8-diamino-oktaania (10 mmol), joka on liuotettu dimetyyliformamidiin (5 ml). Sekoita reaktiota kaksi tuntia -20 °C:ssa ja sitten lämmitä huoneenlämpötilaan. Laimenna reaktio vedellä (150 ml) ja uuta dietyylieetterillä (3 x 75 ml). Yhdistä orgaaniset uutokset, kuivata vedettömän magnesiumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) diamidin saamiseksi.

Kaavio II, vaihe B: Lisää trietyylioksoniumtetrafluoriboraattia (42 mmol) metyleenikloridiin (50 ml) ja lisää diamia (20 mmol), joka valmistettiin yllä kaavion II vaiheessa A. Sekoita reaktiota huoneenlämpötilassa 24 tuntia ja sitten konsentroi tyhjiössä. Liuota jäännös etanoliin (50 ml), jäähdytä 0 °C:seen ja lisää natriumboorihydridiä (45 mmol) osina. Kun lisäys on täydellinen, lämmitä reaktio huoneenlämpötilaan ja sekoita 24 tuntia. Laimenna reaktio metyleenikloridilla (200 ml), huuhto vedellä (100 ml), suolavedellä (100 ml), kuivata vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) tetra-amiinin saamiseksi.

Tetra-amiini voidaan vaihtoehtoisesti valmistaa kaavion II vaiheessa B liuottamalla diamiini (10 mmol), joka on valmistettu kaavion II vaiheessa A, tetrahydrofuraaniin (50 ml). Jäähdytä liuos 0 °C:seen ja lisää boraa (20 mmol, 1 M liuos tetrahydrofuraanissa). Kuumenna reaktiota takaisinvirtautuksessa 18 tuntia. Jäähdytyksen

jälkeen laimenna reaktio metyleenikloridilla (200 ml),
huuhdo vedellä (100 ml), suolavedellä (100 ml), kuivata
vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi
tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla kromatografialla (si-
likageeli, metanoli/metyleenikloridi) tetra-amiinin saami-
seksi.

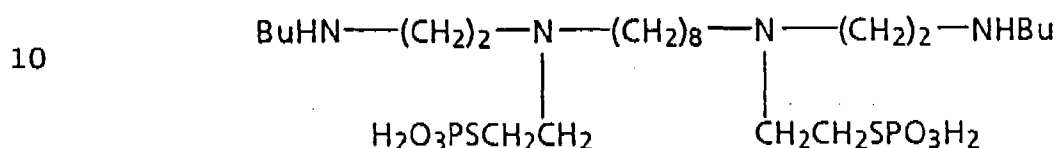
Kaavio II, vaihe C: Liuota tetra-amiini (10 mmol),
joka on valmistettu kaavion II vaiheessa B, tetrahydrofu-
raaniin (50 ml) ja lisää tipoittain etyleenisulfidia
(22 mmol). Kuumenna reaktiota takaisinvirtautuksella 4
tuntia. Jäähdytyksen jälkeen konsentroi reaktio tyhjiössä
ja puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikagee-
li, metanoli/metyleenikloridi) di-N-alkyloidun tetra-ami-
nin saamiseksi.

Kaavio II, vaihe D: Liuota di-N-alkyloitu tetra-
amiini (10 mmol), joka on valmistettu kaavion II vaiheessa
C, 1,2-dimetoksietaaniin (50 ml) ja käsittele litiumalu-
miinihydridillä (25 mmol). Kuumenna reaktio takaisinvir-
tautukseen 18 tunniksi. Jäähdytyksen jälkeen reaktiota
muokataan lisäämällä peräkkäin vettä (1 ml), 10 % natrium-
hydroksidia (1,5 ml) ja vettä (3 ml). Sitten laimenna me-
tyleenikloridilla (200 ml), huuhdo vedellä (100 ml), suo-
lavedellä (100 ml), kuivata vedettömän natriumsulfaatin
yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös
nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metylee-
nikloridi) otsikon yhdisteen saamiseksi.

Otsikon yhdiste voidaan vaihtoehtoisesti valmistaa
kaavion II vaiheessa D liuottamalla di-N-alkyloitu tetra-
amiini (10 mmol), joka on valmistettu kaavion II vaiheessa
C, vedettömään tetrahydrofuraaniin (50 ml) ja jäähdyttä-
mällä liuos -78 °C:seen. Lisää ylimäärä vedetöntä ammoni-
akkia, jonka jälkeen lisää ylimäärä natriumia. Sekoita
reaktiota 4 tuntia ja sitten lämmitä huoneenlämpötilaan
yli yön. Lisää dietyylieetteriä (100 ml), jonka jälkeen
lisää varovasti etanolia (30 ml). Kun on sekoitettu 30

minuuttia, lisää varovasti vettä tipoittain (5 ml) ja sit-
ten konsentroi reaktio tyhjiössä. Uuta jäännös dietyyli-
eetterillä (100 ml) ja kloroformilla (100 ml). Yhdistä
5 orgaaniset uutokset, kuivata vedettömän natriumsulfaatin
yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös
nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metylee-
nikloridi) otsikon yhdisteen saamiseksi.

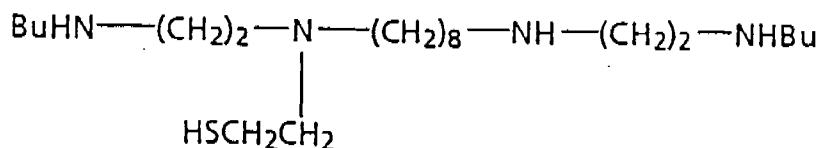
Esimerkki 2



5,8,17,20-tetra-atsa-8,17-bis-[2-(tiofosforyyli)- etyyli]tetradodekaanin valmistus

15 Kaavio II, vaihtoehtoinen vaihe E: Käsittele 2-((2-
butyyliaminoetyyli)-{8-[(2-butyyliaminoetyyli)-(2-merkapa-
toetyyli)amino]oktyyli}amino)etaanitiolia (10 mmol), joka
on valmistettu esimerkissä 1, trietyylifosfiitilla
(40 mmol) ja bromitrikloorimetaanilla (20 mmol). Sekoita
20 reaktiota kaksi tuntia takaisinvirtautuksella. Konsentroi
reaktio tyhjiössä ja puhdista bis(dietyylifosforotioaat-
ti)välimuoto nopealla kromatografialla (silikageeli, etyy-
liasetaatti). Puhdistettu bis(dietyylifosforotioaatti)
liuotetaan sitten metyleenikloridiin (50 ml) ja sitä käsi-
25 tellään ylimäärällä trimetyylisilyylibromidia. Sekoita
reaktiota 24 tuntia. Konsentroi reaktio tyhjiössä otsikon
yhdisteen saamiseksi.

Esimerkki 3



5

2-((2-butyliaminoetyyli)-[8-(2-butyliaminoetyyliamino)oktyyli]amino)etaanitiolin valmistus

Kaavio III, vaihe A: Liuota trietyylioksoniumtetrafluoriboraatti (10 mmol) metyleenikloridiin (50 ml) ja lisää diamidia (20 mmol), joka valmistettiin esimerkin 1 kaavion II vaiheessa A. Sekoita reaktiota huoneenlämpötilassa 24 tuntia ja sitten konsentroi tyhjiössä. Liuota jäännös etanoliin (50 ml), jäähdytä 0 °C:seen ja lisää natriumboorihydridiä (45 mmol) osina. Kun lisäys on täydellinen, lämmitä reaktio huoneenlämpötilaan ja sekoita 24 tuntia. Laimenna reaktio metyleenikloridilla (200 ml), huuhto vedellä (100 ml), suolavedellä (100 ml), kuivata vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) amidin saamiseksi.

Amidi voidaan vaihtoehtoisesti valmistaa kaavion III vaiheessa A liuottamalla diamidi (10 mmol), joka on valmistettu esimerkin 1 kaavion II vaiheessa A, tetrahydrofuraaniin (50 ml). Jäähdytä liuos 0 °C:seen ja lisää boraania (10 mmol, 1 M liuos tetrahydrofuraanissa). Kuumenna reaktiota takaisinvirtautuksessa 18 tuntia. Jäähdätyksen jälkeen laimenna reaktio metyleenikloridilla (200 ml), huuhto vedellä (100 ml), suolavedellä (100 ml), kuivata vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) amidin saamiseksi.

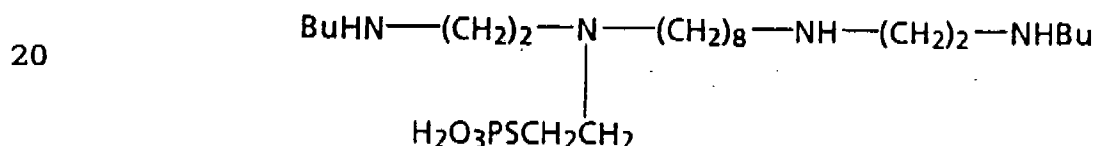
Kaavio III, vaihe B: Liuota amidi (10 mmol), joka on valmistettu kaavion III vaiheessa A, tetrahydrofuraaniin (50 ml) ja lisää tipoittain etyleenisulfidia

35

(10 mmol). Kuumenna reaktiota takaisinvirtautuksella 4 tuntia. Jäähdytyksen jälkeen konsentroi reaktio tyhjiössä ja puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) N-alkyloidun amidin saamiseksi.

Kaavio III, vaihe C: Liuota N-alkyloitu amidi (10 mmol), joka on valmistettu kaavion III vaiheessa B, 1,2-dimetoksietaaniin (50 ml) ja käsittele litiumalumiinihydridillä (40 mmol). Kuumenna reaktiota takaisinvirtautukseen 18 tunniksi. Jäähdytyksen jälkeen reaktiota muokataan lisäämällä peräkkäin vettä (1,5 ml), 10 % natriumhydroksidia (2,3 ml) ja vettä (4,5 ml). Sitten laimenna metyleenikloridilla (200 ml), huuhto vedellä (100 ml), suolavedellä (100 ml), kuivata vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) otsikon yhdisteen saamiseksi.

Esimerkki 4



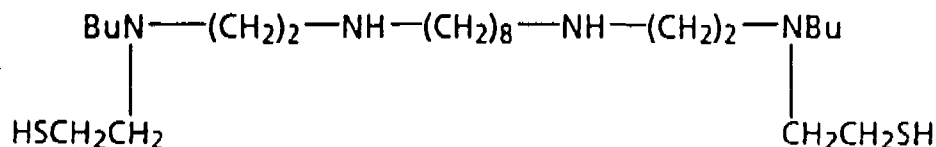
5,8,17,20-tetra-atsa-8-[2-(tiofosforyyli)etyyli]-tetradodekaanin valmistus

Kaavio III, vaihtoehtoinen vaihe D: Käsittele 2-(((2-butyyliminoetyyli)-[8-(2-butyyliminoetyylimino)-oktyyli]amino)etaanitiolia (10 mmol), joka on valmistettu esimerkissä 3, trietyylifosfiitilla (20 mmol) ja bromitrikloorimetaanilla (10 mmol). Sekoita reaktiota kaksi tuntia takaisinvirtautuksella. Konsentroi reaktio tyhjiössä ja puhdista dietyylifosforotioaattivälimuoto nopealla kromatografialla (silikageeli, etyyliasetaatti). Puhdistettu dietyylifosforotioaatti liuotetaan sitten metyleenikloridiin (50 ml) ja sitä käsitellään ylimäärällä trimetyylisilyylibromidia. Sekoita reaktiota 4 tuntia -20 °C:ssa.

Konsentroi reaktio tyhjiössä. Liuota jäännös 2-propanoliiniin, lisää suolahappoa ja kerää otsikon yhdiste suodattamalla suolahapposuolana.

Esimerkki 5

5



10 2-{butyyli-[2-(8-{2-[butyyli-(2-merkaptioetyyli)amino]etyyliamino}oktyyliamino))etyyli]amino}etaanitiolin valmistus

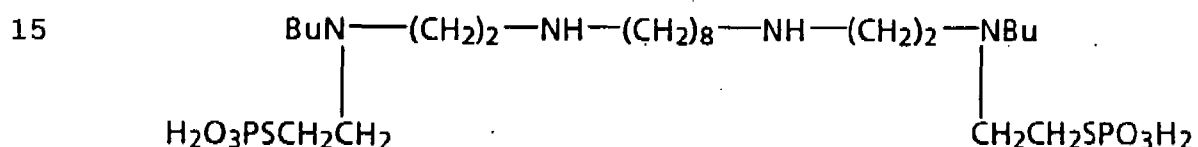
Kaavio IV, vaihe A: Liuota diamidi (10 mmol), joka on valmistettu esimerkin 1 kaavion II vaiheessa A, vedettömään tetrahydrofuraaniin (50 ml) ja jäähdytä liuos -78 °C:seen. Lisää ylimäärä vedetöntä ammoniakkia, jonka jälkeen lisää ylimäärä natriumia. Sekoita reaktiota 4 tuntia ja sitten lämmitä huoneenlämpötilaan yli yön. Lisää dietyylieetteriä (100 ml), jonka jälkeen lisää varovasti etanolia (30 ml). Kun on sekoitettu 30 minuuttia, lisää
20 varovasti tipoittain vettä (5 ml) ja sitten konsentroi reaktio tyhjiössä. Uuta jäännös dietyylieetterillä (100 ml) ja kloroformilla (100 ml). Yhdistä orgaaniset uutokset, kuivaa vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) diamidin, josta suojaus on poistettu, saamiseksi.

25 Kaavio IV, vaihe B: Liuota diamidi, josta suojaus on poistettu (10 mmol), joka on valmistettu kaavion IV vaiheessa A, tetrahydrofuraaniin (50 ml) ja lisää tipoittain etyleenisulfidia (22 mmol). Kuumenna reaktiota takaisinvirtautuksella 4 tuntia. Jäähdytyksen jälkeen konsentroi reaktio tyhjiössä ja puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) di-N-alkyloidun diamidin saamiseksi.

30

Kaavio IV, vaihe C: Liuota di-N-alkyloitu diamidi (10 mmol), joka on valmistettu kaavion IV vaiheessa B, 1,2-dimetoksietaaniin (50 ml) ja käsittele litiumalumiinihydridillä (40 mmol). Kuumenna reaktiota takaisinvirtautukseen 18 tunniksi. Jäähdytyksen jälkeen reaktiota muokataan lisäämällä peräkkäin vettä (1,5 ml), 10 % natriumhydroksidia (2,3 ml) ja vettä (4,5 ml). Sitten laimenna metyleenikloridilla (200 ml), huuhto vedellä (100 ml), suolavedellä (100 ml), kuivata vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) otsikon yhdisteen saamiseksi.

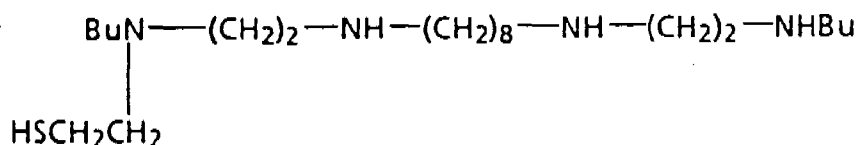
Esimerkki 6



5,8,17,20-tetra-atsa-5,20-bis[2-(tiofosforyyli)etyyli]tetradodekaanin valmistus

Kaavio IV, vaihtoehtoinen vaihe D: Käsittele 2-{butyyli-[2-(8-{2-[butyyli-(2-merkaptioetyyli)amino]etyyliamino}oktyyliamino))etyyli]amino}etaanitiolia (10 mmol), joka on valmistettu esimerkissä 5, trietyylifosfiitilla (40 mmol) ja bromitrikloorimetaanilla (20 mmol). Sekoita reaktiota kaksi tuntia takaisinvirtautuslämpötilassa. Konsentroi reaktio tyhjiössä ja puhdista bis(dietyylifosforotioaatti)välimuoto nopealla kromatografialla (silikageeli, etyyliasetaatti). Puhdistettu bis(dietyylifosforotioaatti) liuotetaan sitten metyleenikloridiin (50 ml) ja sitä käsitellään ylimäärällä trimetyylisilyylibromidia. Sekoita reaktiota 4 tuntia -20 °C:ssa. Konsentroi reaktio tyhjiössä. Liuota jäännös 2-propanoliin, lisää suolahappoa ja kerää otsikon yhdiste suodattamalla suolahapposuolana.

Esimerkki 7



5

2-(butyyli-{2-[8-(2-butyyliminoetyylimino)oktyylimino]etyyli}amino)etaanitiolin valmistus

Kaavio V, vaihe A: Liuota diamidi, josta suojaus on poistettu (10 mmol), joka on valmistettu esimerkin 5 kaavion IV vaiheessa A, 10 % natriumhydroksidiin (50 ml), ja jäädytä 0 °C:seen. Lisää p-tolueenisulfonyylikloridia (10 mmol) sekoittaen. Tunnin kuluttua anna reaktion lämmetä huoneenlämpötilaan ja sekoita 2 vuorokautta. Neutraloi reaktio 0,5 N suolahapolla ja uuta vesifaasi metyleenikloridilla (2 x 100 ml). Huuhdo yhdistetyt orgaaniset uutokset vedellä (100 ml), suolavedellä (100 ml), kuivata vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä monosuojatun diamidin saamiseksi.

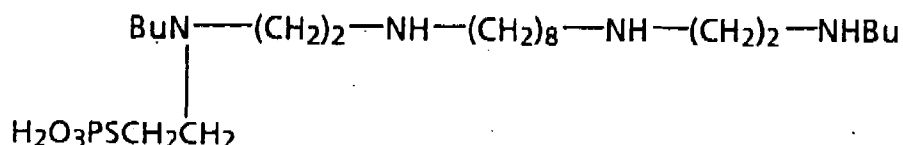
Kaavio V, vaihe B: Liuota monosuojattu diamidi (10 mmol), joka on valmistettu kaavion V vaiheessa A, tetrahydrofuraaniin (50 ml) ja lisää tipoittain etyleenisulfidia (1,2 mmol). Kuumenna reaktio takaisinvirtautukseen 4 tunniksi. Jäähdytyksen jälkeen konsentroi reaktio tyhjiössä ja puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikaageeli, metanoli/metyleenikloridi) N-alkyloidun diamidin saamiseksi.

Kaavio V, vaihe C: Liuota N-alkyloitu diamidi (10 mmol), joka on valmistettu kaavion V vaiheessa B, 1,2-dimetoksietaaniin (50 ml) ja käsittele litiumalumiinihydridillä (40 mmol). Kuumenna reaktiota takaisinvirtautukseen 18 tunniksi. Jäähdytyksen jälkeen reaktiota muokataan lisäämällä peräkkäin vettä (1,5 ml), 10 % natriumhydroksidia (2,3 ml) ja vettä (4,5 ml). Sitten laimenna metyleenikloridilla (200 ml), huuhdo vedellä (100 ml), suolavedellä (100 ml), kuivata vedettömän natriumsulfaatin yllä,

suodata ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) otsikon yhdisteen saamiseksi.

Esimerkki 8

5



10

5,8,17,20-tetra-atsa-5-[2-(tiofosforyyli)etyyli]-tetradodekaanin valmistus

Kaavio V, vaihtoehtoinen vaihe D: Käsittele 2-(butyyli-{2-[8-(2-[butyyliaminoetyyliamino)oktyyliamino]etyyli}amino)etaanitiolia (10 mmol), joka on valmistettu esimerkiksi 7, trietyylifosfiitilla (20 mmol) ja bromitrikloorimetaanilla (10 mmol). Sekoita reaktiota kaksi tuntia takaisinvirtautuksella. Konsentroi reaktio tyhjiössä ja puhdista dietyylifosforotioaattivälimuoto nopealla kromatografialla (silikageeli, etyyliasetaatti). Puhdistettu dietyylifosforotioaatti liuotetaan sitten metyleenikloridiin (50 ml) ja sitä käsitellään ylimäärällä trimetyylisilyylibromidia. Sekoita reaktiota 4 tuntia -20 °C:ssa. Konsentroi reaktio tyhjiössä. Liuota jäännös 2-propanoliin, lisää suolahappoa ja kerää otsikon yhdiste suodattamalla suolahapposuolana.

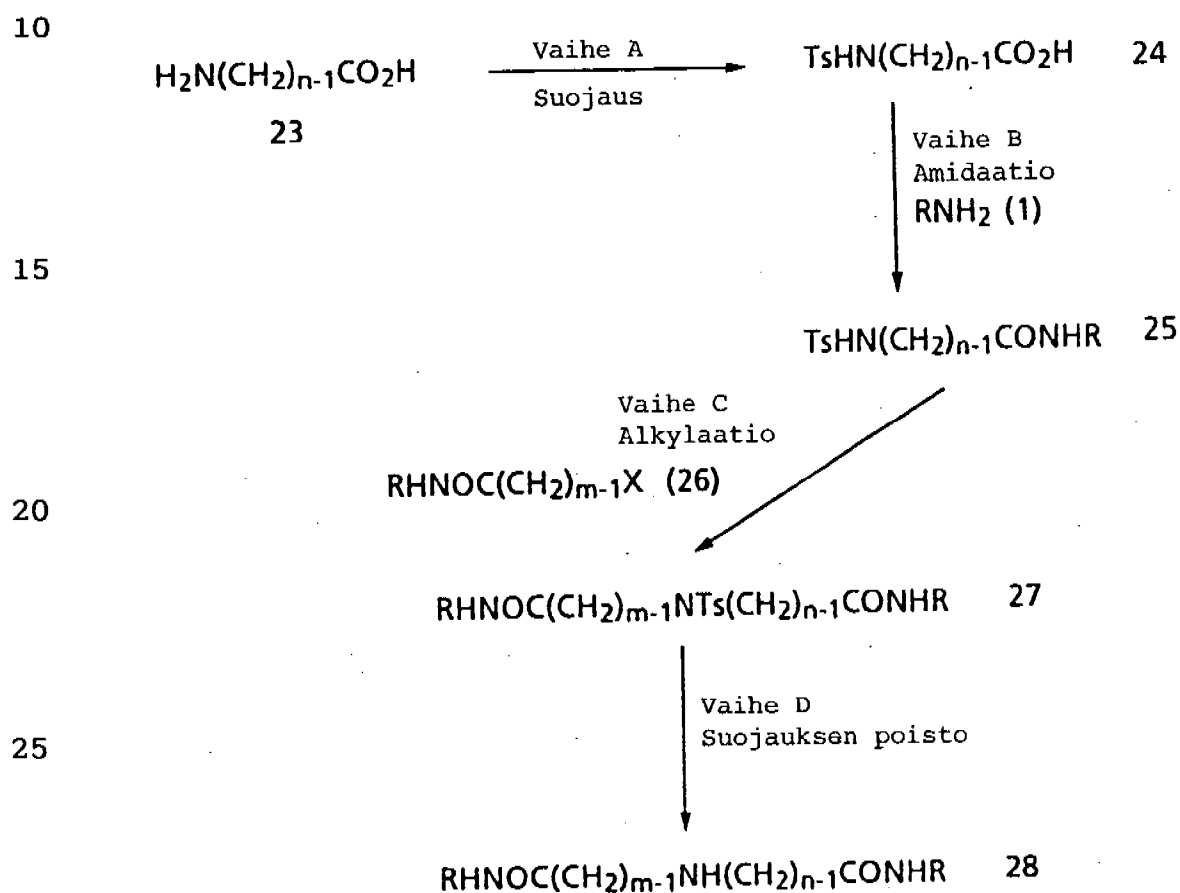
25

Kaavan (II) mukaiset polyamiinijohdannaiset voidaan valmistaa käyttäen alalla hyvin tunnettuja menetelmiä. Minkä tahansa spesifisen valmistusreitin valinta riippuu eri tekijöistä. Esimerkiksi reaktanttien yleinen saatavuus ja hinta, tiettyjen yleisten reaktioiden soveltuvuus spesifisille yhdisteille ja niin edelleen, ovat kaikki tekijöitä, jotka alan asiantuntijat täysin ymmärtävät ja kaikki ne ottavat osaa minkä tahansa kaavan (II) sisältävän spesifisen yhdisteen valmistussynteesireitin valintaan.

30

Seuraavat reaktiokaaviot ovat kuvaavia niistä reiteistä, joilla kaavan (II) mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa. Kaikki substituentit, jollei muuta ole osoitettu, on aiemmin määritetty. Reagenssit ja lähtömateriaalit ovat alan asiantuntijan helposti saatavissa. Kaavioissa VII, VIII ja IX käytettävän lähtömateriaalin valmistus on kuvattu kaaviossa VI.

Kaavio VI



Kaavion VI vaiheessa A rakenteen (23) kuvaama aminohappo suojataan niin, että saadaan N-tosyloitu aminohappo, jota kuvataan rakenteena (24).

Esimerkiksi aminohappo (23) liuotetaan 10 % natriumhydroksidiin ja jäädytetään 0 °C:seen. Sekoitettuun liuokseen lisätään tiipoittain ekvivalentti määrä p-tolueenisulfonyylikloridia. Noin yhden tunnin kuluttua reaktio

lämmitetään huoneenlämpötilaan ja sen annetaan sekoittua noin kaksi vuorokautta. Reaktio neutraloidaan 0,5 N suolahapolla ja uutetaan sopivalla orgaanisella liuottimella, kuten metyleenikloridilla. Orgaaninen faasi huuhdellaan vedellä, suolavedellä, kuivataan vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodatetaan ja konsentroidaan tyhjiössä niin, että saadaan N-tosyloitu aminohappo (24).

Vaiheessa B N-tosyloitu aminohappo (24) altistetaan amidaatioreaktiolle olosuhteissa, jotka ovat alalla hyvin tunnettuja, yhdessä sopivasti substituoidun primaarisen amiinin (1) kanssa niin, että saadaan amidi, jota kuvataan rakenteena (25).

Esimerkiksi N-tosyloitu aminohappo (24) liuotetaan sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten tetrahydrofuraaniin, ja sitä käsitellään lisäämällä yksi ekvivalentti sopivasti substituotua primaarista amiinia (1). Sitten lisätään 1,1 ekvivalenttia N-etoksikarbonyyli-2-etoksi-1,2-dihydrokinoliinia (EEDQ) ja reaktiota sekoitetaan 2 - 24 tuntia huoneenlämpötilassa. Sitten reaktio konsentroidaan tyhjiössä. Jäännös puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä, kuten nopealla kromatografialla niin, että saadaan amidi (25).

Vaihtoehtoisesti amidi (25) voidaan valmistaa alla kuvatulla tavalla. Yksi ekvivalentti N-tosyloitua aminohappoa (24) liuotetaan sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten tetrahydrofuraaniin, ja sitä käsitellään yhdellä ekvivalentilla N-metyylimorfoliinia. Reaktio jäähdytetään -20 °C:seen ja sitä käsitellään yhdellä ekvivalentilla isobutyryliklooriformaattia. Reaktiota sekoitetaan noin 30 minuuttia ja lisätään yksi ekvivalentti sopivasti substituotua primaarista amiinia (1), joka on liuotettu dime-tyyliformamidiin. Reaktiota sekoitetaan -20 °C:ssa useita tunteja, lämmitetään huoneenlämpötilaan ja laimennetaan eetterillä ja vedellä. Kerrokset erotetaan ja orgaaninen kerros kuivataan magnesiumsulfaatin yllä, suodatetaan ja

konsentroidaan tyhjiössä. Jäännös puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä, kuten nopealla kromatografialla, amidin (25) saamiseksi.

5 Vaiheessa C amidi (25) N-alkyloidaan sopivasti substituoitulla rakenteen (26) mukaisella haloamidilla niin, että saadaan suojattu diamidi, jota kuvataan rakenteena (27).

10 Esimerkiksi amidi (25) liuotetaan sopivaan liuottimeen, kuten tetrahydrofuraaniin, ja sitä käsitellään yhdellä ekvivalentilla sopivaa emästä, kuten natriumhydridiä. Reaktion annetaan sekoittua noin 30 minuuttia ja lisätään yksi ekvivalentti sopivasti substituoitua haloamidia (26). [Haloamidi (26) voidaan valmistaa alalla hyvin tunnetuissa olosuhteissa, kuten amidaatioreaktiolla

15 $X(CH_2)_{m-1}COX-$ ja $RNH_2^{(1)}$ -yhdisteiden välillä, jossa X on kloori- tai bromiatomi]. Reaktiota kuumennetaan sitten noin 30 - 67 °C:seen noin 1 - 24 tunniksi. Suojattu diamidi (27) eristetään sitten reaktioalustasta alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä. Reaktio laimennetaan esimerkiksi

20 metyleenikloridilla, huuhdotaan vedellä, suolavedellä, kuivataan vedettömään natriumsulfaatin yllä, suodatetaan ja konsentroidaan tyhjiössä. Jäännös puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä, kuten nopealla kromatografialla silikageelissä sopivalla eluenttiseoksella, kuten

25 metanoli/metyleenikloridilla, suojatun diamidin (27) saamiseksi.

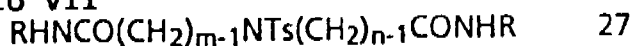
30 Vaiheessa H suojatun diamidin (27) suojaus poistetaan olosuhteissa, jotka ovat alalla hyvin tunnettuja niin, että saadaan diamidi, josta suojaus on poistettu, jota kuvataan rakenteena (28).

35 Esimerkiksi suojatun diamidin (27) suojaus voidaan poistaa seuraten yleisesti menetelmää, joka on kuvattu EP-patenttihakemuksessa numero 349 224, joka on julkaistu 1.3.1990. Suojattu diamidi (27) liuotetaan vedettömään tetrahydrofuraaniin, jäädytetään -78 °C:seen ja sitä kä-

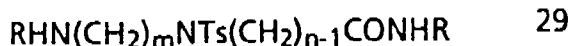
sitellään ylimäärällä kondensoitua ammoniakkia. Lisätään
 ylimäärä natriumia hitaasti -78°C :ssa ja reaktiota sekoi-
 tetaan noin 4 tuntia. Sitten se lämmitetään huoneenlämpö-
 tilaan yli yöksi niin, että ammoniakki haihtuu. Lisätään
 5 dietyylieetteriä, jonka jälkeen lisätään varovasti etano-
 lia, jonka jälkeen lisätään varovasti vettä reaktion lo-
 pulliseksi lopettamiseksi. Liuottimet poistetaan tyhjiössä
 ja jäännös uutetaan dietyylieetterillä ja kloroformilla.
 Yhdistetyt uutokset kuivataan vedettömän natriumsulfaatin
 10 yllä, suodatetaan ja konsentroidaan tyhjiössä. Jäännös
 puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä, kuten
 nopealla kromatografialla niin, että saadaan diamidi, jos-
 ta suojaus on poistettu (28).

Kaavan (II) mukaiset yhdisteet, joissa B_2 ja B_3 on
 15 H ja B_1 on $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$ tai $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SPO}_3\text{H}_2$, voidaan valmistaa,
 kuten on kuvattu kaaviossa VII. Kaikki substituentit, jol-
 lei muuta ole osoitettu, on määriteltä aiemmin. Reagenssit
 ja lähtömateriaalit ovat alan asiantuntijan helposti saa-
 tavissa.

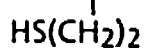
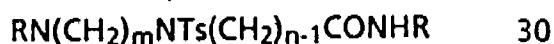
Kaavio VII



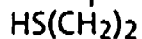
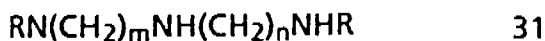
Vaihe A
Pelkistys



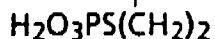
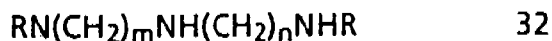
Vaihe B
N-alkylaatio



Vaihe C
Suojauksen poisto/
pelkistys



Vaihtoehtoinen
Vaihe D



Kaavion VII vaiheessa A kaavion VI vaiheessa C valmistettu sopivasti substituoitu diamidi (27) pelkistetään alalla hyvin tunnetuissa olosuhteissa niin, että saadaan monoamidi, jota kuvataan rakenteena (29).

Esimerkiksi diamidi (27) liuotetaan sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten tetrahydrofuraaniin, ja sitä käsitellään yhdellä ekvivalentilla boraania (1 M liuos tetrahydrofuraanissa) 0 °C:ssa. Sitten sitä sekoitetaan 3 tuntia takaisinvirtautuksella niin, että saadaan monoamidi (29) sen jälkeen, kun on eristetty ja puhdistettu alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä.

Vaiheessa B monoamidi (29) mono-N-alkyloidaan etyleenisulfidilla niin, että saadaan sopivasti substituoitu mono-N-alkyloitu amidi, jota kuvataan rakenteena (30).

5 Esimerkiksi monoamidi (29) liuotetaan sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten bentseeniin, ja sitten sitä käsitellään yhdellä ekvivalentilla etyleenisulfidia 2 - 10 tuntia lämpötilassa, joka on huoneenlämpötilasta takaisinvirtautuslämpötilaan niin, että saadaan mono-N-alkyloitu amidi (30).

10 Vaiheessa C mono-N-alkyloidun amidin (30) suojaus poistetaan ja samanaikaisesti pelkistetään käsittelemällä sopivalla pelkistimellä niin, että saadaan mono-N-alkyloitu triamiini, jota kuvataan rakenteena (31).

15 Esimerkiksi mono-N-alkyloitu amidi (30) liuotetaan sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten 1,2-dimetoksietaaniin, ja sitä käsitellään neljällä ekvivalentilla sopivaa pelkistintä, kuten litiumalumiinihydridiä. Reaktiota kuunnennetaan takaisinvirtautukseen noin 18 tunniksi. Sitten reaktio lopetetaan lisäämällä vesi:10 % natriumhydroksidi:20 vesi-liuosta, jonka tilavuussuhde on 1,0:1,5:3,0, jossa ensimmäinen vesilisäysmäärä on ekvivalentti litiumalumiinihydridin painomäärälle. Sitten tuote eristetään alalla hyvin tunnetuilla uutto- ja puhdistusmenetelmillä niin, että saadaan mono-N-alkyloitu triamiini (31).

25 Vaihtoehtoisessa vaiheessa D mono-N-alkyloidun triamiinin (31) tioliryhmä voidaan muuttaa vastaavaksi rakenteen (32) mukaiseksi mono-fosforotioaatiksi seuraten yleisesti kaavion III vaihtoehtoisessa vaiheessa D kuvattua menetelmää.

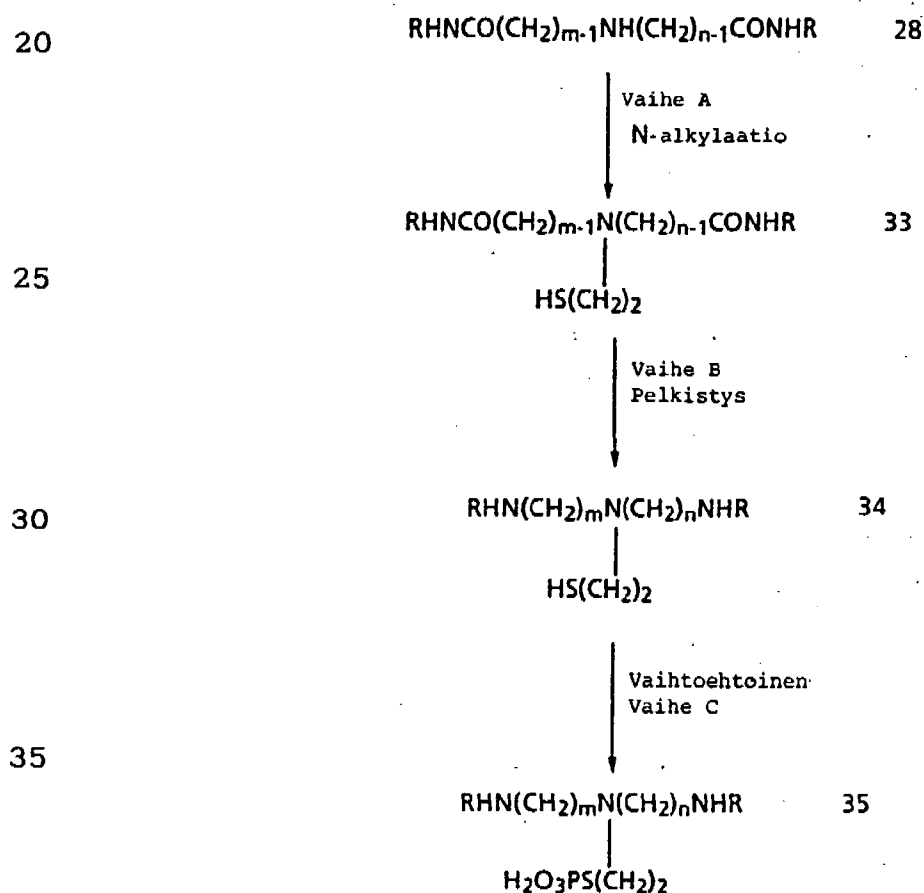
30 Esimerkiksi sopivasti substituoitua mono-N-alkyloitua triamiinia (31) käsitellään kahdella ekvivalentilla trietyylifosfiittia ja yhdellä ekvivalentilla bromitrikloorimetaania. Reaktiota sekoitetaan 1 - 3 tuntia lämpötila-alueella, joka on huoneenlämpötilasta takaisinvirtautuslämpötilaan. Vastaava dietyylifosforotioaattivälimuoto

35

otetaan talteen reaktiosta poistamalla haihtuvat aineet tyhjiössä ja puhdistamalla nopealla kromatografialla. Sitten dietyylifosforotioaattivälimuoto katkaistaan käsittelemällä ylimäärällä trimetyylisilylibromidia. Reaktantit
 5 saatetaan kosketukseen sopivan orgaanisen liuottimen, kuten metyleenikloridin, kanssa noin 2 - 24 tunniksi lämpötila-alueella, joka on $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ - takaisinvirtautuslämpötila. Sitten haihtuvat aineet poistetaan tyhjiössä ja jäännös puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä
 10 niin, että saadaan rakenteen (32) mukainen monofosforotioaatti.

Kaavan (II) mukaiset yhdisteet, joissa B_1 ja B_2 on H ja B_2 on $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$ tai $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SPO}_3\text{H}_2$, voidaan valmistaa, kuten on kuvattu kaaviossa VIII. Kaikki substituentit,
 15 jollei muuta ole osoitettu, on määritelty aiemmin. Reagenssit ja lähtömateriaalit ovat alan asiantuntijan helposti saatavissa.

Kaavio VIII



Kaavion VIII vaiheessa A kaavion VI vaiheessa D valmistettu sopivasti substituoitu diamidi (28) mono-N-alkyloidaan etyleenisulfidilla niin, että saadaan sopivasti substituoitu mono-N-alkyloitu diamidi, jota kuvataan rakenteena (33).

Esimerkiksi sopivasti substituoitu diamidi (28) liuotetaan sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten bentseeniin, ja sitten käsitellään yhdellä ekvivalentilla etyleenisulfidia 2 - 10 tuntia lämpötilassa, joka on huoneenlämpötilasta takaisinvirtautuslämpötilaan niin, että saadaan mono-N-alkyloitu-diamidi (33).

Vaiheessa B mono-N-alkyloidun diamidin (33) suojaus poistetaan ja samanaikaisesti pelkistetään käsittelemällä sopivalla pelkistimellä niin, että saadaan mono-N-alkyloitu-triamiini, jota kuvataan rakenteena (34).

Esimerkiksi mono-N-alkyloitu diamidi (33) liuotetaan sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten 1,2-dimetoksietaaniin, ja sitä käsitellään neljällä ekvivalentilla sopivaa pelkistintä, kuten litiumalumiinihydridiä. Reaktiota kuumennetaan takaisinvirtautukseen noin 18 tunniksi. Sitten reaktio lopetetaan lisäämällä vesi:10 % natriumhydroksidi:vesi-liuosta, jonka tilavuussuhde on 1,0:1,5:3,0, jossa ensimmäinen vesilisäysmäärä on ekvivalentti litiumalumiinihydridin painomäärälle. Sitten tuote eristetään alalla hyvin tunnetuilla uutto- ja puhdistusmenetelmillä niin, että saadaan mono-N-alkyloitu triamiini (34).

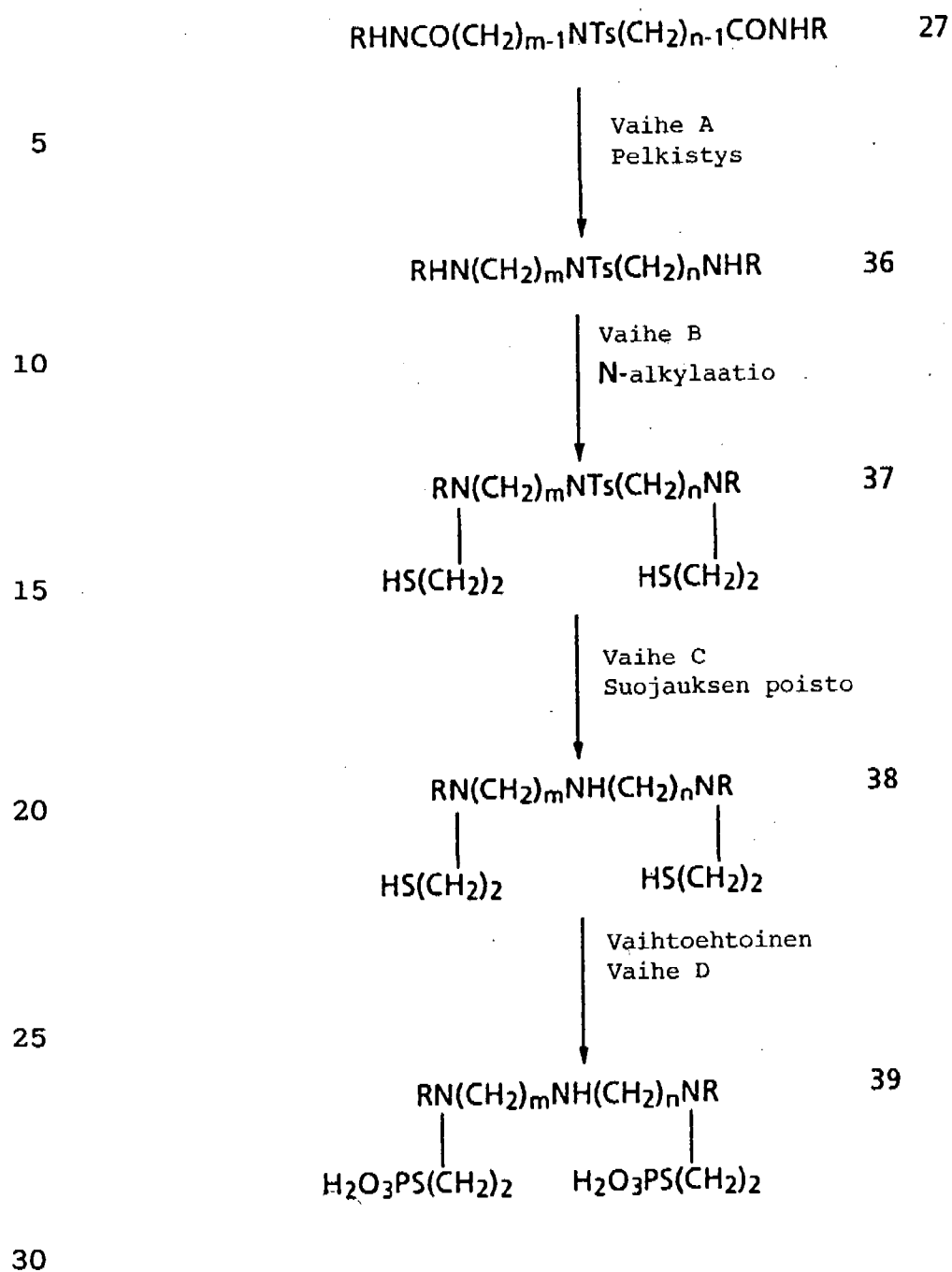
Vaihtoehtoisessa vaiheessa C mono-N-alkyloidun triamiinin (34) tioliryhmä voidaan muuttaa vastaavaksi rakenteen (35) mukaiseksi mono-fosforotioaatiksi seuraten yleisesti kaavion V vaihtoehtoisessa vaiheessa D kuvattua menetelmää.

Esimerkiksi sopivasti substituoitua mono-N-alkyloitua triamiinia (34) käsitellään kahdella ekvivalentilla trietyylifosfiittia ja yhdellä ekvivalentilla bromitri-kloorimetaania. Reaktiota sekoitetaan 1 - 3 tuntia lämpö-

tila-alueella, joka on $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ - takaisinvirtautuslämpötila. Vastaava dietyylifosforotioaattivälimuoto otetaan talteen reaktiosta poistamalla haihtuvat aineet tyhjiössä ja puhdistamalla nopealla kromatografialla. Sitten dietyylifosforotioaattivälimuoto katkaistaan käsittelemällä ylimäärällä trimetyylisilylibromidia. Reaktantit saatetaan kosketukseen sopivan orgaanisen liuottimen, kuten metyleenikloridin, kanssa noin 2 - 24 tunniksi lämpötila-alueella, joka on huoneenlämpötilasta takaisinvirtautuslämpötilaan. Sitten haihtuvat aineet poistetaan tyhjiössä ja jäännös puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä niin, että saadaan rakenteen (35) mukainen monofosforotioaatti.

Kaavan (II) mukaiset yhdisteet, joissa B_1 ja B_3 on $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$ tai $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SPO}_3\text{H}_2$ ja B_2 on H, voidaan valmistaa, kuten on kuvattu kaaviossa IX. Kaikki substituentit, jollei muuta ole osoitettu, on määriteltä aiemmin. Reagenssit ja lähtömateriaalit ovat alan asiantuntijan helposti saatavissa.

Kaavio IX



Kaavion IX vaiheessa A kaavion VI vaiheessa C valmistettu sopivasti substituoitu diamidi (27) pelkistetään alalla hyvin tunnetuissa olosuhteissa niin, että saadaan triamiini, jota kuvataan rakenteena (36).

Esimerkiksi diamidi (27) liuotetaan sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten tetrahydrofuraaniin, ja sitä käsitellään kahdella ekvivalentilla boraania (1 M liuos tetrahydrofuraanissa) 0 °C:ssa. Sitten sitä sekoitetaan 18 tuntia takaisinvirtautuksella niin, että saadaan triamiini (36) sen jälkeen, kun on eristetty ja puhdistettu alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä.

Vaiheessa B triamiini (36) di-N-alkyloidaan etyleenisulfidilla niin, että saadaan sopivasti substituoitu di-N-alkyloitu triamiini, jota kuvataan rakenteena (37).

Esimerkiksi triamiini (36) liuotetaan sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten bentseeniin, ja käsitellään kahdella ekvivalentilla etyleenisulfidia 2 - 10 tuntia lämpötilassa, joka on huoneenlämpötilasta takaisinvirtautuslämpötilaan niin, että saadaan di-N-alkyloitu triamiini (37).

Vaiheessa C di-N-alkyloidun triamiinin (37) suojaus poistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä niin, että saadaan triamiini, josta suojaus on poistettu, jota kuvataan rakenteena (38).

Esimerkiksi di-N-alkyloitu triamiini (37) liuotetaan sopivaan orgaaniseen liuottimeen, kuten 1,2-dimetoksietaaniin, ja sitä käsitellään neljällä ekvivalentilla sopivaa pelkistintä, kuten litiumalumiinihydridiä. Reaktiota kuumennetaan takaisinvirtautukseen noin 18 tunniksi. Sitten reaktio lopetetaan lisäämällä vesi:10 % natriumhydroksidi:vesi -liuosta, jonka tilavuussuhde on 1,0:1,5:3,0, jossa ensimmäinen vesilisäysmäärä on ekvivalentti litiumalumiinihydridin painomäärälle. Sitten tuote eristetään alalla hyvin tunnetuilla uutto- ja puhdistusmenetelmillä niin, että saadaan triamiini, josta suojaus on poistettu (38).

Vaihtoehtoisesti di-N-alkyloidun triamiinin (37) suojaus voidaan poistaa seuraten yleisesti menetelmää, joka on kuvattu EP-patenttihakemuksessa numero 349 224,

joka on julkaistu 1.3.1990. Suojattu di-N-alkyloitu triamiini (37) liuotetaan vedettömään tetrahydrofuraaniin, jäähdytetään -78 °C:seen ja sitä käsitellään ylimäärällä kondensoitua ammoniakkia. Lisätään ylimäärä natriumia hi-
 5 taasti -78 °C:ssa ja reaktiota sekoitetaan noin 4 tuntia. Sitten se lämmitetään huoneenlämpötilaan yli yöksi niin, että ammoniakki haihtuu. Lisätään dietyylieetteriä, jonka jälkeen lisätään varovasti etanolia, jonka jälkeen lisätään vettä reaktion lopulliseksi lopettamiseksi. Liuot-
 10 timet poistetaan tyhjiössä ja jäännös uutetaan dietyylieetterillä ja kloroformilla. Yhdistetyt uutokset kuivataan vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodatetaan ja konsentroidaan tyhjiössä. Jäännös puhdistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä, kuten nopealla kromatografialla
 15 niin, että saadaan triamiini, josta suojaus on poistettu (38).

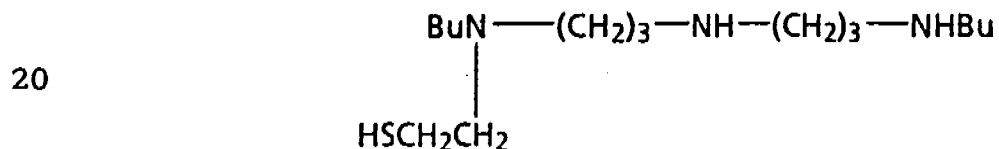
Vaihtoehtoisessa vaiheessa D triamiinin, josta suojaus on poistettu (38), tioliryhmät voidaan muuttaa vastaaviksi rakenteen (39) mukaisiksi fosforotioaateiksi.

20 Esimerkiksi sopivasti substituotua triamiinia, josta suojaus on poistettu (38), käsitellään neljällä ekvivalentilla trietyylifosfiittia ja kahdella ekvivalentilla bromitrikloorimetaania. Reaktiota sekoitetaan 1 - 3 tuntia lämpötila-alueella, joka on huoneenlämpötilasta
 25 takaisinvirtautuslämpötilaan. Vastaava bis(dietyylifosforotioaatti)välimuoto otetaan talteen reaktiosta poistamalla haihtuvat aineet tyhjiössä ja puhdistamalla nopealla kromatografialla. Sitten bis(dietyylifosforotioaatti)välimuoto katkaistaan käsittelemällä ylimäärällä trimetyylisilylibromidia. Reaktantit saatetaan kosketukseen sopivan
 30 orgaanisen liuottimen, kuten metyleenikloridin, kanssa noin 2 - 24 tunniksi lämpötila-alueella, joka on huoneenlämpötilasta takaisinvirtautuslämpötilaan. Sitten haihtuvat aineet poistetaan tyhjiössä ja jäännös puhdistetaan

alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä niin, että saadaan rakenteen (39) mukaiset fosforotioaatit.

Seuraavat esimerkit edustavat tyypillisiä kaavion (II) mukaisten yhdisteiden, jotka on kuvattu kaavioissa VI, VII, VIII ja IX, synteesejä. Nämä esimerkit ovat ainoastaan kuvaavia eikä niiden ole tarkoitettu rajoittavan keksintöä millään tavoin. Reagenssit ja lähtömateriaalit ovat alan asiantuntijan helposti saatavissa. Käytettyinä seuraavissa esimerkeissä seuraavilla termeillä on osoitetut tarkoitukset: "ek." tarkoittaa ekvivalentteja, "g" tarkoittaa grammoja, "mg" tarkoittaa milligrammoja, "mmol" tarkoittaa millimoolia, "ml" tarkoittaa millilitroja, "°C" tarkoittaa Celsius-asteita, "TLC" tarkoittaa ohutkerroskromatografiaa, "R_f" tarkoittaa retentiotekijää ja "δ" tarkoittaa miljoonasosia tetrametyylisilaanin alapuolella.

Esimerkki 9



2-{butyyli[3-(3-butyyliaminopropyyliamino)propyyli]amino}etaanitiolin valmistus

Kaavio VI, vaihe A: Liuota β-alaniinia (10 mmol) 10 % natriumhydoksidiin ja jäähdytä 0 °C:seen. Lisää p-tolueenisulfonyylikloridia (10 mmol) tipoittain liuokseen. Tunnin kuluttua anna reaktion lämmetä huoneenlämpötilaan ja sekoita kaksi vuorokautta. Neutraloi reaktio 0,5 N suolahapolla ja uuta metyleenikloridilla (3 x 50 ml). Yhdistä orgaaniset uutokset, huuhto vedellä (75 ml), suolavedellä (75 ml), kuivata vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä 3-(tolueeni-4-sulfonyyliamino)propionin saamiseksi.

Kaavio VI, vaihe B: Liuota kaavion VI vaiheessa A valmistettu 3-(tolueeni-4-sulfonyyliamino)propioni (20 mmol) tetrahydrofuraaniin (50 ml) ja lisää butyyliamiinia (20 mmol). Lisää N-etoksikarbonyyli-2-etoksi-1,2-dihydrokinoliinia (EEDQ)(22 mmol). Sekoita reaktiota huoneenlämpötilassa 6 - 7 tuntia ja sitten konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) N-butyylimorfoliiniin saamiseksi.

N-butyylimorfoliiniin voidaan vaihtoehtoisesti valmistaa kaavion VI vaiheessa B liuottamalla kaavion VI vaiheessa A valmistettu 3-(tolueeni-4-sulfonyyliamino)propioni (20 mmol) tetrahydrofuraaniin (50 ml), jonka jälkeen lisätään N-metyylimorfoliinia (20 mmol). Jäähdytä reaktio -20 °C:seen ja lisää isobutyylimorfoliiniä (20 mmol). Sekoita reaktiota 30 minuuttia ja lisää butyyliamiinia (20 mmol), joka on liuotettu dimetyylimorfoliiniin (5 ml). Sekoita reaktiota kaksi tuntia -20 °C:ssa ja sitten lämmitä huoneenlämpötilaan. Laimenna reaktio vedellä (150 ml) ja uuta dietyylieetterillä (3 x 75 ml). Yhdistä orgaaniset uutokset, kuivata vedettömän magnesiumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) N-butyylimorfoliiniin saamiseksi.

Kaavio VI, vaihe C: Liuota kaavion VI vaiheessa B valmistettu N-butyylimorfoliiniin (10 mmol) tetrahydrofuraaniin (50 ml) ja käsittele natriumhydridillä (10 mmol). Sekoita reaktiota 30 minuuttia ja lisää 3-bromi-N-butyylimorfoliiniä (10 mmol) [valmistettu amidaatiolla $\text{Br}(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$ -yhdisteen ja butyyliamiinin välillä alalla hyvin tunnetuissa olosuhteissa, kuten aiemmin on yleisesti kuvattu]. Kuumenna reaktiota takaisinvirtautukseen 5 tunniksi. Jäähdytyksen jälkeen laimenna reaktio metyleenikloridilla (150 ml),

huuhdo vedellä (100 ml), suolavedellä (100 ml), kuivaa natriumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) N-butyylim-3-[(2-butylikarbamo-
 5 yylietyyli)-(tolueeni-4-sulfonyyli)amino]propionamidin saamiseksi.

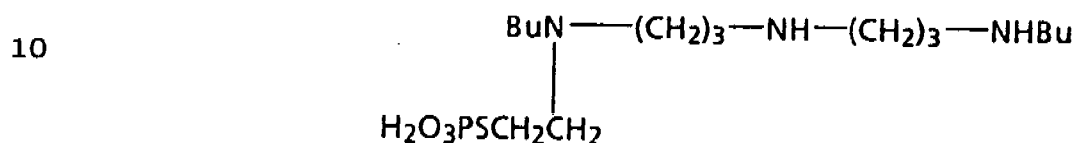
Kaavio VII, vaihe A: Liuota kaavion VI vaiheessa C valmistettu N-butyylim-3-[(2-butylikarbamo-
 10 yylietyyli)-(tolueeni-4-sulfonyyli)amino]propionamidi (10 mmol) tetrahydrofuraaniin (50 ml). Jäähdytä liuos 0 °C:seen ja lisää boraania (10 mmol, 1 M liuos tetrahydrofuraanissa). Kuumenna reaktiota takaisinvirtautuksessa 18 tuntia. Jäähdytyksen jälkeen laimenna reaktio metyleenikloridilla (200 ml), huuhdo vedellä (100 ml), suolavedellä (100 ml),
 15 kuivata vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) N-butyylim-3-[(3-butyliaminopropyyli)tolueeni-4-sulfonyyli)amino]-propionamidin saamiseksi.

Kaavio VII, vaihe B: Liuota kaavion VII vaiheessa A valmistettu N-butyylim-3-[(3-butyliaminopropyyli)tolueeni-4-sulfonyyli)amino]propionamidi (10 mmol) tetrahydrofuraaniin (50 ml) ja lisää tipoittain etyleenisulfidia (10 mmol). Kuumenna reaktiota takaisinvirtautuksella 4
 25 tuntia. Jäähdytyksen jälkeen konsentroi reaktio tyhjiössä ja puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) 3-(bentseenisulfonyyli-{3-[butyylim-(2-merkaptotyyli)amino]propyyli}amino)-N-butyylimpropionamidin saamiseksi.

Kaavio VII, vaihe C: Liuota kaavion VII vaiheessa B valmistettu 3-(bentseenisulfonyyli-{3-[butyylim-(2-merkaptotyyli)amino]propyyli}amino)-N-butyylimpropionamidi (10 mmol) 1,2-dimetoksietaaniin (50 ml) ja käsittele litiumalumiinihydridillä (20 mmol). Kuumenna reaktiota takaisinvirtautukseen 18 tunniksi. Jäähdytyksen jälkeen reakti-

ota muokataan lisäämällä peräkkäin vettä (0,8 ml), 10 % natriumhydroksidia (1,2 ml) ja vettä (2,2 ml). Sitten laimenna metyleenikloridilla (200 ml), huuhto vedellä (100 ml), suolavedellä (100 ml), kuivata vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä. Puhdistajäännös nopealla kromatografiolla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) otsikon yhdisteen saamiseksi.

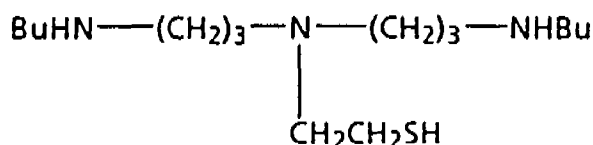
Esimerkki 10



5,9,13-triatsa-5-[(2-tiofosforyyli)etyyli]heptadekaanin valmistus

Kaavio VII, vaihtoehtoinen vaihe D: Käsittele esimerkissä 9 valmistettua 2-{butyyli-[3-(3-butyyliminopropyyliamino)propyyli]amino}etaanitiolia (10 mmol) trietyylifosfiitilla (20 mmol) ja bromitrikloorimetaanilla (10 mmol). Sekoita reaktiota kaksi tuntia takaisinvirtauksella. Konsentroi reaktio tyhjiössä ja puhdistadietyylifosforotioaattivälimuoto nopealla kromatografiolla (silikageeli, etyyliasetaatti). Puhdistettu dietyylifosforotioaatti liuotetaan sitten metyleenikloridiin (50 ml) ja sitä käsitellään ylimäärällä trimetyylisilylibromidia. Sekoita reaktiota 4 tuntia -20 °C:ssa. Konsentroi reaktio tyhjiössä. Liuota jäännös 2-propanoliin, lisää suolahappoa ja kerää otsikon yhdiste suodattamalla suolahapposuolana.

Esimerkki 11



5

2-[bis-(3-butyyliminopropyyli)amino]etaanitiolin valmistus

Kaavio VI, vaihe D: Liuota esimerkin 9 kaavion VI vaiheessa C valmistettu N-butyyliminopropyyli-3-[(2-butylikarbamoyylietyyli)-(tolueeni-4-sulfonyyli)amino]propionamidi (10 mmol) vedettömään tetrahydrofuraaniin (50 ml) ja jäähdytä liuos -78 °C:seen. Lisää ylimäärä vedetöntä ammoniakkaa, jonka jälkeen lisää ylimäärä natriumia. Sekoita reaktiota 4 tuntia ja sitten lämmitä huoneenlämpötilaan yli yön.

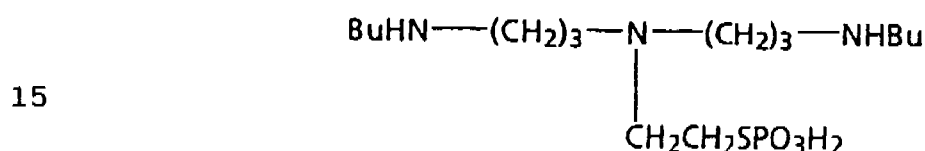
Lisää dietyylieetteriä (100 ml), jonka jälkeen lisää varovasti etanolia (30 ml). Kun on sekoitettu 30 minuuttia, lisää varovasti tipoittain vettä (5 ml) ja sitten konsentroi reaktio tyhjiössä. Uuta jäännös dietyylieetterillä (100 ml) ja kloroformilla (100 ml). Yhdistä orgaaniset uutokset, kuivaa vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) N-butyyliminopropyyli-3-(2-butylikarbamoyylietyyliminopropionamidin saamiseksi.

Kaavio VIII, vaihe A: Liuota kaavion VI vaiheessa D valmistettu N-butyyliminopropyyli-3-(2-butylikarbamoyylietyyliminopropionamidi (10 mmol) tetrahydrofuraaniin (50 ml) ja lisää tipoittain etyleenisulfidia (22 mmol). Kuumenna reaktiota takaisinvirtautuksella 4 tuntia. Jäähdytyksen jälkeen konsentroi reaktio tyhjiössä ja puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) N-butyyliminopropyyli-3-[(2-butylikarbamoyylietyyli)-(2-merkaptotetyyli)amino]propionamidin saamiseksi.

Kaavio VIII, vaihe B: Liuota kaavion VIII vaiheessa A valmistettu N-butyyliminopropyyli-3-[(2-butylikarbamoyylietyyli)-

(2-merkaptoetyyli)amino]propionamidi (10 mmol) 1,2-dime-
toksietaaniin (50 ml) ja käsittele litiumalumiinihydridil-
lää (20 mmol). Kuumenna reaktiota takaisinvirtautukseen 18
tunniksi. Jäähdytyksen jälkeen reaktiota muokataan lisää-
5 mällä peräkkäin vettä (0,8 ml), 10 % natriumhydroksidia
(1,2 ml) ja vettä (2,2 ml). Sitten laimenna metyleeniklo-
ridilla (200 ml), huuhto vedellä (100 ml), suolavedellä
(100 ml), kuivata vedettömän natriumsulfaatin yllä, suo-
data ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla
10 kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi)
otsikon yhdisteen saamiseksi.

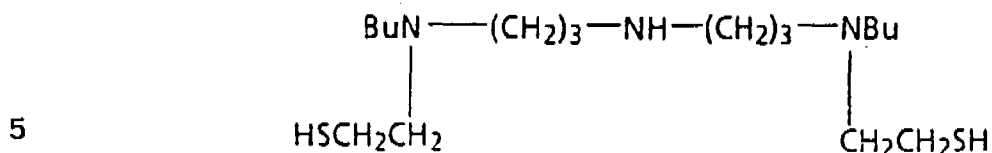
Esimerkki 12



5,9,13-triatsa-9-[(2-tiofosforyyli)etyyli]heptade- kaanin valmistus

20 Kaavio VIII, vaihtoehtoinen vaihe C: Käsittele esi-
merkissä 11 valmistettua 2-[bis-(3-butyyliminopropyyli)-
amino]etaanitiolia (10 mmol) trietyylifosfiitilla
(20 mmol) ja bromitrikloorimetaanilla (10 mmol). Sekoita
reaktiota kaksi tuntia takaisinvirtautuslämpötilassa. Kon-
25 sentroi reaktio tyhjiössä ja puhdista dietyylifosforotio-
aattivälimuoto nopealla kromatografialla (silikageeli,
etyyliasetatti). Puhdistettu dietyylifosforotioaatti liu-
otetaan sitten metyleenikloridiin (50 ml) ja sitä käsitel-
lään ylimäärällä trimetyylisilylibromidia. Sekoita reak-
30 tiota 4 tuntia -20 °C:ssa. Liuota jäännös 2-propanoliin,
lisää suolahappoa ja kerää otsikon yhdiste suodattamalla
suolahapposuolana.

Esimerkki 13



2-[butyyli-(3-{3-[butyyli(2-merkaptotyyli)amino]-propyyliamino}propyyli)amino]etaanitiolin valmistus

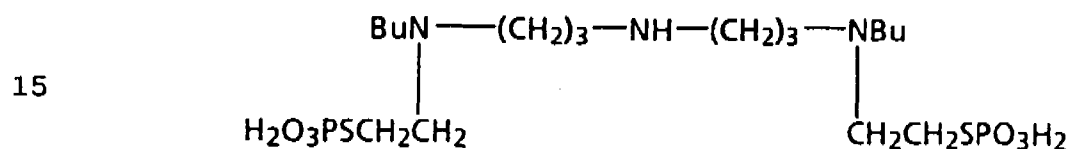
Kaavio IX, vaihe A: Liuota esimerkin 9 kaavion VI vaiheessa C valmistettu N-butylyli-3-[(2-butylylikarbamoyylietyyli)-(tolueeni-4-sulfonyyli)amino]propionamidi (10 mmol) tetrahydrofuraaniin (50 ml). Jäähdytä liuos 0 °C:seen ja lisää boraania (20 mmol, 1 M liuos tetrahydrofuraanissa). Kuumenna reaktiota takaisinvirtautuksessa 18 tuntia. Jäähdytyksen jälkeen laimenna reaktio metyleenikloridilla (200 ml), huuhto vedellä (100 ml), suolavedellä (100 ml), kuivata vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) N,N-bis-(3-butylyliaminopropyyli)-4-metyylibentseenisulfonamidin saamiseksi.

Kaavio IX, vaihe B: Liuota kaavion IX vaiheessa A valmistettu N,N-bis-(3-butylyliaminopropyyli)-4-metyylibentseenisulfonamidi (10 mmol) tetrahydrofuraaniin (50 ml) ja lisää tipoittain etyleenisulfidia (20 mmol). Kuumenna reaktiota takaisinvirtautuksella 4 tuntia. Jäähdytyksen jälkeen konsentroi reaktio tyhjiössä ja puhdista jäännös nopealla kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) N,N-bis-{3-[butyyli-(2-merkaptotyyli)amino]-propyyli}-4-metyylibentseenisulfonamidin saamiseksi.

Kaavio IX, vaihe C: Liuota kaavion IX vaiheessa B valmistettu N,N-bis{3-[butyyli-(2-merkaptotyyli)amino]-propyyli}-4-metyylibentseenisulfonamidi (10 mmol) vedettömään tetrahydrofuraaniin (50 ml) ja jäähdytä liuos -78 °C:seen. Lisää ylimäärä vedetöntä ammoniakkia, jonka

jälkeen lisää ylimäärä natriumia. Sekoita reaktiota 4 tuntia ja sitten lämmitä huoneenlämpötilaan yli yön. Lisää dietyylieetteriä (100 ml), jonka jälkeen lisää varovasti etanolia (30 ml). Kun on sekoitettu 30 minuuttia, lisää
 5 varovasti vettä tipoittein (5 ml) ja sitten konsentroi reaktio tyhjiössä. Uuta jäännös dietyylieetterillä (100 ml) ja kloroformilla (100 ml). Yhdistä orgaaniset uutokset, kuivata vedettömän natriumsulfaatin yllä, suodata ja konsentroi tyhjiössä. Puhdista jäännös nopealla
 10 kromatografialla (silikageeli, metanoli/metyleenikloridi) otsikon yhdisteen saamiseksi.

Esimerkki 14



5,9,13-triatsa-5,9-bis[(2-tiofosforyyli)etyyli]heptadekaanin valmistus

20 Kaavio IX, vaihtoehtoinen vaihe D: Käsittele esimerkissä 13 valmistettua 2-[butyyli-(3-{3-[butyyli(2-merkaptioetyyli)amino]propyyliamino}propyyli)amino]etaanitiolia (10 mmol) trietyylifosfiitilla (40 mmol) ja bromitrikloorimetaanilla (20 mmol). Sekoita reaktiota kaksi tuntia
 25 takaisinvirtautuksella. Konsentroi reaktio tyhjiössä ja puhdista bis(dietyylifosforotioaatti)välimuoto nopealla kromatografialla (silikageeli, etyyliasetaatti). Puhdistettu bis(dietyylifosforotioaatti) liuotetaan sitten metyleenikloridiin (50 ml) ja sitä käsitellään ylimäärällä
 30 trimetyylisilyylibromidia. Sekoita reaktiota 4 tuntia -20 °C:ssa. Liuota jäännös 2-propanoliin, lisää suolahappoa ja kerää otsikon yhdiste suodattamalla suolahapposuolana.

Esillä oleva keksintö esittää menetelmän solujen
 35 suojaamiseksi vahingollisilta soluvaikutuksilta, joita

aiheuttaa altistuminen ionisoivalle säteilylle tai altistuminen DNA:n kanssa reagoivalle aineelle.

Ionisoiva säteily on korkeaenergistä säteilyä, kuten röntgen- tai gammasäteilyä, joka interaktoi niin, että se tuottaa aineessa ionipareja. Altistuminen ionisoivalle säteilylle voi tapahtua altistumisena ympäristön säteilylle, kuten sellaiselle, joka johtuu ydinräjähdyksestä, radioaktiivisen materiaalin vuodosta, radioaktiivisen materiaalin läheisyydestä ja niiden kaltaisista. Tavallisemmin altistuminen ionisoivalle säteilylle voi tapahtua radio-
lääketieteellisten menetelmien johdosta, kuten eri tyyppisten syöpien säteilyterapiasta.

DNA:n kanssa reagoivat aineet ovat aineita, kuten alkyloivat aineet, ristisitoja-aineet ja DNA:han interkalatoituvat aineet, jotka interaktoivat kovalenttisesti tai ei-kovalenttisesti solun DNA:n kanssa aiheuttaen tiettyjä vahingollisia soluvaikutuksia. DNA:n kanssa reagoivat aineet sisältävät esimerkiksi kisplatiinin, syklofosfamidin, dietyylinitrosoamiinin, bentso(a)pyreenin, karboplatiinin, doksorubisiinin, mitomysiini C:n ja niiden kaltaiset aineet. Monet näistä DNA:n kanssa reagoivista aineista, kuten kisplatiini, syklofosfamidi, doksorubisiini ja mitomysiini C, ovat käyttökelpoisia syöpäterapiassa DNA:n kanssa reagoivina kemoterapeuttisina aineina.

Vahingolliset soluvaikutukset, joita aiheuttaa altistuminen ionisoivalle säteilylle tai DNA:n kanssa reagoivalle aineelle, sisältävät solun DNA:n vaurion, kuten DNA-juosteen katkeamisen, solun toiminnan sekaantumisen, kuten DNA:n toiminnan sekaantumisen, solun kuoleman, kasvaimen indusoitumisen, kuten terapian indusoima sekundaarisen kasvaimen induktio, ja niiden kaltaiset. Nämä vahingolliset soluvaikutukset voivat johtaa sekundaari kasvaimiin, luuytimen suppressioon, munuaisvaurioon, perifeerisen hermoston vaurioon, ruuansulatuskanavan vaurioon ja niiden kaltaisiin. Esimerkiksi syöpäsäteilyterapiassa al-

tistumisen säteilylle on tarkoitettu aiheuttavan syöpäsolujen kuolema. Valitettavasti suuren osan niistä haitallisista tapahtumista, jotka liittyvät terapiaan, aiheuttavat nämä säteilyn vahingolliset soluvaikutukset normaaleihin soluihin verrattuna syöpäsoluihin.

Esillä oleva keksintö esittää menetelmän, jolla solut suojataan vahingollisilta soluvaikutuksilta estämällä tai poistamalla nämä vaikutukset tai alentamalla niiden vakavuutta. Esillä olevan keksinnön mukaisesti suojattavat solut saatetaan kosketukseen kaavan (I) tai (II) mukaisen yhdisteen kanssa ennen solun altistamista tai altistamisen aikana ionisoivalle säteilylle tai DNA:n kanssa reagoiville aineille. Solut voidaan saattaa kosketukseen suoraan, kuten lisäämällä keksinnön yhdisteen liuosta solulle tai antamalla keksinnön yhdistettä nisäkkäälle. Näin ollen esillä olevan keksinnön yhdisteet antavat suojaavan vaikutuksen solulle, joka poistaa tai alentaa vahingollisten soluvaikutusten vakavuutta, jotka altistuminen muutoin aiheuttaisi.

Erikoisemmin, esillä oleva keksintö esittää menetelmän nisäkkään ei-syöpäsolujen, tai normaalien solujen, suojaamiseksi vahingollisilta soluvaikutuksilta, jotka nisäkkään altistuminen ionisoivalle säteilylle tai DNA:n kanssa reagoivalle aineelle aiheuttaa. Tässä käytettynä termi "nisäkkäs" viittaa tasalämpöisiin eläimiin, kuten hiiriin, rottiin, koiriin ja ihmisiin. Esillä olevan keksinnön mukaiset yhdisteet muodostavat selektiivisen suojan normaaleille soluille, eikä syöpäsoluille, syövän säteilyterapian aikana ja DNA:n kanssa reagoivalla kemoterapeuttisella aineella tapahtuvan kemoterapian aikana. Esillä olevan keksinnön mukaisesti keksinnön mukainen yhdiste annetaan nisäkkäälle ennen altistumista tai altistumisen aikana ionisoivalle säteilylle tai DNA:n kanssa reagoivalle aineelle. Esillä oleva keksintö esittää menetelmän, jolla vahingolliset soluvaikutukset ei-syöpäsoluihin, jot-

ka nisäkkään altistuminen ionisoivalle säteilylle tai DNA:n kanssa reagoivalle aineelle aiheuttaa, poistetaan tai niiden vakavuutta tai laajuutta alennetaan.

5 Lisäksi esillä oleva keksintö esittää menetelmän säteilyterapian tai DNA:n kanssa reagoivalla kemoterapeuttisella aineella tapahtuvan kemoterapian tarpeessa olevan potilaan hoitamiseksi. Tässä käytettynä termi "potilas" viittaa nisäkkääseen, sisältäen hiiret, rotat, koirat ja ihmiset, joka kärsii kasvaintautitilasta tai syövästä
10 niin, että se on säteilyterapian tai DNA:n kanssa reagoivalla kemoteraputtisella aineella tapahtuvan kemoterapian tarpeessa. Termi "kasvaintautitila" tässä käytettynä viittaa epänormaaliin tilaan tai olosuhteeseen, jolle on ominaista nopea solukasvun lisääntyminen tai kasvain.

15 Kasvaintautitilat, joihin hoito kaavan (I) tai (II) mukaisella yhdisteellä on erityisen käyttökelpoinen yhdessä säteilyterapian tai DNA:n kanssa reagoivalla kemoterapeuttisella aineella tapahtuvan kemoterapian kanssa, sisältävät: leukemiat, kuten akuutti lymfoblastinen, akuutti myelogeeninen, krooninen lymfosyyttinen, akuutti myeloblastinen ja krooninen myelosyyttinen leukemia rajoittumatta näihin; karsinoomat, kuten kohdunkaulan, ruokatorven, mahan, haiman, rinnan, munasarjojen, ohutsuolen, paksusuolen ja keuhkojen karsinoomat rajoittumatta näihin;
20 sarkoomat, kuten osteosarkooma, lipooma, liposarkooma, hemangiooma ja hemangiosarkooma rajoittumatta näihin; melanoomat sisältäen amelanoottiset ja melanoottiset melanoomat; ja sekatyypiset kasvaimet, kuten karsinosarkooma, lymfoidikudostyyppinen, follikulaarinen retikkelisolusarkooma, Hodgkinin tauti ja non-Hodgkinin lymfooma rajoittumatta näihin. Kasvaintautitilat, joihin hoito kaavan (I) tai
25 (II) mukaisella yhdisteellä yhdessä säteilyterapian tai kemoterapian kanssa on erityisen suositeltava sisältävät Hodgkinin taudin, haimakarsinooman, edenneen karsinooman,

rintasyövät, munasarjasyövän, paksusuolen syövät ja niiden kaltaiset.

Lisäksi hoito esillä olevan keksinnön mukaisella yhdisteellä antaa selektiivisen suojan vahingollisia soluvaikutuksia vastaan, kuten terapian indusoimaa sekundaarikasvaimen induktiota vastaan, jonka säteilyterapia tai DNA:n kanssa reagoivalla kemoterapeuttisella aineella tapahtuva kemoterapia aiheuttaa. Hoito esillä olevan keksinnön mukaisella yhdisteellä on näin ollen käyttökelpoinen poistettaessa tai alennettaessa sekundaarikasvaimen induktion riskiä, kuten terapian indusoiman akuutin myelogeenisen leukemian ja non-Hodgkinin lymfooman riskiä, jotka Hodgkinin taudin säteilyterapia tai kemoterapia saavat aikaan.

Esillä olevan keksinnön mukaisesti kaavan (I) tai (II) mukaisen yhdisteen anto potilaalle ennen säteilyterapiata tai DNA:n kanssa reagoivalla kemoterapeuttisella aineella tapahtuvaa kemoterapiaa tai niiden aikana antaa selektiivisen suojan potilaan ei-syöpäsoluille, mutta ei syöpäsoluille. Vahingolliset soluvaikutukset ei-syöpäsoluihin, jotka potilaan hoito ionisoivalla säteilyllä tai DNA:n kanssa reagoivalla kemoterapeuttisella aineella aiheuttaa, poistetaan tai niiden vakavuutta tai laajuutta alennetaan näin ollen.

Kaavan (I) tai (II) mukaisen yhdisteen suojaava määrä viittaa siihen määrään, joka on tehokas annettaessa yksittäisenä tai useana annoksena nisäkkäälle tai potilaalle poistamaan tai alentamaan niiden vahingollisten soluvaikutusten vakavuutta tai laajuutta, jotka altistumisen ionisoivalla säteilylle tai DNA:n kanssa reagoivalle aineelle tai hoito niillä aiheuttaa. Kaavan (I) tai (II) mukaisen yhdisteen suojaava annos viittaa myös siihen määrään, joka on tehokas annettaessa yksittäisenä tai useana annoksena solulle poistamaan tai alentamaan niiden vahingollisten soluvaikutusten vakavuutta tai laajuutta, jotka

altistuminen ionisoivalle säteilylle tai DNA:n kanssa reagoivalle aineelle aiheuttaa.

Alan asiantuntijana hoitava lääkäri voi helposti määrittää suojaavan annoksen nisäkkäälle tai potilaalle antoa varten käyttämällä tunnettuja menetelmiä ja havainnoimalla tuloksia, jotka on saatu samanlaisissa olosuhteissa. Suojaavaa annosta määritettäessä hoitavan lääkärin tulee ottaa huomioon useita tekijöitä sisältäen, mutta ei rajoittuen: nisäkäslajin, sen koon, iän ja yleisen terveydentilan, spesifisen hoidettavan taudin, taudin tason tai vaikeuden tai vakavuuden, yksittäisen potilaan vasteen, tietyn annetun yhdisteen, antotavan, annetun valmisteen biologiset saatavuusominaisuudet, valitun antoaikataulun, samanaikaisten lääkkeiden käytön ja muut asiaan kuuluvat olosuhteet.

Kaavan (I) tai (II) mukaiset yhdisteet voidaan antaa yksittäisinä annoksina tai useampina annoksina ja ne annetaan tavallisesti ennen altistumista ionisoivalle säteilylle tai DNA:n kanssa reagoiville aineille ja/tai altistumisen aikana. Yleisesti, kun esillä olevan keksinnön mukainen yhdiste annetaan yhdessä säteilyterapian aikana, esillä olevan keksinnön mukainen yhdiste annetaan yksittäisenä tai useana annoksena ennen säteilyterapiata seuraten aikataulua, joka on laskettu niin, että se antaa maksimaalisen selektiivisen suojaavan vaikutuksen säteilyterapian aikana. Yleisesti, kun esillä olevan keksinnön mukainen yhdiste annetaan yhdessä DNA:n kanssa reagoivan kemoterapeuttisen aineen kanssa, esillä olevan keksinnön mukainen yhdiste annetaan yksittäisenä tai useana annoksena ennen kemoterapiaa tai sen aikana seuraten aikataulua, joka on laskettu niin, että se antaa maksimaalisen suojaavan vaikutuksen kemoterapian aikana.

Yksityiskohdat esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden antoaikatauluista, jotka ovat tarpeen maksimaalisen selektiivisen suojausvaikutuksen antamiseksi sil-

loin, kun altistutaan ionisoivalle säteilylle tai DNA:n kanssa reagoivalle aineelle, voi hoitava lääkäri helposti määrittää alan asiantuntijana käyttäen tunnettuja menetelmiä ja havainnoimalla tuloksia, jotka on saatu samanlaisissa olosuhteissa.

Kaavan (I) tai (II) mukaisen yhdisteen suojaava määrä annettaessa nisäkkäälle tai potilaalle vaihtelee määrästä noin 5 milligrammaa per kilogramma kehon painoa per vuorokausi (mg/kg/vrk) määrään noin 1 000 mg/kg/vrk. Suositeltavien määrien odotetaan vaihtelevan välillä noin 50 - noin 500 mg/kg/vrk.

Kaavan (I) tai (II) mukaisen yhdisteen suojaava määrä solujen kanssa kosketuksessa ollessaan vaihtelee konsentraatiovälillä, joka on noin 100 mikromolaarinen - noin 5 millimolaarinen.

Kaavan (I) tai (II) mukainen yhdiste voidaan antaa nisäkkäälle tai potilaalle missä tahansa muodossa, joka tekee yhdisteen biologisesti saatavaksi tehokkaina määrinä, sisältäen suun kautta annon ja parenteraaliset reitit. Kaavan (I) ja (II) mukaiset yhdisteet voidaan antaa esimerkiksi suun kautta, ihonalaisesti, lihaksensisäisesti, suonensisäisesti, ihon läpi, nenän kautta, peräsuolen kautta ja niiden kaltaisilla reiteillä. Suun kautta anto on yleisesti suositeltava. Formulaatiovalmistusalan asiantuntija voi helposti valita sopivan antomuodon ja -tavan riippuen valitun yhdisteen tietyistä ominaisuuksista, hoidettavasta tautitilasta, taudin vaiheesta ja muista asiaan kuuluvista olosuhteista.

Yhdisteet voidaan antaa yksinään tai farmaseuttisen koostumuksen muodossa yhdessä farmaseuttisesti hyväksyttävien kantajien tai täyteaineiden kanssa, joiden suhteellisen määrän ja luonteen määrittävät valitun yhdisteen liukoisuus ja kemialliset ominaisuudet, valittu antoreitti ja farmaseuttinen standardikäytäntö. Keksinnön mukaiset yhdisteet, vaikka ovat tehokkaita itsessään, voidaan for-

muloida ja antaa niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien happolisäyssi-suolojen muodossa niiden stabiilisuuden, kiteyttyshelpouden, kohonneen liukoisuuden ja niiden kaltaisten seikkojen vuoksi.

5 Toisen suoritustavan mukaisesti esillä oleva keksintö esittää koostumukset, jotka sisältävät kaavan (I) tai (II) mukaista yhdistettä seoksena tai muuten yhdessä yhden tai useamman inertin kantajan kanssa. Nämä koostumukset ovat käyttökelpoisia esimerkiksi testistandardeina, 10 helppoina keinoina valmistaa suuria kuljetuseriä tai farmaseuttisina koostumuksina. Kaavan (I) tai (II) mukaisen yhdisteen testattava määrä on määrä, joka on helposti mitattavissa standardeilla testimenetelmillä ja -tekniikoilla, jotka alan asiantuntija hyvin tuntee ja ymmärtää. Kaavan (I) tai (II) mukaisen yhdisteen testattavat määrät 15 vaihtelevat yleisesti välillä noin 0,001 % - noin 75 % koostumuksen painosta. Inertit kantajat voivat olla mitä tahansa materiaalia, joka ei hajota kaavan (I) tai (II) mukaista yhdistettä tai muuten kovalenttisesti reagoi sen kanssa. Esimerkit sopivista inerteistä kantajista ovat 20 vesi, vesipohjaiset puskurit, kuten ne, jotka ovat yleisesti käyttökelpoisia korkean suorituskyvyn nestekromatografia-analyysissä (HPLC), orgaaniset liuottimet, kuten asetonitriili, etyyliasetatti, heksaani ja niiden kaltaiset, ja farmaseuttisesti hyväksyttävät kantajat tai täyteaineet. 25

Erikoisemmin esillä oleva keksintö esittää farmaseuttiset koostumukset, jotka sisältävät terapeuttisesti tehokkaan määrän kaavan (I) tai (II) mukaista yhdistettä 30 seoksena tai muuten yhdessä yhden tai useamman farmaseuttisesti hyväksyttävän kantajan tai täyteaineen kanssa.

Farmaseuttiset koostumukset valmistetaan farmaseuttisella alalla hyvin tunnetulla tavalla. Kantaja tai täyteaine voi olla kiinteä aine, puolikiinteä aine tai nestemäinen materiaali, joka voi toimia vehikkelinä aktiivi- 35

selle ainekselle. Sopivat kantajat tai täyteaineet ovat alalla hyvin tunnettuja. Farmaseuttinen koostumus voidaan muokata suun kautta tai parenteraalista käyttöä varten ja se voidaan antaa potilaalle tablettien, kapselien, lääkepuikkojen, liuoksien, suspensioiden tai niiden kaltaisten muodossa.

Esillä olevan keksinnön mukaiset yhdisteet voidaan antaa suun kautta, esimerkiksi inertissä laimentimessa tai syötävän kantajan kanssa. Ne voidaan sulkea gelatiinikapseleihin tai puristaa tableteiksi. Suun kautta tapahtuvaa terapeutista antoa varten yhdisteet voidaan sisällyttää täyteaineiden kanssa ja käyttää tablettien, trokeiden, kapselien, eliksiirien, suspensioiden, siirappien, oblaattien, purukumien ja niiden kaltaisten muodossa. Näiden valmisteiden tulisi sisältää ainakin 4 % keksinnön mukaisista yhdistettävä, aktiivista ainesosaa, mutta se voi vaihdella riippuen tietystä muodosta ja voi helposti olla välillä 4 - noin 70 % yksikön painosta. Koostumuksissa läsnä olevan yhdisteen määrä on sellainen, että saadaan aikaan sopiva annos. Esillä olevan keksinnön mukaiset suositeltavat koostumukset ja valmisteet valmistetaan niin, että suun kautta annettava annosyksikkömuoto sisältää 5,0 - 300 milligrammaa keksinnön mukaista yhdistettävää.

Tabletit, pillerit, kapselit, trokeet ja niiden kaltaiset voivat myös sisältää yhden tai useamman seuraavista adjuvanteista: sitoja-aineita, kuten mikrokiteinen selluloosa, traganttikumi tai gelatiini, täyteaineita, kuten tärkkelys tai laktoosi, hajottavia aineita, kuten algiinihappo, Primogel™, maissitärkkelys ja niiden kaltaiset, voiteluaineita, kuten magnesiumstearaatti tai Sterotex™, liukasteaineita, kuten kolloidinen silikonidioksidi ja makeutusaineita, kuten sakkaroosia tai sakariinia voidaan lisätä tai makuaineita, kuten piparminttu, metyyliisalisylaatti tai appelsiinimakuaine. Kun annosyksikkömuoto on kapseli, se voi sisältää yllä olevien mate-

riaaliteyppien lisäksi nestemäistä kantajaa, kuten polyetyleeniglykolia tai rasvahappoöljyä. Muut annosyksikkömuodot voivat sisältää muita eri materiaaleja, jotka modifioivat annosyksikön fyysistä muotoa, esimerkiksi päällysteaineina. Näin ollen tabletit tai pillerit voidaan päällystää sokerilla, sellakilla tai muilla suolipäällysteaineilla. Siirappi voi sisältää esillä olevien aineiden lisäksi sakkaroosia makeutusaineena ja tiettyjä säilöntäaineita, värejä ja väriaineita ja makuaineita. Materiaalien, joita käytetään valmistettaessa näitä eri koostumuksia, tulisi olla farmaseuttisesti puhtaita ja myrkyttömiä käytettyinä määrinä.

Parenteraalista terapeutista antoa varten esillä olevan keksinnön mukaiset yhdisteet voidaan sisällyttää liuokseen tai suspensioon. Näiden valmisteiden tulisi sisältää ainakin 0,1 % keksinnön yhdistettä, mutta määrä voi vaihdella välillä 0,1 ja noin 50 % valmisteen painosta. Sellaisissa koostumuksissa läsnäolevan keksinnön mukaisen yhdisteen määrä on sellainen, että saadaan sopiva annos. Esillä olevan keksinnön mukaiset suositeltavat koostumukset ja valmisteet valmistetaan niin, että parenteraalinen annosyksikkö sisältää 5,0 - 100 milligrammaa keksinnön yhdistettä.

Liuokset tai suspensiot voivat myös sisältää yhtä tai useampaa seuraavista adjuvanteista: steriilejä laimentimia, kuten vettä injeksiota varten, suolaliuosta, rasvaöljyä, polyetyleeniglykoleja, glyseriiniä, propyleeniglykolia tai muita synteettisiä liuottimia, bakteerien vastaisia aineita, kuten bentsyylialkoholia tai metyyliipara-beenia, antioksidanteja, kuten askorbiinihappoa tai natriumbisulfiittia, kelatoivia aineita, kuten etyleenidiamiinitetraetikkahappoa, puskureita, kuten asetaatteja, sitraatteja tai fosfaatteja, ja aineita toonisuuden säätelämiseksi, kuten natriumkloridia tai dekstroosia. Parenteraalinen valmiste voidaan sulkea ampulleihin, kertakäyt-

töisiin ruiskuihin tai moniannosputkiin, jotka on tehty lasista tai muovista.

Kuten minkä tahansa sukua olevien yhdisteiden ryhmän kanssa, jotka sisältävät tietyn geneerisen käytön, 5 tietyt ryhmät ja konfiguraatiot ovat suositeltavia kaavan (I) tai (II) mukaisiksi yhdisteiksi niiden loppukäyttösovellukseen.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa R on etyyli, propyyli tai butyyli, ovat yleisesti suositeltavia. Kaavan 10 (I) mukaiset yhdisteet, joissa m on 2 tai 3, ovat yleisesti suositeltavia. Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa n on 7 tai 8, ovat yleisesti suositeltavia.

Kaavan (II) mukaiset yhdisteet, joissa R on etyyli, propyyli tai butyyli, ovat yleisesti suositeltavia. Kaavan 15 (II) mukaiset yhdisteet, joissa m on 3 tai 4, ovat yleisesti suositeltavia. Kaavan (II) mukaiset yhdisteet, joissa n on 3, ovat yleisesti suositeltavia.

Esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden käytökelpoisuus voidaan osoittaa säteilyltä suojaavina aineina sekä in vitro että in vivo. 20

Esimerkiksi viljeltyjen solujen kyky muodostaa klooneja (pesäkkeitä) voidaan arvioida röntgensäteilyannoksen tai kemiallisen annoksen altistuksen funktiona. Soluja joko ei käsitellä lääkkeellä tai niitä käsitellään 25 testiaineella 30 minuuttia ennen altistusta. Pesäkemuodostuskyvyn retentiotaso altistuksen jälkeen verrattuna käsittelemättömiin soluihin on suoraan verrannollinen lääkkeen suojaavaan vaikutukseen. Tämän tyyppinen tyypillinen koe voidaan suorittaa oleellisesti, kuten ovat kuvanneet 30 Snyder ja Lachmann [Radiation Res. 120, 121 (1989)].

Vaihtoehtoisesti DNA-juosteen katkojen muodostumisen altistettaessa röntgensäteilyannokselle tai kemialliselle annokselle voidaan arvioida. Soluja joko ei käsitellä lääkkeellä tai niitä käsitellään testiaineella noin 35 35 minuuttia ennen altistusta. DNA-juosteiden katkojen määrä

altistuksen jälkeen verrattuna käsittelemättömien solujen vastaavaan on käänteisesti verrannollinen lääkkeen suojaavaan vaikutukseen. Tämän tyyppinen tyypillinen koe voidaan suorittaa oleellisesti, kuten on kuvannut Snyder [Int. J. Radiat. Biol. 55, 773 (1989)].

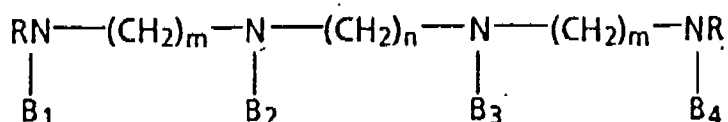
Lisäksi hiirten, jotka on altistettu kokovartalosäteilylle tai DNA:n kanssa reaktiiviselle aineelle, eloonjäänti voidaan arvioida. Eläimet, joko testiaineella esikäsitellyt tai käsittelemättömät (verrokkiryhmä), altistetaan kokovartalosäteilytykselle (1 500 rad). Käsittelemättömien verrokkieläinten odotetaan elävän noin 12 -15 vuorokautta. Käsiteltyjen eläinten eloonjääntitaso verrattuna käsittelemättömiin verrokkeihin on suoraan verrannollinen lääkekäsittelyn suojaavaan vaikutukseen. Tämän tyyppinen tyypillinen koe voidaan suorittaa oleellisesti, kuten ovat kuvanneet Carroll et al. [J. Med. Chem. 33, 2501 (1990)].

DNA-juosteiden katkojen muodostuminen lymfosyyteissä, jotka on otettu käsitellyistä eläimistä, jotka on altistettu kokovartalosäteilytykselle tai DNA:n kanssa reagoivalle aineelle, voidaan arvioida verrattuna käsittelemättömiin verrokkeihin. Vaihtoehtoisesti, luuydinsolujen, jotka on otettu käsitellyistä eläimistä, jotka on altistettu kokovartalosäteilytykselle tai DNA:n kanssa reagoivalle aineelle, elinkyky ja klonogeenisyys voidaan arvioida verrattuna käsittelemättömiin verrokkeihin, kuten ovat kuvanneet Pike ja Robinson [J. Cell Physiol. 76, 77 (1970)].

Patenttivaatimukset

1. Yhdiste, t u n n e t t u siitä, että se on kaa-
van

5



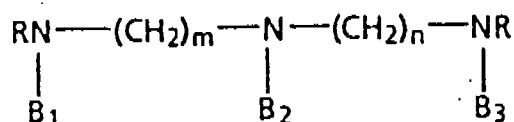
10 jossa

m on kokonaisluku 2 - 4,
n on kokonaisluku 4 - 10,
R on C₂-C₆-alkyyli ja

15 B₁, B₂, B₃ ja B₄ ovat kukin toisistaan riippumatto-
masti H, -CH₂CH₂SH tai -CH₂CH₂SPO₃H₂, mukainen sillä edelly-
tyksellä, että ainakin yksi B₁:stä, B₂:sta, B₃:sta tai
B₄:stä on muu kuin H.

2. Yhdiste, t u n n e t t u siitä, että se on kaa-
van

20



jossa

25

m on kokonaisluku 2 - 4,
n on kokonaisluku 3 - 10,
R on C₂-C₆-alkyyli ja

30 B₁, B₂ ja B₃ ovat kukin toisistaan riippumattomasti
H, -CH₂CH₂SH tai -CH₂CH₂SPO₃H₂, mukainen sillä edellytyksel-
lä, että ainakin yksi B₁:stä, B₂:sta tai B₃:sta on muu kuin
H.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, t u n -
n e t t u siitä, että m on 2.

35 4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, t u n -
n e t t u siitä, että m on 3.

5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että n on 7.

6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että n on 8.

5 7. Patenttivaatimuksen 3 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että n on 7.

8. Patenttivaatimuksen 4 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että n on 7.

9. Patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että m on 3.

10. Patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että m on 4.

11. Patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että n on 3.

15 12. Patenttivaatimuksen 11 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että m on 3.

13. Patenttivaatimuksen 11 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että m on 4.

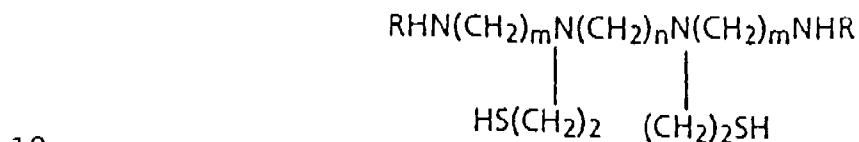
14. Menetelmä nisäkässolujen suojaamiseksi vahingollisilta soluvaikutuksilta, jotka aiheutuvat altistumisesta ionisoivalle säteilylle, tunnettu siitä, että se sisältää vaiheen, jossa mainitut solut saatetaan kosketukseen patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukaisen yhdisteen suojaavan määrän kanssa.

25 15. Menetelmä nisäkässolujen suojaamiseksi vahingollisilta soluvaikutuksilta, jotka aiheutuvat altistumisesta DNA:n kanssa reagoivalle aineelle, tunnettu siitä, että se sisältää vaiheen, jossa mainitut solut saatetaan kosketukseen patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukaisen yhdisteen suojaavan määrän kanssa.

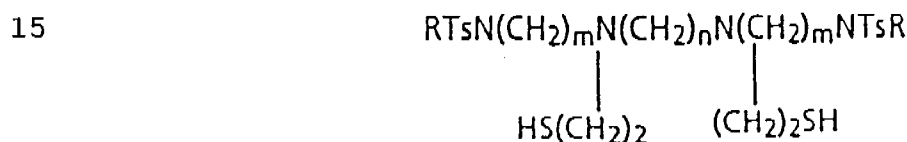
30 16. Joko patenttivaatimuksen 1 tai patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että sitä käytetään suojaamaan nisäkässoluja vahingollisilta soluvaikutuksilta, jotka johtuvat altistumisesta ionisoivalle säteilylle.

17. Joko patenttivaatimuksen 1 tai patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että sitä käytetään suojaamaan nisäkässoluja vahingollisilta soluvaikutuksilta, jotka johtuvat altistumisesta DNA:n kanssa reagoivalle aineelle.

18. Menetelmä kaavan

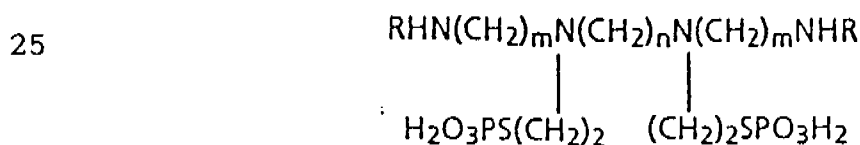


jossa m on kokonaisluku 2 - 4, n on kokonaisluku 4 - 10 ja R on C₂-C₆-alkyyli, mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, tunnettu siitä, että se sisältää vaiheen, jossa kaavan

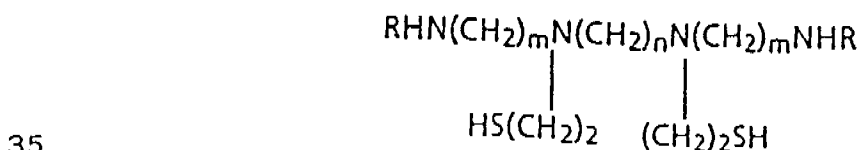


jossa m, n ja R ovat, kuten yllä on määritelty, mukaista yhdistettä käsitellään pienen ylimäärän kanssa litiumalumiinihydridiä 1,2-dimetoksietaanissa takaisinvirtautuksessa noin 18 tuntia.

19. Menetelmä kaavan

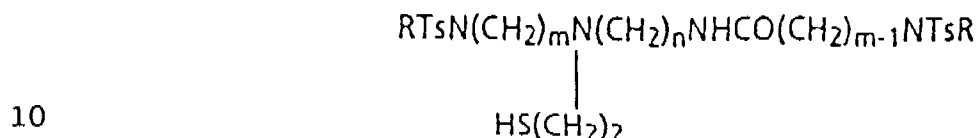


jossa m on kokonaisluku 2 - 4, n on kokonaisluku 4 - 10 ja R on C₂-C₆-alkyyli, mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, tunnettu siitä, että se sisältää vaiheet, joissa kaavan

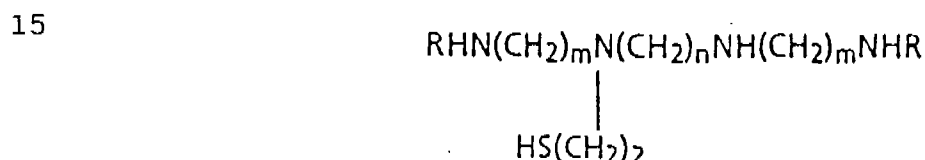


jossa m, n ja R ovat, kuten yllä on määritelty, mukaista yhdistettä käsitellään 4 ekvivalentin kanssa trietyylifosfiittia ja 2 ekvivalentin kanssa bromitrikloorimetaania lämpötilassa, joka on huoneenlämpötilasta takaisinvirtautuslämpötilaan, 1 - 3 tuntia, jonka jälkeen käsitellään ylimäärän kanssa trimetyylisilylibromidia.

20. Menetelmä kaavan

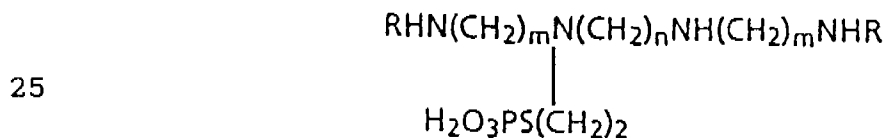


jossa m on kokonaisluku 2 - 4, n on kokonaisluku 4 - 10 ja R on C₂-C₆-alkyyli, mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, tunnettu siitä, että se sisältää vaiheen, jossa kaavan

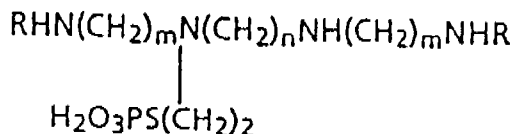


jossa m, n ja R ovat, kuten yllä on määritelty, mukaista yhdistettä käsitellään 4 ekvivalentin kanssa sopivaa pelkistintä.

21. Menetelmä kaavan

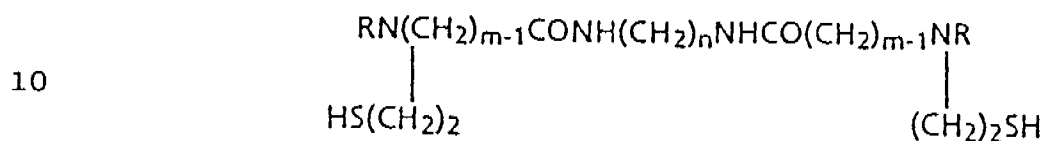


jossa m on kokonaisluku 2 - 4, n on kokonaisluku 4 - 10 ja R on C₂-C₆-alkyyli, mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, tunnettu siitä, että se sisältää vaiheet, joissa kaavan

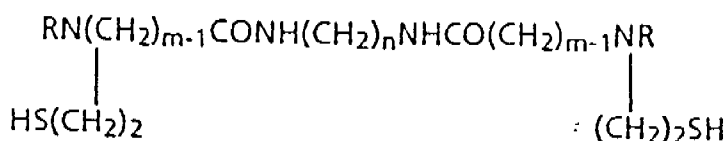


jossa m, n ja R ovat, kuten yllä on määriteltä, mukaista yhdistettä käsitellään 2 ekvivalentin kanssa trietyylifosfiittia, yhden ekvivalentin kanssa bromitrikloorimetaania lämpötilassa, joka on huoneenlämpötilasta takaisinvirtauslämpötilaan, 1 - 3 tuntia, jonka jälkeen käsitellään ylimäärän kanssa trimetyylisilylibromidia.

22. Menetelmä kaavan

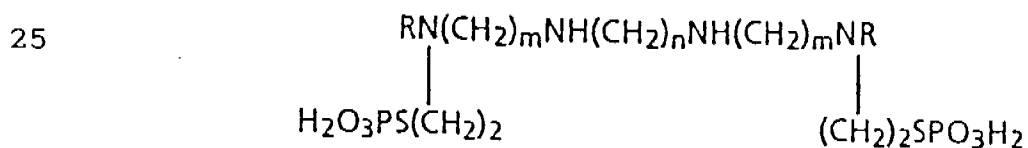


jossa m on kokonaisluku 2 - 4, n on kokonaisluku 4 - 10 ja R on C₂-C₆-alkyyli, mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, tunnettu siitä, että se sisältää vaiheen, jossa

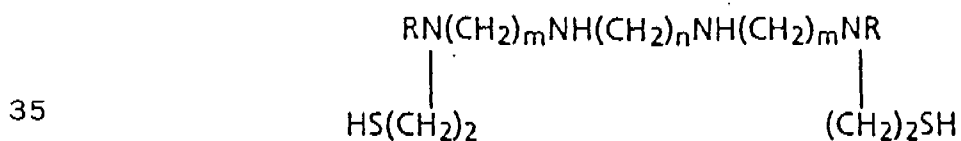


jossa m, n ja R ovat, kuten yllä on määriteltä, mukaista yhdistettä käsitellään 2 ekvivalentin kanssa sopivaa pelkistintä.

23. Menetelmä kaavan

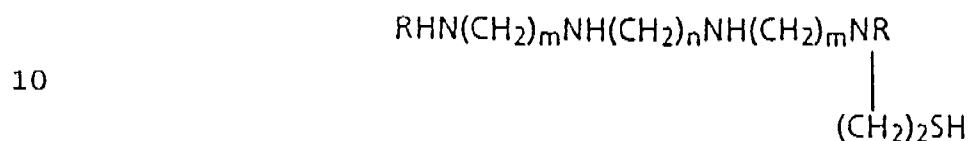


jossa m on kokonaisluku 2 - 4, n on kokonaisluku 4 - 10 ja R on C₂-C₆-alkyyli, mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, tunnettu siitä, että se sisältää vaiheet, joissa

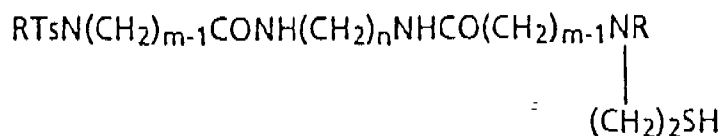


jossa m, n ja R ovat, kuten yllä on määritelty, mukaista yhdistettä käsitellään 4 ekvivalentin kanssa trietyylifosfiittia ja 2 ekvivalentin kanssa bromitrikloorimetaania lämpötilassa, joka on huoneenlämpötilasta takaisinvirtautuslämpötilaan, 1 - 3 tuntia, jonka jälkeen käsitellään ylimäärän kanssa trimetyylisilylibromidia.

24. Menetelmä kaavan

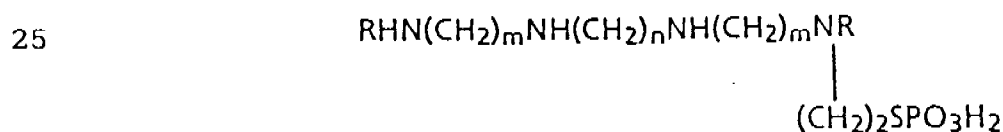


jossa m on kokonaisluku 2 - 4, n on kokonaisluku 4 - 10 ja R on C₂-C₆-alkyyli, mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että se sisältää vaiheen, jossa kaavan

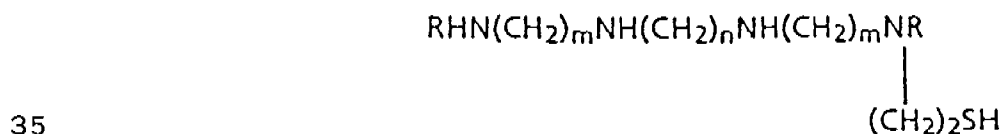


jossa m, n ja R ovat, kuten yllä on määritelty, mukaista yhdistettä käsitellään 4 ekvivalentin kanssa sopivaa pelkistintä.

25. Menetelmä kaavan



jossa m on kokonaisluku 2 - 4, n on kokonaisluku 4 - 10 ja R on C₂-C₆-alkyyli, mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että se sisältää vaiheet, joissa kaavan

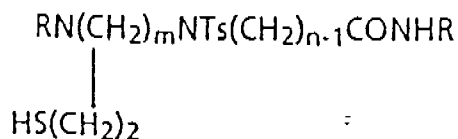


jossa m, n ja R ovat, kuten yllä on määritelty, mukaista yhdistettä käsitellään 2 ekvivalentin kanssa trietyylifosfiittia ja yhden ekvivalentin kanssa bromitrikloorimetään lämpötilassa, joka on huoneenlämpötilasta takaisinvir-
 5 tautuslämpötilaan, 1 - 3 tuntia, jonka jälkeen käsitellään ylimäärän kanssa trimetyylisilylibromidia.

26. Menetelmä kaavan

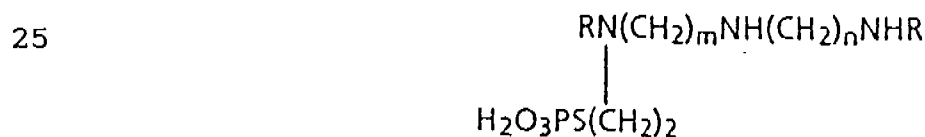


jossa m on kokonaisluku 2 - 4, n on kokonaisluku 3 - 10 ja R on C₂-C₆-alkyyli, mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että se sisältää vaiheen, jossa
 15 kaavan

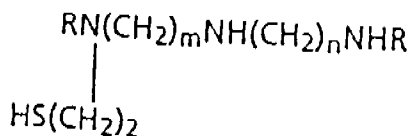


jossa m, n ja R ovat, kuten yllä on määritelty, mukaista yhdistettä käsitellään 4 ekvivalentin kanssa sopivaa pel-
 20 kistintä.

27. Menetelmä kaavan



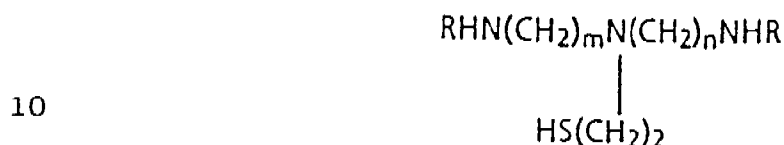
jossa m on kokonaisluku 2 - 4, n on kokonaisluku 4 - 10 ja R on C₂-C₆-alkyyli, mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että se sisältää vaiheet, joissa
 30 kaavan



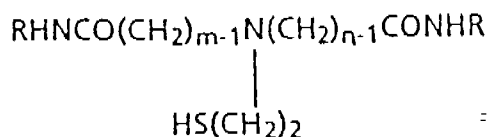
35

jossa m, n ja R ovat, kuten yllä on määritelty, mukaista yhdistettä käsitellään 2 ekvivalentin kanssa trietyylifosfiittia ja yhden ekvivalentin kanssa bromitrikloorimetania lämpötilassa, joka on huoneenlämpötilasta takaisinvir-
 5 tautuslämpötilaan, 1 - 3 tuntia, jonka jälkeen käsitellään ylimäärän kanssa trimetyylisilylibromidia.

28. Menetelmä kaavan

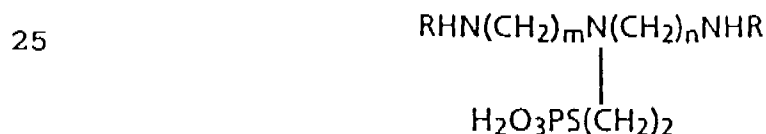


jossa m on kokonaisluku 2 - 4, n on kokonaisluku 3 - 10 ja R on C₂-C₆-alkyyli, mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että se sisältää vaiheen, jossa
 15 kaavan

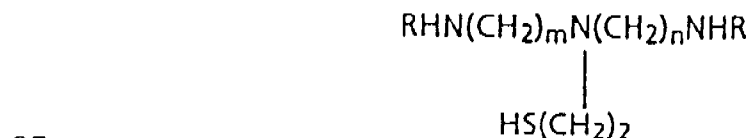


jossa m, n ja R ovat, kuten yllä on määritelty, mukaista yhdistettä käsitellään 4 ekvivalentin kanssa sopivaa pelkistintä.

29. Menetelmä kaavan

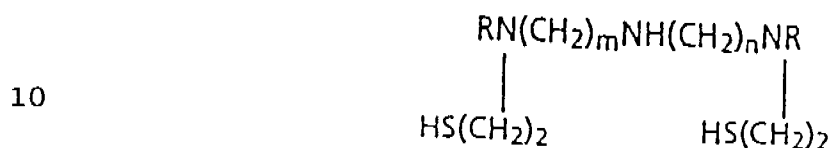


jossa m on kokonaisluku 2 - 4, n on kokonaisluku 4 - 10 ja R on C₂-C₆-alkyyli, mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että se sisältää vaiheet, joissa
 30 kaavan

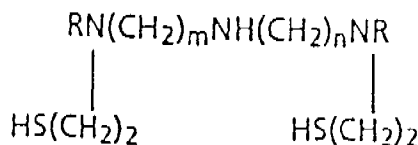


jossa m, n ja R ovat, kuten yllä on määritelty, mukaista yhdistettä käsitellään 2 ekvivalentin kanssa trietyylifosfiittia ja yhden ekvivalentin kanssa bromitrikloorimetaania lämpötilassa, joka on huoneenlämpötilasta takaisinvir-
 5 tautuslämpötilaan, 1 - 3 tuntia, jonka jälkeen käsitellään ylimäärän kanssa trimetyylisilylibromidia.

30. Menetelmä kaavan

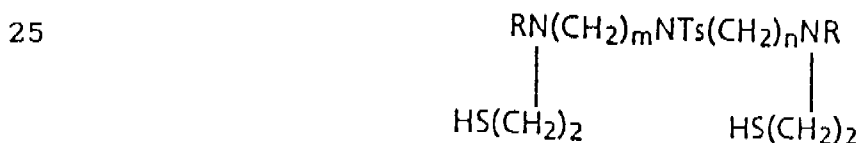


jossa m on kokonaisluku 2 - 4, n on kokonaisluku 3 - 10 ja R on C₂-C₆-alkyyli, mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että se sisältää vaiheen, jossa
 15 kaavan

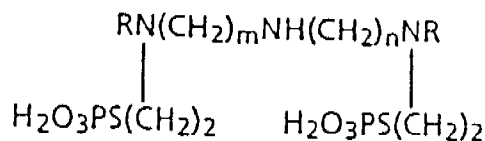


20 jossa m, n ja R ovat, kuten yllä on määritelty, mukaista yhdistettä käsitellään 4 ekvivalentin kanssa sopivaa pelkistintä.

31. Menetelmä kaavan



jossa m on kokonaisluku 2 - 4, n on kokonaisluku 4 - 10 ja R on C₂-C₆-alkyyli, mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että se sisältää vaiheet, joissa
 30 kaavan



jossa m, n ja R ovat, kuten yllä on määritelty, mukaista yhdistettä käsitellään 4 ekvivalentin kanssa trietyylifosfiittia ja 2 ekvivalentin kanssa bromitrikloorimetaania lämpötilassa, joka on huoneenlämpötilasta takaisinvirtautuslämpötilaan, 1 - 3 tuntia, jonka jälkeen käsitellään ylimäärän kanssa.

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

TUTKIMUSRAPORTTI

Patentti- ja innovaatiolinja

HAKEMUSNUMERO	LUOKITUS
955643	C07C 323/25 ym.
☐ jatkuu kääntöpuolella	

TUTKITTU AINEISTO
Patenttivirastojen julkaisut FI, SE, NO, DK, DE, CH, EP, WO, GB, US:
☐ jatkuu kääntöpuolella
Muu aineisto
☐ jatkuu kääntöpuolella

VIITEJULKAISUT		
Kategoria*)	Julkaisun tunnistetiedot	Koskee vaatimuksia
A	EP-A 497202 (C07C 323/25)	
A	US-A 3892824 (C07F 9/16)	
☐ jatkuu kääntöpuolella		
*) X Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu yksinään tarkasteltuna Y Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu, kun otetaan huomioon tämä ja yksi tai useampi samaan kategoriaan kuuluva julkaisu A Yleistä tekniikan tasoa edustava julkaisu, ei kuitenkaan patentoitavuuden este		
Päiväys	Tutkija	
19.4.2001	Eira Zhdanov	

TUTKITTU AINEISTO (jatkoa etusivulta)

[illegible]

MUU AINEISTO (jatkoa etusivulta)

[illegible]

VIITEJULKAISUT (jatkoa etusivulta)

This image shows a single sheet of white paper with horizontal blue or grey ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There is no handwriting or other markings on the paper.