

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) FI 944838 A7

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **944838**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07K 7/56

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **13.04.1993**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **14.10.1994**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **14.10.1994**

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

(86) Kansainvälinen hakemus - **13.04.1993 PCT/EP1993/000893**
Internationell ansökan - International
application

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

15.04.1992 IT 92000089

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •A. Menarini Industrie Farmaceutiche Riunite S.R.L., Via Sette Santi, 3, 50131 Firenze, ITALIA, (IT)

2 •Laboratori Guidotti S.p.A., Via Trieste 40, Pisa Italy, TOWN UNKNOWN, ITALIA, (IT)

3 •Malesci-Istituto Farmacobiologico S.p.A., Via Porpora, 22/24 50144 Florence, Italia, ITALIA, (IT)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Pavone, Vincenzo, Italia, ITALIA, (IT)

2 •Lombardi, Angelina, Italia, ITALIA, (IT)

3 •Pedone, Carlo, Italia, ITALIA, (IT)

4 •Maggi, Carlo Alberto, Italia, ITALIA, (IT)

5 •Quartara, Laura, Italia, ITALIA, (IT)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Berggren Oy Ab, Antinkatu 3 C, 00100 Helsinki

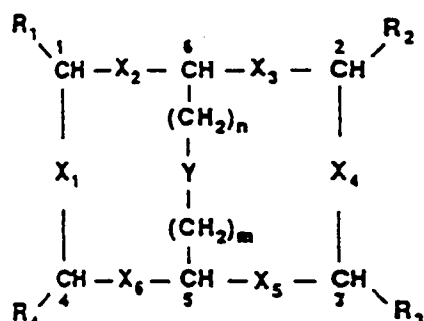
(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

**Trisykliset takykiniinin antagonistiyhdisteet, niiden valmistus ja far maseuttiset koostumukset, jotka sisältävät sellaisia
yhdisteitä**

**Tricykliska takykinins antagonistiföreningar, deras framställning och f armaceutiska sammansättningar, som innehåller sådana
föreningar**

Trisykliset takykiniinin antagonistiyhdisteet, niiden valmistus ja farmaseuttiset koostumukset, jotka sisältävät sellaisia yhdisteitä - Tricykliska takykinins antagonistföreningar, deras framställning och farmaceutiska sammansättningar, som innehåller sådana föreningar

Tämä keksintö koskee yhdisteitä, joilla on seuraava yleinen kaava (I)



jossa:

X1, X2, X3, X4, X5 ja X6 ovat identtisiä tai erilaisia ja niistä kukin valitaan ryhmästä, joka käsittää -NR'-CO-:n, -CO-NR'-:n, joissa R' on H tai C₁₋₃-alkyyli,

Y valitaan ryhmästä, joka koostuu -CONR-:stä, -NRCO-:sta, -OCO-:sta, -COO-:sta, -CH₂-NR-:stä, -NR-CH₂-:stä, -SS-:stä, -CH₂-CH₂-:sta, cis- tai trans-muodossa olevasta ryhmästä -CH=CH-, joissa ryhmissä R on H tai C₁₋₃-alkyyli,

R1, R2, R3 ja R4 ovat hydrofobinen ryhmä,

n ja m, jotka ovat identtisiä tai erilaisia, niistä kukin on kokonaisluku 1 - 4,

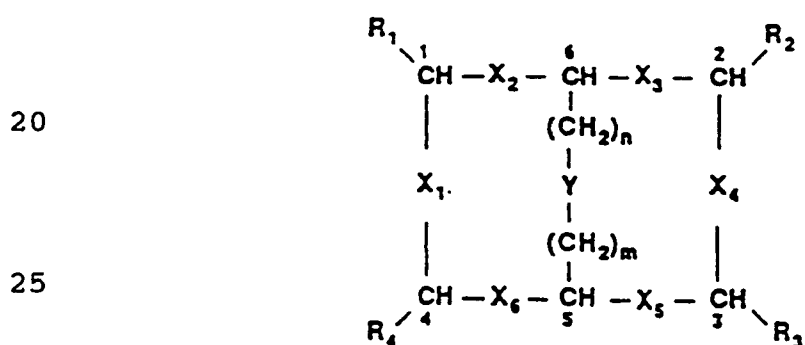
näiden yhdisteiden valmistusta sekä farmaseuttisia koostumuksia, jotka sisältävät mainittuja yhdisteitä.

Takykiniinin antagonistiyhdisteet ovat kirjallisuudesta tunnettuja. Niiden joukosta sykliset yhdisteet ovat erityisen

kiinnostavia [GB-A-2 216 529; McKnight, British Journal of Pharmacology, 104, 2 (1991); Gilon et al., Biopolymers, osa 31, 745-750 (1991); Harbeson et al., Peptides, Chemistry and Biology Proceedings 12. APS, 124 (1992), julkaisija Escom].

Vaikka tässä keksinnössä huomioon otettujen yhdisteiden kemiallinen kaava olennaisesti eroaa jo tunnetuista yhdisteistä, ensiksi mainittujen yhdisteiden farmakologinen aktiivisuus on yhtä suuri tai vieläpä suurempi kuin viimeksi mainittujen yhdisteiden. Sen tähden yhdisteitä, joille vaatimukset esitetään, voidaan pitää perusteltuina vaihtoehtoina.

Esillä oleva keksintö koskee uusia tuotteita, joilla on seuraava yleinen kaava (I)



jossa:

X1, X2, X3, X4, X5 ja X6 ovat identtisiä tai erilaisia ja kukin niistä valitaan ryhmästä, joka käsittää -NR'-CO-:n, -CO-NR'-:n, joissa R' on H tai C₁₋₃-alkyyli,

Y valitaan ryhmästä, joka koostuu -CONR-:stä, -NRCO-:sta, -OCO-:sta, -COO-:sta, -CH₂-NR-:stä, -NR-CH₂-:stä, -SS-:stä, -CH₂-CH₂-:sta, cis- tai trans-muodossa olevasta ryhmästä -CH=CH-, joissa ryhmissä R on H tai C₁₋₃-alkyyli,

R1, R2, R3 ja R4 kukin ovat hydrofobinen ryhmä, n ja m ovat identtisiä tai erilaisia, ja niistä kukin on kokonaisluku 1 - 4,

sellaisten yhdisteiden valmistusta sekä farmaseuttisia koostumuksia, jotka sisältävät näitä yhdisteitä.

Kuten voidaan nähdä, kaavan (I) mukaisilla, yllä kuvatuilla yhdisteillä on useita kiraalisia keskuksia: on ymmärrettävää, että myös erilaiset enantiomeerit ovat esillä olevan keksinnön kohteena.

Hydrofobiset ryhmät R1, R2, R3 ja R4 koostuvat mieluummin sekä luonnonmukaisten että synteettisten, hydrofobisten aminohappojen sivuketjuista tai ei-hydrofobisten aminohappojen sivuketjuista, joiden funktionaalisista ryhmistä muodostetaan johdannaisia, niin että ryhmistä tulee hydrofobisia.

Erityisesti R1, R2, R3 ja R4 voidaan valita ryhmistä, jotka ovat seuraavat:

- a) lineaariset tai haarautuneet alkyyli-ryhmät, jotka ovat tyyppiä C_nH_{2n+1} , jossa $n = 0, 1 - 4$;
- b) lineaariset tai haarautuneet alkyyli-ryhmät, jotka ovat tyyppiä $C_nH_{2n}-U-W$, jossa $n = 1 - 4$; $U = O, CO, COO, CONH, S$, guanidiini, NH ja $W = H$, jolloin hydrofobinen ryhmä sisältää 1 - 10 hiiliatomia;
- c) $CH_2C_6H_3XY$, jossa X ja Y ovat identtisiä tai erilaisia ja kukin on H , halogeeni, OH , NH_2 , CH_3 , bentseenirenkaan orto- tai meta- tai para-asemassa;
- d) $CH_2C_6H_4X$, jossa $X = OR, SR, NHR$, jossa $R =$ hydrofobinen ryhmä, joka sisältää 1 - 10 hiiliatomia;
- e) C_6H_3XY , jossa X ja Y ovat identtisiä tai erilaisia ja kukin on H , halogeeni, OH , NH_2 , CH_3 , bentseenirenkaan orto- tai meta- tai para-asemassa;
- f) $CH_2C_6H_{11}$;
- g) 1-metyylinaftyyli, 2-metyylinaftyyli;
- h) CH_2 -imidatsoli;
- i) CH_2 -indoli;
- l) CH_2 -(furanyyli-3-yyli);
- m) CH_2 -(pyridyyli-3-yyli);
- n) CH_2 -(imidatsolyyli-3-yyli);
- o) lopuksi substituoitu ryhmä $-(CH_2)_3-$, joka syklistoituu yhden kanssa kahdesta vierekkäisestä X-ryhmästä, jotta

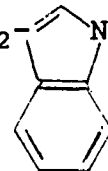
aikaansaadaan proliinin, hydroksiproliinin, dehydroproliinin sivuketju.

- 5 Erityisesti substituentit R1, R2, R3 ja R4 voivat olla hydrofobisten, sellaisen luonnonmukaisten aminohappojen sivuketjuja, jotka valitaan ryhmästä, joka koostuu glysiinistä, alaniinista, valiinista, leusiinista, isoleusiinista, metioniinista, fenyylialaniinista, tyrosiinista, tryptofaanista, 10 proliinista, histidiinistä. R1, R2, R3 ja R4 voivat olla myös ei-hydrofobisten aminohappojen sivuketjuja, joista on tehty hydrofobisia johdannaisia, jotka aminohapot valitaan ryhmästä, joka koostuu seriinistä, treoniinista, kysteiinistä, asparagiinihaposta, asparagiinista, glutamiinihaposta, glutamiinista, t-karboksiglutamiinihaposta, arginiinista, orni- 15 tiinista, lysiinistä.

- R1, R2, R3 ja R4 voivat olla myös hydrofobisten, sellaisen ei-luonnonmukaisten aminohappojen sivuketjuja, jotka valitaan 20 ryhmästä, joka koostuu norleusiinista, norvaliinista, al-loisoleusiinista, dehydroproliinista, hydroksiproliinista, sykloheksyylylglysiinistä (Chg), α -amino-n-voihaposta (Aba), sykloheksyylialaniinista (Cha), aminofenyyliivoihaposta (Pba), fenyylialaniineista, jotka ovat mono- tai disubstituoituja 25 aromaattisen renkaan orto-, meta- tai para-asemassa yhdellä tai useammalla ryhmällä, jotka ovat seuraavat: C₁₋₁₀-alkyyli, C₁₋₁₀-alkoksyyli, halogeeni, β -2-tienyylialaniini, β -3-tienyylialaniini, β -2-furanyylialaniini, β -3-furanyylialaniini, β -2-pyridyylialaniini, β -3-pyridyylialaniini, β -4-pyridyy- 30 lialaniini, β -(1-naftyyli)alaniini, β -(2-naftyyli)alaniini, seriinin, treoniinin, tyrosiinin O-alkyloidut johdannaiset, S-alkyloitu kysteiini, S-alkyloitu homokysteiini, alkyloitu lysiini, alkyloitu ornitiini, 2,3-diaminopropionihappo.

- 35 Edellä määritellyn kaavan (I) mukaisista tuotteista erityisen edullisia ovat ne tuotteet, joissa:

1) R1 = $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, R2 = $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, R3 = $-\text{CH}_2-$



$R_4 = -(\text{CH}_2)_2-\text{SCH}_3$, $X_1 = X_2 = X_3 = X_4 = X_5 = X_6 = -\text{CONH}-$,
 $Y = -\text{NHCO}-$, joissa kiraalisilla hiiliatomeilla on L-konfiguraatio,

5) 2) $Y = -\text{NHCO}-$ ja muut substituentit ovat kohdassa (1) esitetyn määritelmän mukaisia ryhmiä,

3) $R_4 = -\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_{11}$, ja muut substituentit ovat kohdassa (1) esitetyn määritelmän mukaisia ryhmiä,

10) 4) $Y = -\text{NHCO}-$, ja muut substituentit ovat kohdassa (3) esitetyn määritelmän mukaisia ryhmiä,

5) $R_2 = R_4 = -\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$, $R_1 = R_3 = -\text{CH}_2-$  , ja muut

15) substituentit ovat kohdassa (1) esitetyn määritelmän mukaisia ryhmiä,

6) $Y = -\text{NHCO}-$, ja muut substituentit ovat kohdassa (5) esitetyn määritelmän mukaisia ryhmiä,

20) 7) $Y = -\text{SS}-$, ja muut substituentit ovat kohdassa (1) esitetyn määritelmän mukaisia ryhmiä,

8) $Y = -\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, ja muut substituentit ovat kohdassa (1) esitetyn määritelmän mukaisia ryhmiä,

9) $Y = -\text{CH}=\text{CH}-$ (cis), ja muut substituentit ovat kohdassa (1) esitetyn määritelmän mukaisia ryhmiä,

25) 10) $Y = -\text{CH}=\text{CH}-$ (trans), ja muut substituentit ovat kohdassa (1) esitetyn määritelmän mukaisia ryhmiä,

11) $m = n = 1$, ja muut substituentit ovat kohdassa (1) esitetyn määritelmän mukaisia ryhmiä,

30) 12) $m = 1$, $n = 2$, ja muut substituentit ovat kohdassa (1) esitetyn määritelmän mukaisia ryhmiä,

13) $m = 1$, $n = 3$, ja muut substituentit ovat kohdassa (1) esitetyn määritelmän mukaisia ryhmiä,

14) $m = 1$, $n = 4$, ja muut substituentit ovat kohdassa (1) esitetyn määritelmän mukaisia ryhmiä,

35) 15) $m = 2$, $n = 1$, ja muut substituentit ovat kohdassa (1) esitetyn määritelmän mukaisia ryhmiä,

16) $m = 2$, $n = 2$, ja muut substituentit ovat kohdassa (1) esitetyn määritelmän mukaisia ryhmiä,

17) $m = 2$, $n = 3$, ja muut substituentit ovat kohdassa (1) esitetyn määritelmän mukaisia ryhmiä,

18) $m = 2$, $n = 4$, ja muut substituentit ovat kohdassa (1) määriteltäviä ryhmiä,

19) $X_1 = X_2 = X_3 = X_4 = X_5 = X_6 = -NHCO-$, ja muut substituentit ovat kohdassa (1) määriteltäviä ryhmiä,

20) $Y = -NHCO-$, ja muut substituentit ovat kohdassa (19) määriteltäviä ryhmiä,

21) $R_4 = -CH_2-C_6H_{11}$, ja muut substituentit ovat kohdassa (19) määriteltäviä ryhmiä,

22) $Y = -NHCO-$, ja muut ryhmät ovat kohdassa (15) määriteltäviä ryhmiä,

23) $R_2 = R_4 = -CH_2-C_6H_5$, $R_1 = R_2 = -CH_2-$  NH , ja muut

substituentit ovat kohdassa (19) määriteltäviä ryhmiä.

24) $Y = -NHCO-$, ja muut substituentit ovat kohdassa (23) määriteltäviä ryhmiä,

25) $Y = -SS-$, ja muut substituentit ovat kohdassa (19) määriteltäviä ryhmiä,

26) $Y = -CH_2-CH_2-$, ja muut substituentit ovat kohdassa (19) määriteltäviä ryhmiä,

27) $Y = -CH=CH-$ (cis), ja muut substituentit ovat kohdassa (19) määriteltäviä ryhmiä,

28) $Y = -CH=CH-$ (trans), ja muut substituentit ovat kohdassa (19) määriteltäviä ryhmiä,

29) $m = n = 1$, ja muut ryhmät ovat kohdassa (19) määriteltäviä ryhmiä,

30) $m = 2$; $n = 4$, ja muut substituentit ovat kohdassa (19) määriteltäviä ryhmiä,

31) hiiliatomeilla asemissa 5 ja 6 on D-konfiguraatio, ja kaikki substituentit ovat kohdassa (1) määriteltäviä ryhmiä;

32) kaikilla kiraalisilla hiiliatomeilla on D-konfiguraatio, ja kaikki substituentit ovat kohdassa (1) määriteltäviä ryhmiä,

5

Kaavan (I) kattamat yhdisteet voidaan valmistaa tunnetuin menetelmin vert. esim. Schroeder et al. "The Peptides", osa 1, Academic Press, 1965; Bodansky et al. , "Peptide Synthesis", Interscience Publishers, 1966; Barany ja Merrifield, 10 "The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology", 2. Ch. 1, Academic Press, 1980.

Ne menetelmät, jotka valitaan edellä mainittujen tuotteiden saamiseksi, ovat seuraavat:

15

i) synteesi lineaarisen peptidiketjun liuoksessa, siten että sopivasti aktivoidut, N-suojatut aminohapot kytketään aminohapon tai C-suojatun peptidiketjun kanssa, ja välivaiheet eristetään, mitä seuraa C- ja N-terminaalisten ketjujen suojauksen selektiivinen poisto, syklisointi orgaanisten liuottimien laimeassa liuoksessa, sivuketjujen suojauksen selektiivinen poisto ja niiden syklisointi orgaanisten, polaaristen liuottimien laimeassa liuoksessa (vrt. myös Bodansky-Bodansky, "The procedure of peptide synthesis", Springer Verlag, 1984);

20

25

ii) peptidiketjun synteesi C-terminaalisisesta päästä N-terminaaliseen päähän kiinteässä faasissa, liukenemattomalla polymeerikannattimella, sellaisten sivuketjujen syklisointi kiinteässä faasissa, joista suojaus on aiemmin poistettu, mitä seuraa irrottaminen polymeerikannattimesta hydrolyysin avulla vedettömässä fluorivetyhapossa, joka sisältää sopivia 30 lisäaineita, sekä monosyklisen peptidin syklisointi orgaanisten polaaristen liuottimien laimeassa liuoksessa.

35

Yllä kuvattu menetelmä voi vaihtoehtoisesti käsittää peptidiketjun synteessin C-terminaalisisesta päästä N-terminaaliseen päähän kiinteässä faasissa, liukenemattomalla polymeerikannattimella, irrottamisen polymeerikannattimesta hydrolyysin avulla.

- la, joka suoritetaan vedettömässä fluorivetyhapossa, joka sisältää sopivia lisäaineita, tai sopivia lisäaineita sisältävässä fluorietikkahapossa, C-terminaalisten ja N-terminaalisten päiden syklisoinnin orgaanisten, polaaristen liuottimien laimeassa liuoksessa, sivuketjujen suojauksen poiston sekä näiden ketjujen syklisoinnin orgaanisten, polaaristen liuottimien laimeassa liuoksessa (vrt. menetelmään, jota kuvaavat Atherton et al., julkaisussa *Bioorganic Chemistry*, 8, 351, 1979; Merrifield, julkaisussa *J. Am. Chem. Soc.*, 85, 2149-2154 (1963). Ensimmäinen syklisointireaktio voidaan suorittaa suoraan liukenemattomalla, kiinteällä kannattimella (vrt. A.M. Felix et al., *Int. J. Pep. Prot. Res.*, 31, 231, 1988; P. Rovero et al., *Tetrahedron Letters*, 32, 23, 2639 (1991), kun taas toinen syklisointi voidaan suorittaa myös liuoksessa menetelmin, jotka ovat hyvin tunnettuja peptidisidosten kemiassa (vrt. Kopple K.D., *J. Pharmaceutical Sci.*, 61, 1345, 1972).
- Erityisen menetelmän mukaan haluttu tuote voidaan saada PAM-hartsilla (fenyyliasetoamidometyylihartsi - A.R. Mitchell et al., *J. Org. Chem.*, 43, 2845, 1978), joka on saatettu toiminnalliseksi N-terminaalisesta päästä Boc-ryhmällä suojatun aminohapon avulla. Suoraan hartsiin sidotut aminohapot ovat mieluummin hydrofobisia, kuten esimerkiksi Leu. Sen jälkeen kun sekvenssin muut aminohapot on viety muodostuvaan peptidisekvenssiin, ensimmäinen syklisointi voidaan suorittaa, siten että saadaan edullisten aminohappojen sivuketjuja, sen jälkeen kun niiden suojaus on poistettu selektiivisesti ja ne on aktivoitu. Monosyklinen peptidi voidaan poistaa nestemäisellä fluorivetyhapolla. Vapaa peptidi voidaan vielä syklisoida N- ja C-terminaalisissa päissä, siten että käytetään perinteisiä synteessimenetelmiä.
- Edellä määritellyn kaavan (I) mukaiset yhdisteet ovat osoittautuneet tehokkaammiksi takykiniinin antagonisteiksi kuin

muut analogiset antagonistit; siitä seuraa, että tunnettuihin tuotteisiin verrattuina niitä voidaan annostella pienempinä annostasoina.

5

Sen tähden ne soveltuvat artriitin, astman, tulehdusten, kasvainperäisen kasvun, mahalaukkuun ja suoleen liittyvän hypermobiliteteetin eli liikaliikkuvuuden, Huntingtonin sairau-

den, neuriitin eli hermotulehduksen, neuralgian eli hermo-

10 säryn, migreenin, hypertension eli kohonneen verenpaineen, virtsan pidätyskyvyttömyyden, nokkosihottuman, karsinoidi-

oireyhtymän oireiden, influenssan ja kylmettymisen hoitoon.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, jotka keksintö kattaa, sovel-

15 tuvat terapeuttiseen antoon eläimillä ja ihmisellä, kun yh-

disteitä annostellaan parentraalisesti, suun kautta, hengi-

tysteiden kautta ja kielen alta, jolloin farmakologiset vai-

kutukset sopivat yhteen kuvattujen ominaisuuksien kanssa.

Parenteralisen annon tapauksessa (laskimonsisäinen, lihaksen-

20 sisäinen, ihonsisäinen) käytettävät yhdisteet ovat steriilejä

liuoksia tai jäädytyskuivattuja valmisteita. Suun kautta

annettaessa sellaisia valmisteita, kuten esimerkiksi tablet-

teja, kapseleita ja siirappeja, voidaan käyttää haitatta.

Sopivasti annostellut salvat ja voiteet ovat ihonsisäisesti

25 käyttökelpoisia. Nenään liittyvän annon, inhalaation ja kie-

lenalaisen annon tapauksessa käytettävät yhdisteet ovat vas-

taavasti vesiliuoksia, aerosolivalmisteita tai kapseleita.

Aktiivisen ainesosan annokset edellä mainituissa koostumuk-

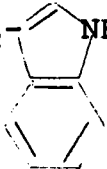
30 sissa ovat alueella 0,1 - 10 mg/kg kehon painoa.

Esimerkki 1

Syklo(Met-Asp-Trp-Phe-Leu):n valmistus

[Kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa: $Y = X_1 = X_2 = X_3 = X_4 =$

35 $X_5 = X_6 = -NHCO-$; $m = n = 1$; $R_1 = -CH_2-CH(CH_3)_2$; $R_2 =$

$-CH_2-$  NH ; $R_3 = -CH_2-C_6H_5$; $R_4 = -CH_2-CH_2-SCH_3$; ja hiili-

atomeilla C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , C_5 , C_6 on L-konfiguraatio]

Yhdiste (1)

- 5 a) Monosyklisen, H-Met-Asp-Trp-Phe-Dpr-Leu-OH-sekvenssin
mukaisen peptidin synteesi
- 0,625 grammaa Boc-Leu-OCH₂-PAM-hartsia (Applied BioSystem,
USA, 0,8 mekviv./g), joka vastaa 0,5 mmoolia amiiniryhmiä,
syötetään puoliautomaattiseen peptidisynteesireaktoriin (Ap-
10 plied BioSystem 430A, Foster City, CA, USA). Boc-ryhmää hyd-
rolysoidaan 33-prosenttisella TFA:lla DCM:ssä 1,5 minuutin
ajan sekä 50-prosenttisella TFA:lla DCM:ssä 18,5 minuutin
ajan; sitten sitä neutraloidaan DMF:ssä 10-prosenttisella
DIEA-liuoksella kahden minuutin ajan. Seuraavat tähteet saa-
15 tetaan reagoimaan samassa järjestyksessä, suluissa esitettyi-
nä määrinä: Boc-Dpr(Fmoc)-OH (0,852 g), Boc-Phe-OH (0,512 g),
Boc-Trp(CHO)-OH (0,664 g), Boc-Asp(OFm)-OH (0,822 g).

- Ensimmäinen alkylointi kestää yhden tunnin. Hartsia pestään,
20 ja reaktio on ninhydriinikoe, joka suoritetaan Kaiser-mene-
telmällä. Jos tulos on negatiivinen, Boc-ryhmä hydrolysoidaan
edellä kuvatulla tavalla ennen seuraavan aminohapon kytkemis-
tä. Boc-Dpr(Fmoc)-OH:lla asyloidaan, siten että lisätään
aminohappo- (2 mmoolia) ja PyBop-liuos (2 mmoolia) DMF:ssä,
25 jotta hartsin suojaus poistetaan. Boc-Phe-OH ja Boc-Trp(CHO)-
OH kytketään symmetrisen anhydridin muotoon, siten että liuo-
tetaan 2 mmoolia aminohappoa viidessä millitrassa dikloorime-
taania. Liuoksen lämpötila saatetaan 0 °C:seen ja lisätään 1
ml 0,5-molaarista disykloheksyylikarbodi-imidin liuosta, joka
30 on dikloorimetäänissa. Disykloheksyyliurea suodatetaan 15
minuutin kuluttua ja saatu liuos lisätään hartsiin, josta
suojaus on poistettu. Boc-Asp(OFm)-OH-kytkentä suoritetaan,
siten että hartsiin, josta suojaus on poistettu, lisätään
aminohappo- (2 mmoolia) ja HOBt- (2 mmoolia) liuos DMF:ssä;
35 kahden minuutin kuluttua suspensioon lisätään 0,5-molaarinen
DCC:n liuos DCM:ssä (4 ml). Asp- ja Dpr-sivuketjuilla sijait-
sevat fluorenyyliryhmät poistetaan, siten että käsitellään

20-prosenttisella (tilav./tilav.) piperidiiniliuoksella, joka on DMF:ssä (15 ml kaksi kertaa kolmen ja seitsemän minuutin kuluttua). Kondensaatio β -amino- ja β -karboksyyliiryhmien välillä suoritetaan 0,25-molaarisella PyBop:n liuoksella DMF:ssä (3 ekvivalenttia) DIEA:n läsnäollessa (kuusi ekvivalenttia), kunnes saadaan Kaiser-kokeen negatiivinen vaste.

Aktivoitu Boc-Met-OH (0,498 g), joka on symmetrisen anhydridin muodossa, kytketään ja terminaalisen aminoryhmän poiston jälkeen tryptofaanin formyyliiryhmästä poistetaan suojaus, siten että käsitellään 120 ml:lla 1-molaarisen TMSiBr:n ja 1-molaarisen tioanisolin liuosta, joka on TFA:ssa, kun läsnä on 1,2 ml m-kresolia ja 1,2 ml EDT:a. Yhden tunnin kuluttua 0 °C:ssa liuos suodatetaan, hartsi pestään TFA:lla ja kuivataan. Kuiva hartsi asetetaan Teflon-reaktoriin yhden millilitran kanssa anisolia ja yhden millilitran kanssa dimetyylisulfidia. Seoksen lämpötila saatetaan -50 °C:seen ja siinä tislataan 10 millilitraa fluorivetyhappoa; sitten seosta sekoitetaan 60 minuutin ajan jäähauteessa. Fluorivetyhappo poistetaan typpivirtauksen avulla. Raakaa tuotetta kuivataan imussa kahden tunnin ajan, se pestään etyylietterillä (15 ml kaksi kertaa), sitä uutetaan 50-prosenttisella etikkahapolla (15 ml kolme kertaa) ja se suodatetaan huokoisessa suodatinsuppilossa, jotta tyhjiin imetty hartsi poistetaan. Saatu liuos laimennetaan vedellä ja jäädytyskuivataan. Lopuksi peptidi puhdistetaan käänteisfaasikromatografiolla ja karakterisoidaan analyttisellä HPLC:llä, laitteella, joka on Varian LC Star 9010 Vydac C18, pylväässä, jonka koko on 0,46 x 25 cm, lineaarisella asetonitriilin gradientilla, joka sisältää 0,1 prosenttia (tilav./tilav.) trifluorietikkahappoa (faasi B), 0,1-prosenttista (tilav./tilav.) trifluorietikkahappoa (faasi A) vastaan, 50 - 70 -prosenttisena faasina B, 50 minuutissa, nopeudella yksi millilitra minuutissa, ja samanaikaisesti fraktioita tarkkaillaan 210 nm:ssä UV-tarkkailulaitteella. Retentioaika (Rt) = 26,3'; kromatografinen puhtaus > 99 prosenttia. FAB-MS: (M + H)⁺ = 779.

b) (a):n syklistointi

Edellä saatua tuotetta (a) liuotetaan 70 mg 90 ml:aan DMF:a.

Liuokseen lisätään 47 mg PyBOP:a sekä 20 μ l DIEA:a. Saatua

liuosta pidetään sekoituksen alla 0 °C:ssa 18 tunnin ajan, sitten DMF poistetaan tyhjössä ja saatu seos jäädytyskuiva-

taan. Yhdiste (1) puhdistetaan kääteisfaasinestekromatografi-
fialla ja sitä karakterisoidaan analyttisellä HPLC:lla,

laiteella Varian LC Star 9010 Vydac C18, pylväässä, jonka

koko on 0,46 x 25 cm, lineaarisella asetoni-triiligradien-
til-
la, joka sisältää 0,1 prosenttia (tilav./tilav.) trifluori-

etikkahappoa (faasi B), 0,1-prosenttista (tilav./tilav.)
trifluorietikkahapon vesiliuosta (faasi A) vastaan, 5 - 70 -

prosenttisena faasina B, 50 minuutissa, nopeudella yksi mil-
litra minuutissa, ja samanaikaisesti fraktioita tarkkaillaan

210 nm:ssä UV-tarkkailulaitteella. Retentioaika (Rt) = 29,5';
kromatografinen puhtaus > 99 %. FAB-MS: (M + H)⁺ = 761.

Biologinen aktiivisuus

Esillä olevassa keksinnössä kuvattujen tuotteiden vuorovaiku-
tusteho agonisteina tai antagonisteina määritettiin neuro-

kiniini A:n reseptorin kanssa, siten että käytettiin valmis-
tetta, jolle on luonteenomaista se seikka, että takykiniinien

ja vastaavuussuhteessa olevien peptidien tuottaman, biologi-

sen vasteen määrää yksinomaan neurokiniini A -reseptori (re-
septori NK-2). Mainittu preparaatti käsitti kaniinin eriste-

tyn keuhkovaltimon, johon vaikuttaa annoksesta riippuva su-
pistuminen, jonka takykiniinit aikaansaavat (Rovero et al.,

Neuropeptides, 13, 263-270, 1989). Peptidiaktiivisuuden mää-

rittäminen koevalmisteessa perustui NKA:n pitoisuuteen (3-
nolaarinen), joka aikaansai vasteen, joka oli 45 prosenttia

maksimivasteesta. Keksinnön yhteydessä arvioidut peptidit
lisättiin valmisteeseen suurenevina pitoisuuksina. Niiden

aktiivisuus arvioitiin sellaisen vasteen inhibitiona, joka

saatiin NKA:lle.

Esimerkiksi yhdiste 1, joka tutkittiin 1-molaarisena konsentrationa, aiheutti 100-prosenttisen inhibition vasteessa neurokiniini A:lle, mikä tutkittiin kaniinin eristetyssä keuhkovaltimossa.

Tässä yhteydessä kuvattujen tuotteiden sellaisen vuorovaikutuksen kapasiteetti, joka niillä on substanssi P:n reseptorin (reseptori NK-1) kanssa, määritettiin in vitro kokeessa, jossa takykiniinien sekä vastaavuussuhteessa olevien peptidien aikaansaama biologinen vaste määritettiin yksinomaan substanssi P:n reseptorilla. Koevalmiste käsitti marsun eristetyn sykkyräsuolen, johon vaikutti annoksesta riippuva supistuminen, jonka takykiniinit saivat aikaan (Lee et al., Schmied. Arch. Pharmacol., 318, 281-287, 1982). Esillä olevan keksinnön mukaisten tuotteiden aktiivisuuden määrittäminen koevalmisteessa perustui sellaisen SP-metyyliesterikonsentraation (10 nm) käyttöön, joka aikaansai vasteen, joka oli 45 prosenttia maksimivasteesta (S. Dion et al., Life Sci., 41, 2269-2278, 1987). Tässä arvioidut tuotteet lisättiin valmisteeseen suurenevinä pitoisuuksina. Niiden aktiivisuus määritettiin SP:lle saatavan vasteen inhibitiona tyydyttävin tuloksin.

Tuote 1 tutkittiin esimerkinomaisesti 10-mmolaarisena pitoisuutena, joka aiheutti S-metyyliesterille saatavan vasteen 100-prosenttisen inhibition.

Aminohappojen lyhennyksien ja nimistön suhteen viitataan sääntöihin, jotka on julkaissut IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (Eur. J. Biochem., 1984, 138:9); ellei muuten mainita, katsotaan, että aminohapot ovat L-konfiguraatiossa.

Muut käytetyt lyhennykset ovat seuraavat:

Boc = tert-butyyliloksikarbonyyli; DCM = dikloorimetaani; BOP = bentsotriatsolyyli-N-oksitri(dimetyyliamino)fosfonium)heksa-

fluorofosfaatti, Dpr = 2,3-diaminopropionihappo; DCC = N-N'-disykloheksyyliureakarbodi-imidi; DCU = N-N'-disykloheksyyliurea; DIEA = Di-isopropyylietyyliamiini, DMF = N-N'-dimetyyliformamidi; EDT = etaaniditioli; FAB-MS = "fast atom bombardment" -massaspektrometria; Fmoc = 9-luorenyylimetyylioksikarbonyyli, HOBt = 1-hydroksibentsotriatsoli; HPLC = suurpainenestekromatografia; iPrOH = isopropanoli; PAM = fenyyliasetamidometyyli; NKA = neurokiniini A; SP = Substanssi P; PIP = pieridiini; TFA = trifluorietikkahappo; For = formyyli; Me = metyyli; Ac = asetyyli; fluorenyylimetyyli; PyBop = bentsotriatsoli-1-yylioksi-pyrrolidiinifosfoniumheksafluorifosfaatti.

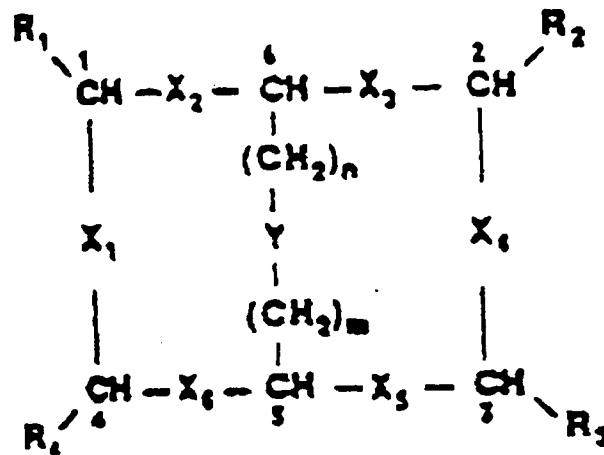
Patenttivaatimukset

1. Menetelmä sellaisten yhdisteiden valmistamiseksi, joilla on seuraava yleinen kaava (I)

5

10

15



jossa X1, X2, X3, X4, X5 ja X6 ovat identtisiä tai erilaisia ja niistä kukin valitaan ryhmästä, joka käsittää -NR'-CO:n, -CO-NR'-:n, joissa R' valitaan ryhmästä joka sisältää H:n,

20

C₁₋₃-alkyylin,

Y valitaan ryhmästä, joka käsittää -CONR-:n, NRCO-:n,

-OCO-:n, -COO-:n, -CH₂-NR-:n, -NR-CH₂-:n, -SS-:n, -CH₂-CH₂-

:n, cis- tai trans-CH=CH-:n, joissa R valitaan ryhmästä, joka käsittää H:n, C₁₋₃-alkyylin,

25

R1, R2, R3 ja R4 kukin on hydrofobinen ryhmä,

n ja m, jotka ovat identtisiä tai erilaisia, kumpikin on

kokonaisluku 1 - 4, t u n n e t t u siitä, että

lineaarinen peptidi syntetisoidaan liuoksessa, siten että

kytketään sopivasti aktivoituja, N-suojattuja aminohappoja

30

aminohapon tai C-suojatun peptidiketjun kanssa, välivaiheet

eristetään, minkä jälkeen C- ja N-terminaalisten ketjujen

suojaus poistetaan selektiivisesti ja ne syklisoidaan or-

gaanisten, poolisten liuottimien laimeassa liuoksessa.

35

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä R1, R2, R3 ja R4 valitaan ryhmistä, jotka ovat seuraavat:

- a) lineaariset tai haarautuneet alkyyliiryhmät, jotka ovat
 tyyppiä C_nH_{2n+1} , jossa $n = 0, 1 - 4$,
- b) lineaariset ja haarautuneet alkyyliiryhmät, jotka ovat
 5 tyyppiä $C_nH_{2n}-U-W$, jossa $n = 1 - 4$; $U = O, CO, COO, CONH, S$,
 guanidiini, NH ja $W = H$, hydrofobinen ryhmä, joka sisältää
 1 - 10 hiiliatomia,
- c) $CH_2C_6H_3XY$, jossa X ja Y , jotka ovat identtisiä tai erilai-
 sia, kumpikin on H , halogeeni, NH_2, OH, CH_3 , bentseenirenkaan
 10 orto- tai meta- tai para-asemassa,
- d) $CH_2C_6H_4X$, jossa $X = OR, SR, NHR$, jossa $R =$ hydrofobinen
 ryhmä, joka sisältää 1 - 10 hiiliatomia,
- e) C_6H_3XY , jossa X ja Y , jotka ovat identtisiä tai erilaisia,
 kumpikin ovat H , halogeeni, OH, NH_2, CH_3 , bentseenirenkaan
 15 orto-, meta- tai para-asemassa,
- f) $CH_2C_6H_{11}$,
- g) 1-metyyli-naftyyli, 2-metyyli-naftyyli,
- h) CH_2 -imidatsoli,
- i) CH_2 -indoli,
- 20 l) CH_2 -(furanyyli-3-yyli),
- m) CH_2 -(pyridyyli-3-yyli),
- n) CH_2 -(imidatsolyyli-3-yyli),
- o) lopuksi substituoitu $-(CH_2)_3$ -ryhmä, joka syklisoituu yhden
 kanssa kahdesta vierekkäisestä X -ryhmästä, jotta muodostuu
 25 proliinin, hydroksiproliinin, dehydroproliinin sivuketju,
 muut substituentit on määritelty vaatimuksessa 1.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
 siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä R_1, R_2, R_3 ja
 30 R_4 ovat sellaisten aminohappojen sivuketjuja, jotka valitaan
 ryhmästä, joka käsittää glysiinin, alaniinin, valiinin, leu-
 siinin, isoleusiinin, metioniinin, fenyylialaniinin, tyrosii-
 nin, tryptofaanin, proliinin, histidiinin, norleusiinin,
 norvaliinin, alloisoleusiinin, dehydroproliinin, hydroksipro-
 35 liinin, sykloheksyyliiglysiinin (Chg), α -amino-n-voihapon
 (Aba), sykloheksyylialaniinin (Cha), aminofenyyli-voihapon
 (Pba), fenyylialaniinin, jossa on yksi tai kaksi substituent-

tia aromaattisen renkaan orto-, meta- tai para-asemassa, jotka substituentit ovat ryhmistä, jotka ovat seuraavat: C₁₋₁₀-alkyyli, C₁₋₁₀-alkoksyyli, halogeeni, β-2-tienyyli-alaniini, β-3-tienyyli-alaniini, β-2-furanyyli-alaniini, β-3-furanyyli-alaniini, β-2-pyridyyli-alaniini, β-3-pyridyyli-alaniini, β-4-pyridyyli-alaniini, β-(1-naftyyli)-alaniini, β-(2-naftyyli)-alaniini, seriinin, treoniinin, tyrosiinin O-alkyloidut johdannaiset, S-alkyloitu kysteiini, S-alkyloitu homokysteiini, alkyloitu lyysiini, alkyloitu ornitiini, 2,3-diaminopropionihappo;

tai että ne ovat sellaisten ei-hydrofobisten aminohappojen sivuketjuja, joiden toiminnallisista ryhmistä on tehty johdannaisia, niin että ryhmät ovat tulleet hydrofobisiksi, ja mainitut aminohapot on valittu ryhmästä, joka käsittää seriinin, treoniinin, kysteiinin, asparagiinihapon, asparagiinin, glutamiinihapon, glutamiinin, t-karboksiglutamiinihapon, arginiinin, ornitiinin, lyysiinin.

4) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, tunnetaan siitä, että kaavan (I) yhdisteissä

$R^1 = -CH_2CH(CH_3)_2$, $R_2 = -CH_2C_6H_5$, $R_3 = -CH_2-$,

$R_4 = -(CH_2)_2-SCH_3$,

$X_1 = X_2 = X_3 = X_4 = X_5 = X_6 = -CONH-$,

$Y = -CONH-$,

joissa kiraalisella hiiliatomilla on L-konfiguraatio.

5) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, tunnetaan siitä, että niissä $Y = -NHCO-$

ja muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 4 määritellyjä ryhmiä.

6) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, tunnetaan siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $R_4 = -CH_2-C_6H_{11}$

ja muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 4 määritellyjä ryhmiä.

7) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $Y = -NHCO-$ ja
muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 6 määriteltyjä
5 ryhmiä.

8) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä
 $R_2 = R_4 = -CH_2-C_6H_5$, $R_1 = R_3 = -CH_2-$
10 ja muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 4 määritel-
tyjä ryhmiä.

9) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $Y = -NHCO-$ ja
15 muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 8 määriteltyjä
ryhmiä.

10) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $Y = -SS-$ ja
20 muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 4 määriteltyjä
ryhmiä.

11) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä Y on $-CH_2-CH_2-$
25 ja muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 4 määritel-
tyjä ryhmiä.

12) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $Y = -CH=CH-$
30 (cis) ja muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 4
määriteltyjä ryhmiä.

13) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $Y = -CH=CH-$
35 (trans) ja muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 4
määriteltyjä ryhmiä.

14) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $Y = -CH_2NH-$ ja
muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 4 määriteltyjä
5 ryhmiä.

15) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $Y = -NHCH_2-$ ja
muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 4 määriteltyjä
10 ryhmiä.

16) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $m = n = 1$ ja
muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 4 määriteltyjä
15 ryhmiä.

17) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $m = 2, n = 4$ ja
muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 4 määriteltyjä
20 ryhmiä.

18) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $X_1 = X_2 = X_3 =$
 $X_4 = X_5 = X_6 = -NHCO-$ ja muut substituentit ovat patenti-
25 vaatimuksessa 4 määriteltyjä ryhmiä.

19) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $Y = -NHCO-$ ja
muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 18 määriteltyjä
30 ryhmiä.

20) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $R_4 =$
 $-CH_2-C_6H_{11}$ ja muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa
35 18 määriteltyjä ryhmiä.

21) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $Y = -\text{NHCO}-$ ja
muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 20 määriteltyjä
5 ryhmiä.

22) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä
 $R_2 = R_4 = -\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$, $R_1 = R_3 = -\text{CH}_2-$
10 ja muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 18 määritel-
tyjä ryhmiä.

23) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $Y = -\text{NHCO}-$ ja
15 muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 22 määriteltyjä
ryhmiä.

24) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $Y = -\text{SS}-$ ja
20 muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 18 määriteltyjä
ryhmiä.

25) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $Y = -\text{CH}_2-\text{CH}_2-$
25 ja muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 18 määritel-
tyjä ryhmiä.

26) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $Y = -\text{CH}=\text{CH}-$
30 (cis) ja muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 18
määriteltyjä ryhmiä.

27) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $Y =$
35 $-\text{CH}=\text{CH}-$ (trans) ja muut substituentit ovat patenttivaatimuk-
sessa 18 määriteltyjä ryhmiä.

28) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $m = n = 1$ ja
muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 18 määriteltyjä
ryhmiä.

5

29) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $m = 1$, $n = 2$ ja
muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 18 määriteltyjä
ryhmiä.

10

30) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $m = 1$, $n = 3$ ja
muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 18 määriteltyjä
ryhmiä.

15

31) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $m = 1$, $n = 4$ ja
muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 18 määriteltyjä
ryhmiä.

20

32) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $m = 2$, $n = 1$ ja
muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 18 määriteltyjä
ryhmiä.

25

33) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $m = 2$, $n = 3$ ja
muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 18 määriteltyjä
ryhmiä.

30

34) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $m = 2$, $n = 2$ ja
muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 18 määriteltyjä
ryhmiä.

35

35) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä $m = 2$, $n = 4$ ja
muut substituentit ovat patenttivaatimuksessa 18 määriteltyjä
5 ryhmiä.

36) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä hiiliatomeilla
asemissa 5 ja 6 on D-konfiguraatio ja kaikki substituentit
10 ovat patenttivaatimuksessa 4 määriteltyjä ryhmiä.

37) Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
siitä, että kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä kiraalisilla
hiiliatomeilla on D-konfiguraatio ja kaikki substituentit
15 ovat patenttivaatimuksessa 4 määriteltyjä ryhmiä.

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

of the

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar

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

FI _____

CH _____

DE _____

DK _____

FR _____

GB _____

NO _____

SE _____

US _____

EP

WO

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

18/10 -96 

Allekirjoitus