

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

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

(10) **FI 942077 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **942077**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07J 43/00
C07J 41/00
C07J 17/00
C07J 9/00

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **05.05.1994**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **05.05.1994**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **09.11.1994**

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

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

08.05.1993 DE 4315439

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Hoechst Aktiengesellschaft, 65926 Frankfurt am Main, SAKSA, (DE)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Glombik, Heiner, 6238 Hofheim am Taunus, SAKSA, (DE)

2 • Enhsen, Alfons, 6087 Büttelborn, SAKSA, (DE)

3 • Kramer, Werner, BRD, SAKSA, (DE)

4 • Wess, Günther, Erlensee, SAKSA, (DE)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

Monomeerisiä sappihappojohdannaisia, menetelmä niiden valmistamiseksi ja näiden yhdisteiden käyttö lääkeaineina

Monomeriska gallsyraderivat, förfarande för framställning av dem och användning av dessa föreningar som läkemedel

Monomeerisiä sappihappojohdannaisia, menetelmä niiden valmistamiseksi ja näiden yhdisteiden käyttö lääkeaineina

Sappihapot syntetisoituvat maksassa kolesterolista usean entsymaattisen vaiheen kautta. Ne varastoituvat sappirakossa ja siirtyvät tästä supistusten avulla ohutsuoleen. Siellä niiden ruuansulatustominnalle tärkeät fysiologiset vaikutukset esim. haiman lipaasien kofaktoreina sekä luonnollisina detergentteinä rasvojen ja rasvaliuo-
10 koisten vitamiinien solubilisoimisessa tulevat näkyviin. Aktiivisten ja passiivisten siirtomenetelmien kautta suurin osa eritetyistä sappihapoista palautuu ohutsuolesta porttisuoniston kautta takaisin maksaan.

Sappihappoja sitovia polymeerejä on kautta aikojen
15 käytetty terapeuttisesti. Niitä käytetään sellaisten sairauksien yhteydessä, joiden hoito edellyttää sappihappojen takaisinimeytymisen estämistä. Veren kolesterolitason ollessa kohonnut voidaan vähentämällä enterohepaattisessa verenkierrossa esiintyvien sappihappojen määrää aikaansaada väkisin sappihappojen vastaava uudelleenmuodostus mak-
20 sassa olevasta kolesterolista. Tämä johtaa lisääntyneeseen LDL-kolesterolin imeytymiseen verestä maksassa ja kiihtyneeseen LDL-kataboliaan. Aikaansaatu vaikutus on veressä olevan aterogeenisen LDL-kolesterolin väheneminen.

Tähän tarkoitukseen lääkeaineina käytettyjä polymeerejä, esim. kolesteryyliamiinia tai kolestipolia, pitää antaa hyvin korkeina vuorokausiannoksina, 12 - 30 g. Korkean annostuksen ohella vaikeuttavat maku ja haju lääkeai-
25 neen hyväksyttävyyttä potilaan ja lääkärin kannalta.

Mainituilla polymeereillä on sivuvaikutuksia joh-
30 tuen liian alhaisesta selektiviteetista ja liian suuresta sitomisesta vitamiineihin sekä vuorovaikutuksista samanaikaisesti annettujen lääkeaineiden kanssa. Lisäksi ne voivat muuttaa sapsen sappihappokoostumusta. Nämä ominaisuudet
35 manifestoituvat erilaisissa ruuansulatuskanavan häiriöissä

(ummetus, rasvaripuli), vitamiininpuutoksina ja kohonneena sappikiviriskinä.

Yllättävästi löydettiin nyt uusia monomeerisia sappihappojohdannaisia, jotka voivat katkaista sappihappojen enterohepaattisen verenkierron, ja joilla ei esiinny mainittuja haittavaikutuksia.

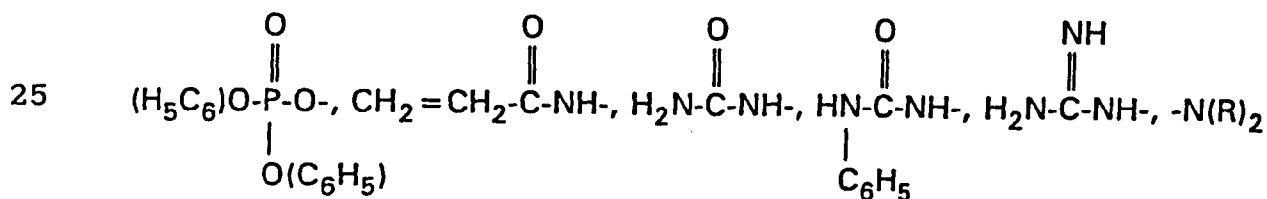
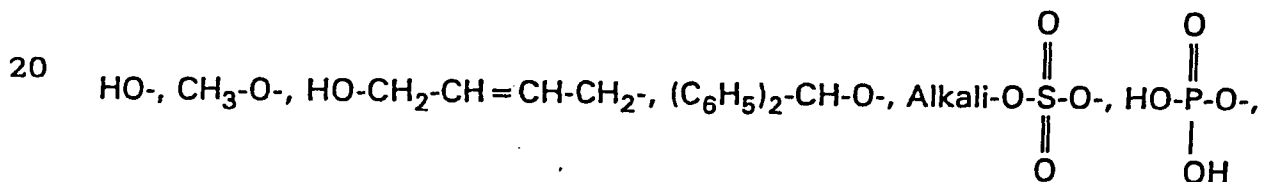
Keksintö koskee siten kaavan I mukaisia monomeerisiä sappihappojohdannaisia



jossa

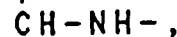
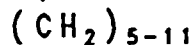
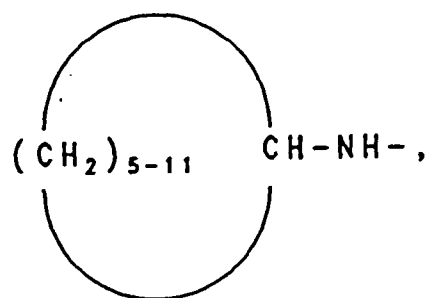
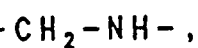
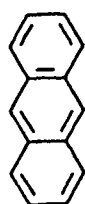
GS merkitsee sappihappotähdettä, jossa on hapan funktionaalinen ryhmä, tai tämän suolaa,

X on kovalenttinen sidos tai siltaryhmä, jonka kaava on $(CH_2)_n$, jolloin $n = 1 - 10$, jolloin alkyleeniketjussa voi olla 1 - 3 happiatomia, NH- tai NH(C=O)-ryhmää, jolloin GS voi olla mielivaltaisesti sidottu X:n kautta, ja Z on



30 tai $-N^+(R)_3$, jolloin R kulloinkin on C_{1-7} -alkyyli tai $H_2N(CH_2)_6-$,

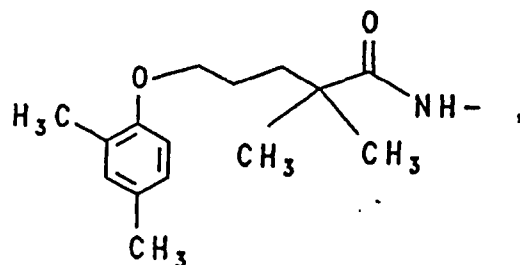
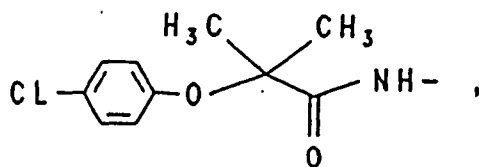
5



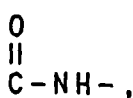
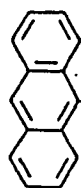
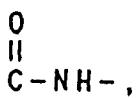
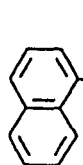
10

(C₁₋₁₀)-alkyyli(C=O)NH, jolloin alkyyliosaa mahdollisesti voi olla substituoitu COOH-ryhmällä,

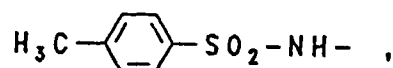
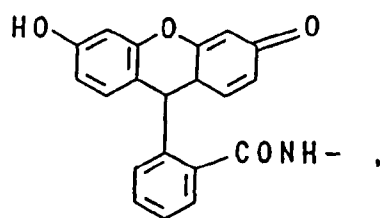
15



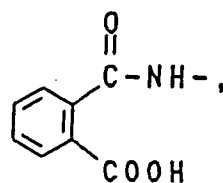
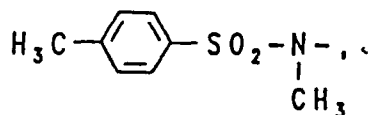
20



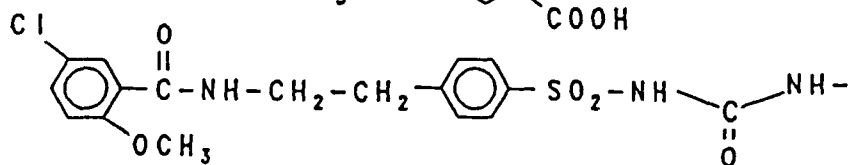
25

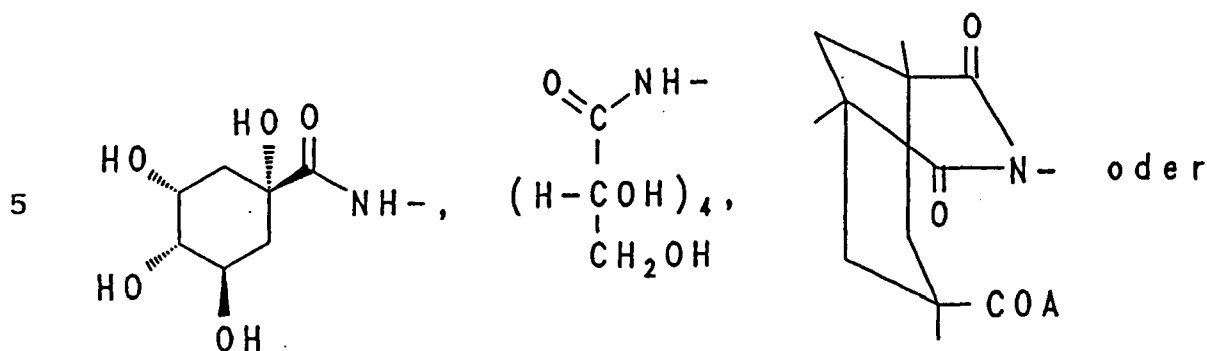


30

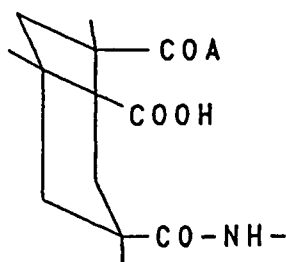


35





10



15

jolloin A kulloinkin on OH tai $\text{NH}(\text{C}_{1-10})$ -alkyyli.

Edullisia ovat kaavan I mukaiset yhdisteet, joissa GS on kytketty X:n kanssa 3-asemassa, jolloin kytkentä tapahtuu α - tai β -asemassa.

20

Happamilla funktioilla ymmärretään erityisesti COOH -ryhmää tai sulfonihapporyhmää.

Alkyyliähteet voivat olla suoraketjuisia tai haarauneita.

25

Keksinnön mukaisilla kaavan (I) mukaisilla yhdisteillä on korkea affiniteetti ohutsuolen spesifisten sappihappojen kuljetussysteemin suhteen ja ne estävät sappihappojen imeytymistä konsentraatiosta riippuvaisella ja kompetitiivisella tavalla.

30

Kompetitiivisellä estolla voidaan huomattavasti selektiivisemmin vaikuttaa enterohepaattiseen verenkiertoon. Vitamiininpuutoksia ei ole odotettavissa, eikä vaikutusta sapen sappihappokoostumukseen. Keksinnön mukaisilla yhdisteillä voidaan aikaansaada kolesterolitason selektiivinen lasku ilman että todetaan tunnettuja sivuvaikutuksia. Korkea affiniteetti ohutsuolen spesifisen sappi-

35

happojen kuljetussysteemin suhteen aiheuttaa sen, että tullaan toimeen pienemmillä päivittäisillä annoksilla kuin kaupallisten polymeerien ollessa kyseessä; täten sekä lääkäri että potilas hyväksyvät tällaiset lääkeaineet erittäin hyvin.

Yhdisteet omaavat arvokkaita farmakologisia ominaisuuksia ja sopivat siten erityisesti hypolipideemisiksi aineiksi.

Keksintö koskee siten myös kaavan (I) mukaisiin yhdisteisiin pohjautuvia lääkeaineita sekä yhdisteiden käyttöä lääkeaineina, erityisesti kolesterolitason alentamiseksi.

Keksinnön mukaisten yhdisteiden biologiset kokeet suoritettiin tutkimalla [³H]-taurokolaatin imeytymisen estämistä kaniinin sykkyräsuolen sukareunusmembraanirakkuiloissa. Estokoe suoritettiin seuraavasti:

1. Kaniinin sykkyräsuolen sukareunuskalvorakkuloiden preparointi

Sukareunuskalvorakkuloiden valmistus ohutsuolen suolisoluiista tapahtui käyttäen niin sanottua Mg²⁺-saostusmenetelmää. Uuden Seelannin uroskanit (paino 2 - 2,5 kg) tapettiin antamalla ruiskeena laskimoon 0,5 ml vesipitoista liuosta, jonka koostumus oli seuraavanlainen: 2,5 mg tetrakaiini HCl:ää, 100 T 61^R:ää ja 25 mg mebetsoniumjodidia. Ohutsuoli otettiin esille ja huuhdeltiin jääkylmällä fysiologisella keittosuolaliuoksella. Sukareunuskalvorakkuloiden valmistukseen käytettiin 7/10 ohutsuolen loppupäästä (mitattu oraali-rektaali-suunnassa, s.o. sykkyräsuolen loppuosa, joka sisältää aktiivisen Na⁺-riippuvaisen sappihappojen kuljetussysteemin). Suolet jäädytettiin muovipusseissa typpiatmosfäärissä -80 °C:ssa. Kalvorakkuloiden valmistamiseksi jäädytetyt suolet sulatettiin 30 °C:isessa vesihauteessa. Limakalvo poistettiin ja tämän jälkeen ne suspendoitiin 60 ml:aan jääkylmää 12 mM Tris/-HCl-puskuria (pH 7,1)/300 mM mannitolia, 5 mM EGTA/10 mg/l

fenyyylimetyylisulfonyylifluoridia/1 mg/l soi-japavuista saatua trypsiini-inhibiittoria (32 U/mg)/0,5 mg/l naudan-kielestä saatua trypsiini-inhibiittoria (193 U/mg)/5 mg/l basitrasiinia. Sen jälkeen kun se oli laimennettu jääkyl-

5 mällä tislatussa vedellä 300 ml:aan, se homogenoitiin jäällä jäähdyttäen Ultraturraxilla (18-sauva, SKA Werk Staufen, BRD) kolmen minuutin ajan maksimisuorituksen ollessa noin 75 %. Sen jälkeen kun oli lisätty 3 ml 1 M MgCl_2 -liuosta (loppukonsentraatio 10 mM), sen annettiin

10 seistä tarkalleen yhden minuutin ajan 0 °C:ssa. Mg^{2+} :aa lisättäessä solumembraanit aggregoituvat ja saostuvat sukareunuskalvorakkuloita lukuun ottamatta. Sen jälkeen kun sitä on sentrifugoitu teholla 3 000 x g (5 000 rpm SS-34-Rotor) 15 minuuttia, sakka heitetään pois ja päällä olevaa

15 kerrosta, joka sisältää sukareunuskalvoa, sentrifugoidaan teholla 267 000 x g (15 000 rpm SS-34-Rotor) 30 minuuttia. Päällä oleva kerros heitettiin pois, sakka homogenoitiin uudelleen 60 ml:ssa 12 mM Tris/HCl-puskuria (pH 7,1)/60 mM mannitolia, 5 mM EGTA:a Potter Elvehjem-homogenisaattoris-

20 sa (Braun, Melsungen, 900 rpm, iskuväli 10). Sen jälkeen, kun oli lisätty 0,1 ml 1 M MgCl_2 -liuosta ja inkuboitu 15 minuutin ajan 0 °C:ssa, sentrifugoitiin uudelleen teholla 3 000 x g 15 minuuttia. Päällä olevaa kerrosta sentrifugoitiin lopuksi vielä kerran teholla 46 000 x g (15 000

25 rpm SS-34-Rotor) 30 minuuttia. Sakka liuotettiin 30 ml:aan 10 mM Tris/Hepes-puskuria (pH 7,4)/300 mM mannitolia, ja suspendoitiin uudelleen homogeenisesti iskuvälin ollessa 20 Potter Elvehjem-homogenisaattorissa (1 000 rpm). Sen jälkeen kun sitä oli sentrifugoitu teholla 48 000 x g

30 (20 000 rpm SS-34-Rotor) 30 minuuttia, sakka liuotettiin 0,5 - 2 ml:aan Tris/Hepes-puskuria (pH 7,4)/280 mM mannitolia (loppukonsentraatio 20 mg/ml), ja käyttäen apuna tuberkuliiniruiskua, jonka neulan mitta oli 27, suspendoitiin uudelleen. Rakkuloita käytettiin kuljetustutkimuksiin

joko välittömästi valmistuksen jälkeen tai niitä säilytettiin -196 °C:ssa nestemäisessä typessä 4 mg:n annoksina.

2. Na⁺-riippuvaisen [³H]taurokolaatin imeytymisen estyminen sykkyräsuolesta saatuihin sukareunuskalvorakkuloihin

Aineiden kulkeutuminen sukareunuskalvorakkuloihin määritettiin niin sanotun membraanisuodattustekniikan avulla. 10 µl rakkulasuspensiota (100 µg proteiinia) pipetoitiin tippoina polystyreeni-inkubaatioputken (11 x 70 mm) seinälle, jolloin putki sisälsi inkubointiväliainetta ja vastaavia ligandeja (90 µl). Inkubointiväliaine sisälsi 0,75 µl = 0,75 -pCi[³H](G)). Taurokolaatti (spesifinen aktiviteetti: 2,1 Ci/mmol), /0,5 µl 10 mM taurokolaattia/-8,75 µl natrium-kuljetus-puskuria (10 mM Tris/Hepes (pH 7,4)/100 mM mannitolia/100 mM NaCl:ää (Na-T-P) tai 8,75 µl kalium-kuljetus-puskuria (10 mM Tris/Hepes (pH 7,4)/100 mM mannitolia/100 mM KCl:ää (K-T-P) ja 80 µl kyseessä olevaa estäjäliuosta liuotetaan kulloinkin aina kokeen mukaan Na-T-puskuriin tai K-T-puskuriin. Inkubointiväliaine suodatettiin polyvinylideenifluoridi-membraanisuodattimen läpi (STHV LO 4NS, 0,45 µm, 4 mm:n läpimitta, Millipore, Eschborn, BRD). Kuljetuksen mittausta aloitettiin sekoittamalla rakkuloihin inkubointiväliainetta. Taurokolaattikonsentraatio inkubointiseoksessa oli 50 µM. Halutun inkubointiajan jälkeen (tavallisesti 1 minuutti) kuljetus pysäytettiin lisäämällä 1 ml jääkylmää pysäytysliuosta (10 mM Tris/Hepes (pH 7,4)/150 mM KCl). Muodostuva seos imusuodatettiin heti vakuuissa 25 - 35 mbaarin paineessa selluloosanitraatista koostuvan membraanisuodattimen läpi (ME 25, 0,45 µm, 25 mm halkaisija, Schleicher & Schuell, Dassel BRD). Suodatin pestiin 5 ml:lla jääkylmää pysäytysliuosta.

Radioaktiivisesti merkityn taurokolaatin kulkeutuksen mittaamiseksi membraanisuodatin huuhdeltiin 4 ml:lla Skintillaattori Quickszint 361:tä (Zinsser Analytik GmbH,

Frankfurt, BRD) ja radioaktiivisuus mitattiin nestetuikelaskentaa käyttäen mittauslaitteessa TriCarb 2500 (Canberra, Packard GmbH, Frankfurt, BRD). Mitatut arvot saatiin laitteen vakauttamisen jälkeen standardinäytteiden avulla ja mahdollisesti esiintyvän kemiluminesenssin korjauksen jälkeen dpm:nä (hajoaminen/minuutti).

Kontrolliarvot saatiin kulloinkin Na-T-P:ssä ja K-T-P:ssä. Kulkeutumisen välinen ero Na-T-P:ssä ja K-T-P:ssä antaa tulokseksi Na⁺-riippuvaisen kuljetusosuu-
den. IC₅₀Na⁺:na pidetään sitä estäjäkonsentraatiota, jossa Na⁺:sta riippuvainen kuljetusosuus oli estynyt 50-%:isesti kontrolliin nähden.

Taulukossa esitetään k[³H]-taurokolaatin imeytymisen estämistä kaniinin sykkyräsuolen sukareunusmembraanirakkuloissa. Taulukossa on ilmoitettu vertailuaineiden IC₅₀- tahi IC_{50Na}-arvojen ja kyseessä olevien tutkittavien yhdisteiden taurokenodesoksikolaatin (TCDC) osamäärät.

	Esimerkin mukainen yhdiste	IC ₅₀ (TCDC)	IC _{50Na} (TCDC)
		IC ₅₀ (Yhdiste)	IC _{50Na} (Yhdiste)
5	3	0,4	0,35
	4	0,77	0,69
	18	0,47	0,42
10	21	0,34	0,33
	33	0,33	0,35
	35	1,0	1,02
15	36	0,19	0,20
	38	0,49	0,41
	40	0,52	0,50
20	43	0,78	0,73

Keksintö koskee lisäksi keksinnön mukaisten yhdisteiden käyttöä lääkeaineen valmistusta varten.

25 Tällöin liuotetaan tai suspendoidaan yleisen kaavan I mukaisia yhdisteitä farmakologisesti vaarattomiin orgaanisiin liuottimiin, kuten yksi- tai useampiarvoisiin alkoholeihin, kuten esim. etanoli tai glyseriini, triasetiiniin, öljyihin, kuten esim. auringonkukkaöljy, kalanmaksaöljy, eettereihin, kuten esim. dietyleeniglykolidimetyyli-eetteri, tai myös polyeettereihin, kuten esim. polyetyleeniglykoli, tai myös muiden farmakologisesti vaarattomien polymeerikantajien läsnä ollessa, kuten esim. polyvinyyli-pyrrolidoni, tai muiden farmaseuttisesti hyväksyttävien
30
35 lisäaineiden, kuten tärkkelys, syklodekstriini tai poly-

sakkaridit. Lisäksi keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan antaa yhdistelmässä muiden lääkeaineiden kanssa.

Kaavan I mukaisia yhdisteitä annetaan erilaisissa annosmuodoissa, edullisesti oraalisesti tablettien, kapselien tai nesteiden muodossa. Vuorokausiannos liikkuu aina potilaan kehonpainon ja ruumiin yleisrakenteen mukaan alueella 3 - 5 000 mg, edullisesti kuitenkin annosalueella 10 - 1 000 mg.

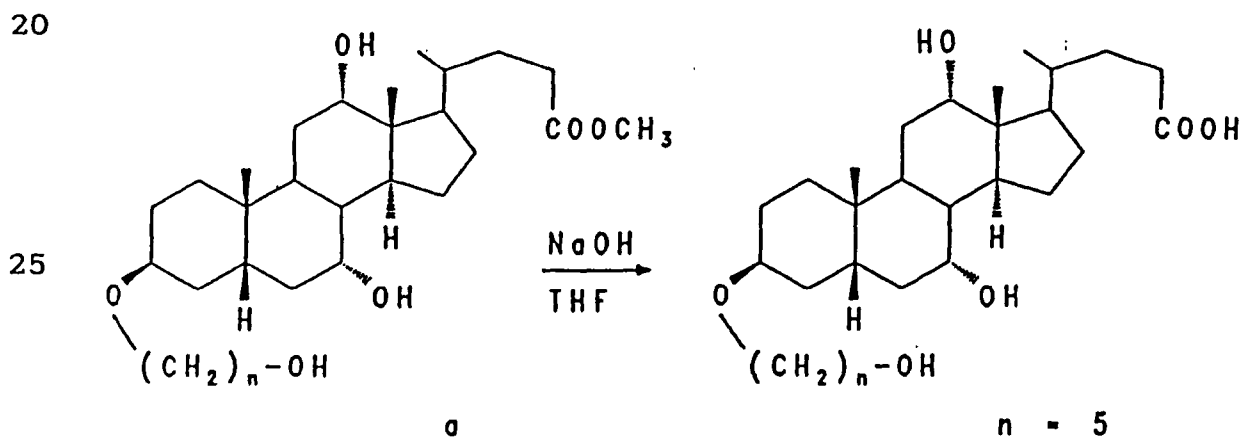
Seuraavissa esimerkeissä on ilmoitettu kulloinkin lasketut monoisotooppimoolimassat.

Ellei muuta ilmoiteta massaspektrit on mitattu FAB-tekniikalla lisäten litiumkloridia ja 3-nitrobentsaldehydiä (3-NBA).

Lähtöaineita, joilla on sappihapporakenne, on jo osittain kuvattu (vrt. EP-hakemusjulkaisu 0 417 725, EP-hakemusjulkaisu 0 489 423 ja EP-hakemusjulkaisu 0 548 793).

R^1 on määriteltä esimerkissä 6.

Esimerkki 1



30 1 g (1,96 mmol) metyyliesteriä a liuotettiin 15 ml:aan tetrahydrofuraania (THF) tai 1,4-dioksaania, seokseen lisättiin 10 ml 2 N natriumhydroksidiliuosta ja seosta sekoitettiin voimakkaasti yön yli huoneenlämpötilassa. Sitten seos laimennettiin suurella vesimäärällä ja se tehtiin happamaksi puolikonsentroidulla kloorivetyhapolla

35

jäähdyttäen samalla jäällä. Saostuma tehtiin täydelliseksi sekoittamalla vielä tunnin ajan, syntynyt saostuma imusuo-
datettiin talteen ja pestiin kylmällä vedellä. Uudelleen-
kiteytyksen jälkeen etanoli/vesi-seoksesta ja vakuumikui-
vauksen jälkeen saatiin 940 mg (96 %) esimerkin 1 mukaista
yhdistettä.

$C_{29}H_{50}O_6$ (494), MS: 501 ($M + Li^+$)

Seuraavat esimerkit 2 - 7 valmistettiin esimerkin 1 mukaisella tavalla vastaavista sappihappoestereistä.

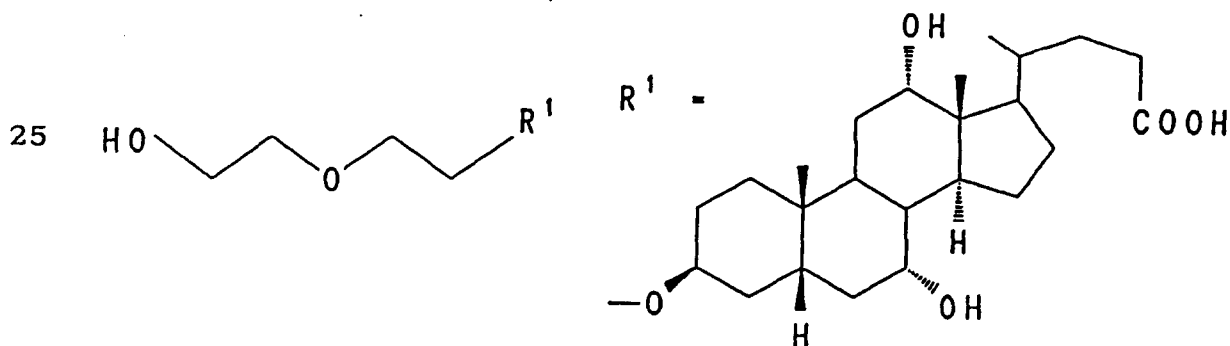
10

Esimerkki- numero	Kuten esimerkki 1, jossa n on	Kokonaiskaava	MW	MS
2	6	$C_{30}H_{52}O_6$	508	515 ($M + Li^+$)
3	8	$C_{32}H_{56}O_6$	536	543 ($M + Li^+$)
4	9	$C_{33}H_{58}O_6$	550	557 ($M + Li^+$)
5	10	$C_{34}H_{60}O_6$	564	571 ($M + Li^+$)

15

20

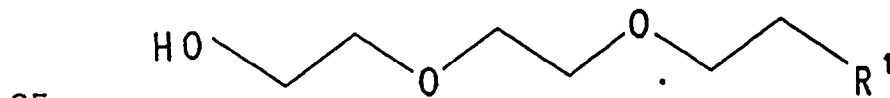
Esimerkki 6



30

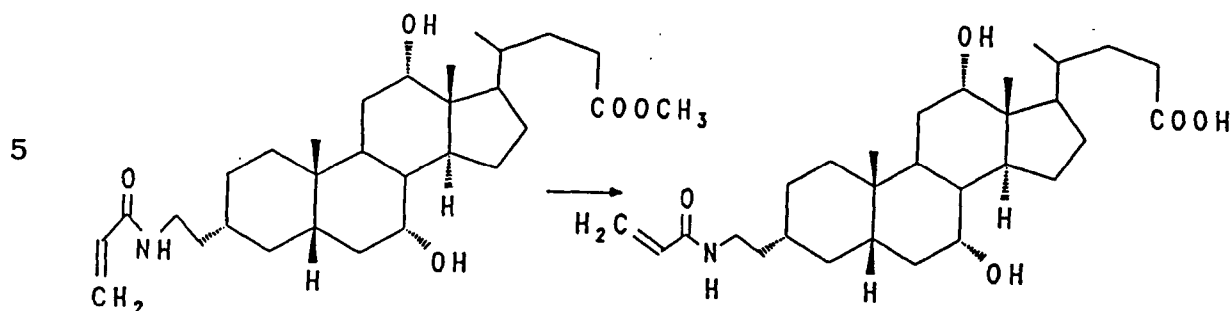
$C_{28}H_{48}O_7$ (496), MS: 503 ($M + Li^+$)

Esimerkki 7



$C_{30}H_{52}O_8$ (540), MS: 547 ($M + Li^+$)

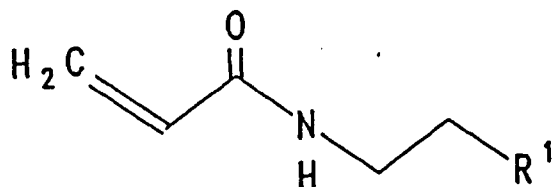
Esimerkki 8



10 100 mg (0,2 mmol) metyyliesteriä liuotettiin
 10 ml:aan 1,4-dioksaania, seokseen lisättiin 3 ml puoli-
 konsentroitua natriumhydroksidiliuosta ja seosta sekoitet-
 tiin kuusi tuntia huoneenlämpötilassa. Seos laimennettiin
 15 vedellä, se tehtiin happamaksi puolikonsentroidulla kloori-
 rivetyhapolla, jolloin imusuodattamalla ja hapon pesun
 jälkeen saatiin esimerkin 8 mukainen happo (50 mg, 51 %).
 $C_{29}H_{47}NO_5$ (489), MS: 496 ($M + Li^+$)

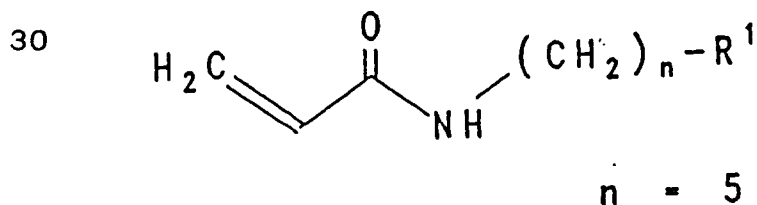
Seuraavat esimerkkiyhdisteet valmistettiin esimer-
 kin 8 mukaisesti.

20 Esimerkki 9



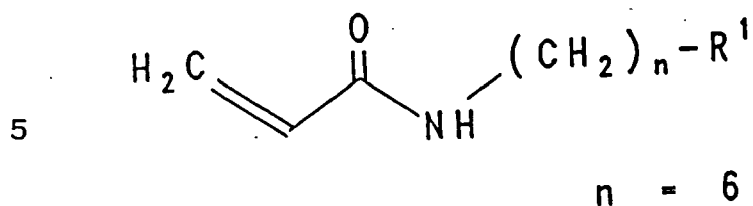
$C_{29}H_{47}NO_6$ (505), MS: 512 ($M + Li^+$)

Esimerkki 10



35 $C_{32}H_{53}NO_6$ (547), MS: 554 ($M + Li^+$)

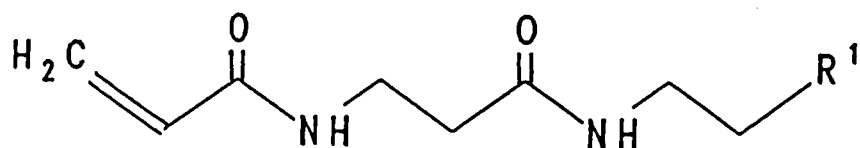
Esimerkki 11



$\text{C}_{33}\text{H}_{55}\text{NO}_6$ (561), MS: 568 ($\text{M} + \text{Li}^+$)

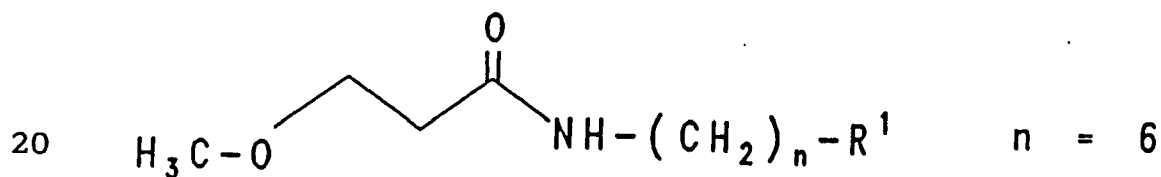
Esimerkki 12

10



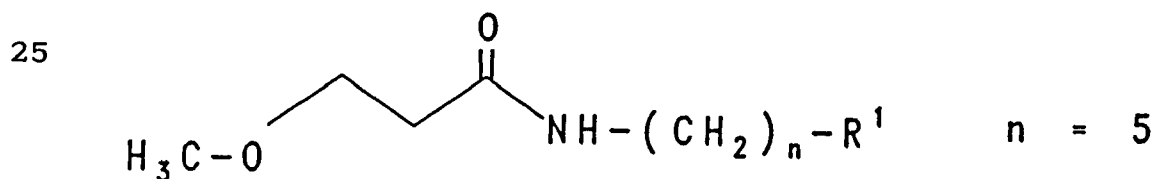
15 $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{O}_7$ (576), MS: 583 ($\text{M} + \text{Li}^+$)

Esimerkki 13



$\text{C}_{34}\text{H}_{59}\text{NO}_7$ (593), MS: 600 ($\text{M} + \text{Li}^+$)

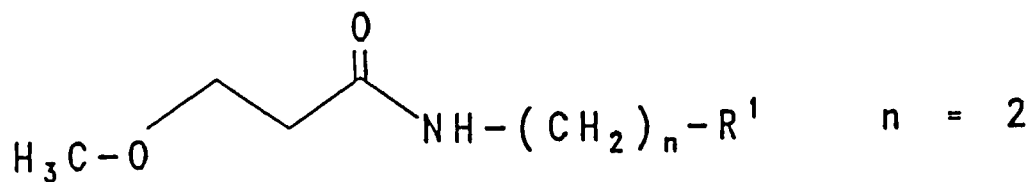
Esimerkki 14



$\text{C}_{33}\text{H}_{57}\text{NO}_7$ (579), MS: 586 ($\text{M} + \text{Li}^+$)

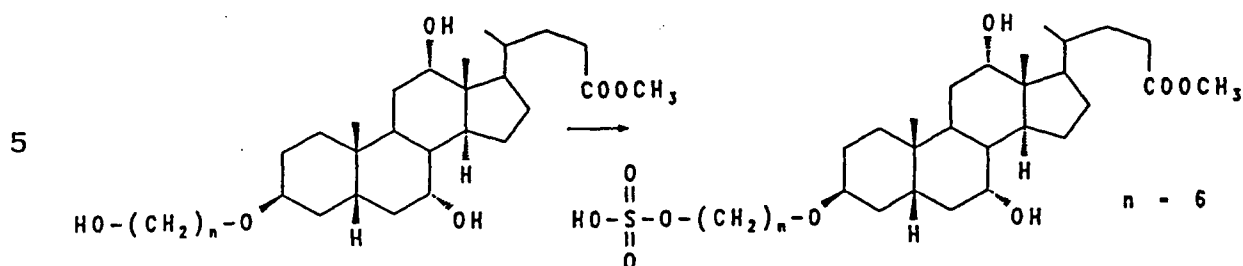
30

Esimerkki 15



35 $\text{C}_{30}\text{H}_{51}\text{NO}_7$ (537), MS: 544 ($\text{M} + \text{Li}^+$)

Esimerkki 16

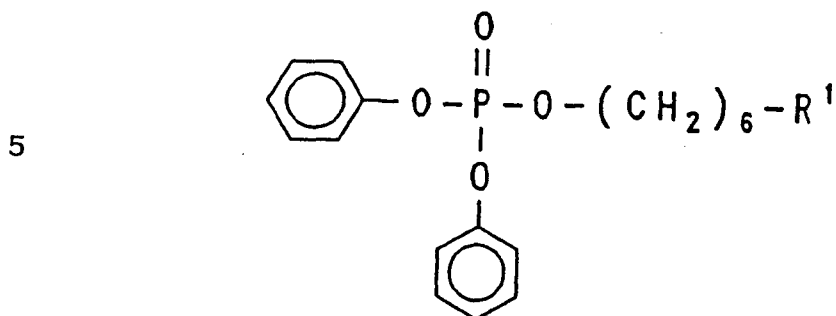


3,14 g (6 mmol) primääristä alkoholia a ($n = 6$)
 10 liuotettiin 100 ml:aan kuivaa dikloorimetaania, johon oli
 lisätty 0,84 ml trietyyliamiinia ja seos jäähdytettiin -
 10 °C:seen. Tässä lämpötilassa lisättiin liuokseen 0,4 ml
 (6 mmol) kloorisulfonihappoa kuivassa dikloorimetaanissa.
 Kun seos oli ollut tunnin ajan 0 °C:ssa ja tunnin ajan
 15 huoneenlämpötilassa, siihen lisättiin vettä, orgaaninen
 faasi erotettiin, vesifaasi uutettiin useita kertoja etyyli-
 asetaatilla ja yhdistetyt orgaaniset faasit kuivattiin
 ja väkevöitiin. Jäännös puhdistettiin kromatografisesti
 (silikageeli, etyyliasetaatti/metanoli 3:1). Saatiin
 20 1,45 g (45 %) esimerkin 16 mukaista yhdistettä.
 $C_{31}H_{54}O_9S$ (602), MS: 631 ($M - H^+ + Li^+ + Na^+$), 615 ($M - H^+ + 2Li^+$)

Esimerkki 17

Esimerkin 16 mukainen yhdiste $\rightarrow NaOSO_2O(CH_2)_6-R^1$
 25 0,5 g (0,83 mmol) esimerkin 16 mukaista yhdistettä
 liuotettiin 20 ml:aan dioksaania ja 7 ml:aan puolikonsen-
 troitua natriumhydroksidiliuosta ja seosta sekoitettiin
 kuusi tuntia huoneenlämpötilassa. Sitten seos tehtiin hap-
 pamaksi puolikonsentroidulla kloorivetyhapolla jäähdyttäen
 30 samalla jäällä sekä väkevöitiin vakuumissa. Jäännös puh-
 distettiin pylväskromatografisesti (silikageeli, etyyli-
 asetaatti/metanoli 3:1). Saatiin 254 mg (52 %) esimerkin
 17 mukaista yhdistettä.
 $C_{30}H_{51}NaO_9S$ (610), MS: 617 ($M + Li^+$), 601 ($M - Na^+ + 2Li^+$)

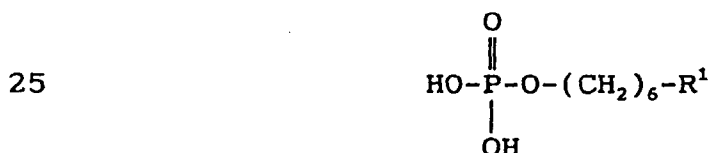
Esimerkki 18



10 Liuokseen, jossa oli 2,6 g (5,12 mmol) esimerkin 2
mukaista yhdistettä 20 ml:ssa pyridiiniä, lisättiin ti-
poittain 0 - 5 °C:ssa 15 ml fosforihappodifenyyliesteri-
kloridia ja seosta sekoitettiin kaksi tuntia huoneenlämpö-
tilassa. Seos kaadettiin 200 ml:aan jäävettä, siihen li-
sättiin samalla sekoittaen ja jäähdyttäen noin 15 ml väke-
vää rikkihappoa ja se uutettiin useita kertoja etyyliase-
taatilla. Orgaaninen faasi kuivattiin, väkevöitiin ja
15 jäännös puhdistettiin kromatografisesti (silikageeli, di-
kloorimetaani/metanoli 10:1). Saatiin 1,78 g (47 %) esi-
merkin 18 mukaista yhdistettä.

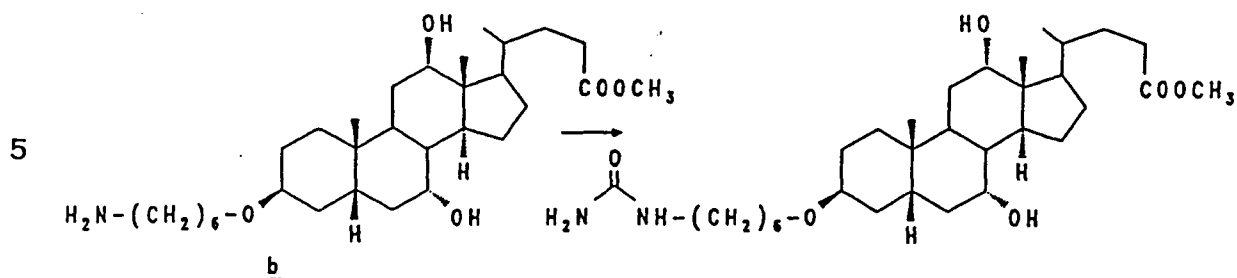
20 $\text{C}_{42}\text{H}_{61}\text{O}_9\text{P}$ (740), MS: 747 ($\text{M} + \text{Li}^+$)

Esimerkki 19



30 1 g (1,35 mol) esimerkin 18 mukaista yhdistettä
hydrogenoitiin 50 ml:ssa jäätikkää veitsenkärjellisen
kanssa palladiumia hillellä ravistusastiassa. Reaktion
jälkeen (noin neljä tuntia) katalyytti suodatettiin pois
ja suodos väkevöitiin. Jäännös puhdistettiin pylväskroma-
tografisesti (silikageeli, etyyliasetaatti/metanoli 2:1).
35 Saatiin 270 mg (34 %) esimerkin 19 mukaista yhdistettä.
 $\text{C}_{30}\text{H}_{53}\text{O}_9\text{P}$ (588), MS: 601 ($\text{M} - \text{H}^+ + 2\text{Li}^+$), 595 ($\text{M} + \text{Li}^+$)

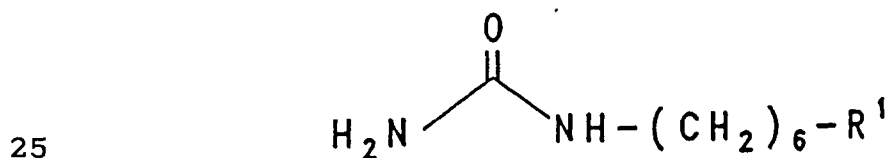
Esimerkki 20



10 2,24 g (4 mmol) amiinia b ja 324 mg (4 mmol) kaliumsyanaattia suspendoitiin 60 ml:aan vettä ja seos lämmitettiin kiehuvaan. Syntyi liuos, josta hetken kuluttua saostui kiintoaine. Seosta sekoitettiin 30 minuuttia kiehumälämpötilassa, jäähtyksen jälkeen seokseen lisättiin noin 40 ml vettä ja se tehtiin happamaksi laimealla suolahapolla. Seos uutettiin useita kertoja etyyliasetaatilla, orgaaninen faasi kuivattiin, väkevöitiin vakuuissa ja jäännös puhdistettiin kromatografisesti (silikageeli, etyyliasetaatti/metanoli 10:1). Saatiin 520 mg (23 %) esimerkin 20 mukaista yhdistettä.

20 $C_{32}H_{56}N_2O_6$ (564), MS: 571 ($M + Li^+$)

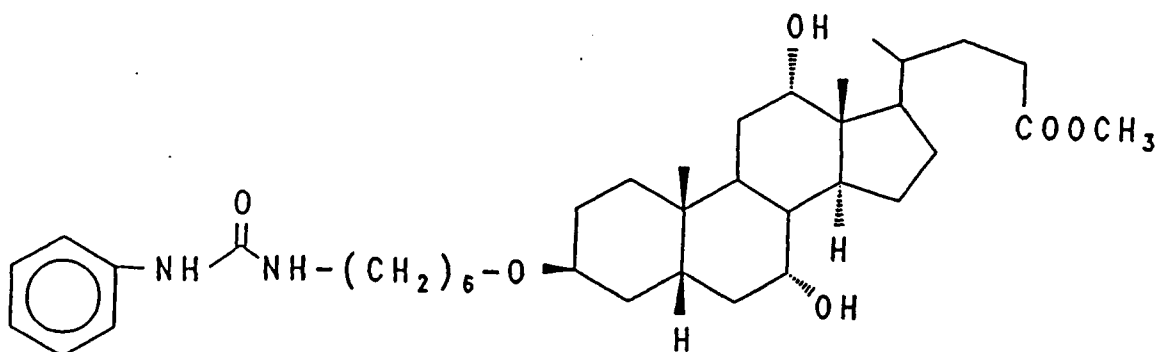
Esimerkki 21



30 450 mg (0,8 mmol) esimerkin 20 mukaista yhdistettä liuotettiin 10 ml:aan dioksaania, seokseen lisättiin 5 ml puolikonsentroitua natriumhydroksidiliuosta ja seosta sekoitettiin kuusi tuntia huoneenlämpötilassa. Reaktion jälkeen seos laimennettiin vedellä, se tehtiin happamaksi kloorivetyhapolla ja sitä sekoitettiin vielä tunnin ajan jäähauteessa. Seos imusuodatettiin, pestiin vedellä, jolloin vakuuikuivauksen jälkeen saatiin 430 mg (97 %) esimerkin 21 mukaista yhdistettä.

35 $C_{31}H_{54}N_2O_6$ (550), MS: 557 ($M + Li^+$)

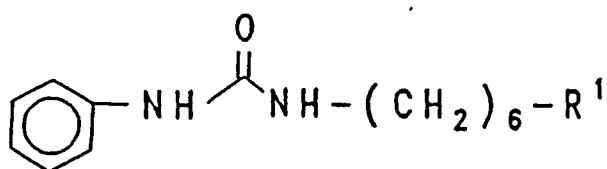
Esimerkki 22



1,04 g (2 mmol) amiinia b (esimerkki 20) liuotettiin 50 ml:aan kuivaa dikloorimetaania ja 28 ml:aan trietyyliamiinia ja seokseen lisättiin 2 ml fenyyli-isosyanaattia 5 ml:ssä dikloorimetaania. Seosta sekoitettiin kuusi tuntia huoneenlämpötilassa ja sitä käsiteltiin esimerkin 16 mukaisella tavalla tekemällä vesifaasi happamaksi. Pylväskromatografian jälkeen (silikageeli, dikloorimetaani/metanoli 10:1) saatiin 6 540 mg (51 %) esimerkin 22 mukaista yhdistettä.

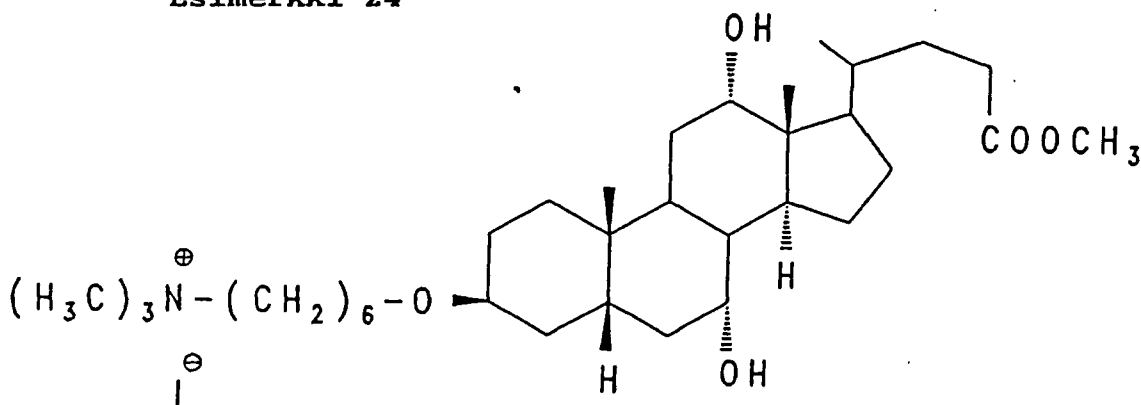
20 $C_{38}H_{60}N_2O_6$ (640), MS: 647 ($M + Li^+$)

Esimerkki 23



$C_{37}H_{58}N_2O_6$ (626), MS: 633 ($M + Li^+$)

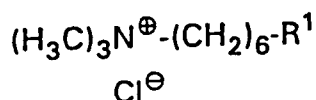
Esimerkki 24



2,08 g (4 mmol) amiinia b, 10 ml tri-isobutyyliamiinia ja 5 ml jodimetaania liuotettiin 50 ml:aan asetonitriiliä ja seos lämmitettiin kiehuvaaksi kahden tunnin ajan. Kaikki haihtuvat komponentit poistettiin vakuuissa ja jäännös puhdistettiin kromatografisesti (silikageeli, dikloorimetaani/metanoli 10:1). Saatiin 1,2 g (43 %) esimerkin 24 mukaista yhdistettä.

$C_{34}H_{62}INO_5$ (691), MS (FAB, 3-NBA): 564 ($M - I^-$)

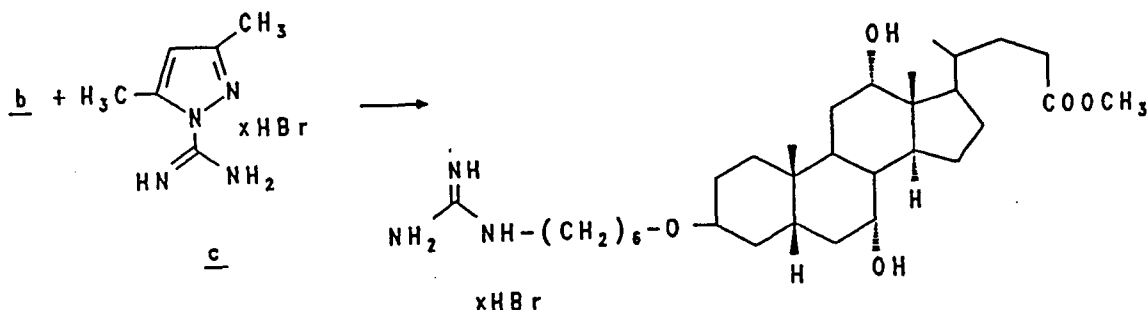
Esimerkki 25



Esimerkin 24 mukaisesta yhdisteestä valmistettiin esimerkin 21 mukaisella tavalla esimerkin 25 mukainen yhdiste. Raakatuotteen puhdistus tapahtui keskipaine-kromatografialla RP-8-silikageelillä (metanoli/vesi 7:3).

$C_{33}H_{60}ClNO_5$ (585), MS (FAB, 3-NBA): 550 ($M - Cl^-$)

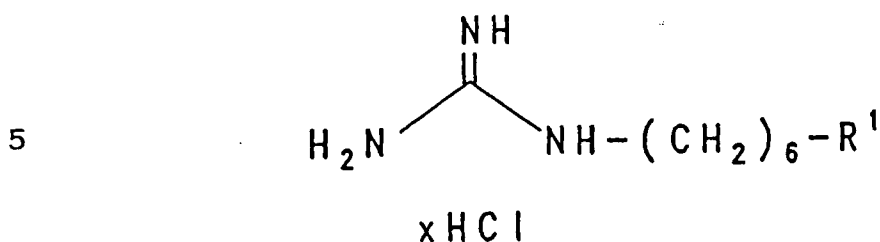
Esimerkki 26



1,04 g (2 mmol) amiinia b ja 276 mg (2 mmol) pyrat-solia c refluksoitiiin 10 tuntia 40 ml:ssa kuivaa asetonitriiliä. Kun seos oli jäähtynyt ja siihen oli lisätty eetteriä muodostui saostuma, joka imusuodatettiin talteen ja pestiin kuivalla eetterillä. Kuivauksen jälkeen saatiin 450 mg esimerkin 26 mukaista yhdistettä.

$C_{32}H_{58}BrN_3O_5$ (643), MS: 570 ($M - HBr + Li^+$), 564 ($M - Br^-$)

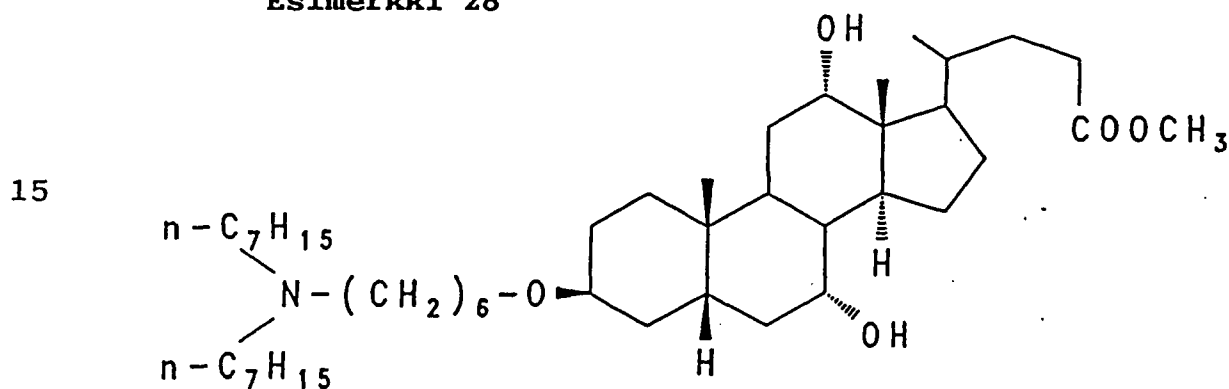
Esimerkki 27



Valmistettiin esimerkin 21 mukaisella tavalla.

10 $\text{C}_{31}\text{H}_{56}\text{ClN}_3\text{O}_5$ (585), MS: 556 ($\text{M} - \text{HCl} + \text{Li}^+$), 550 ($\text{M} - \text{Cl}^-$)

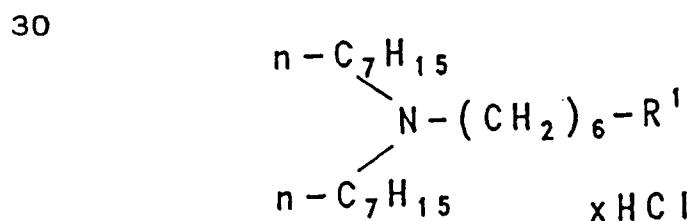
Esimerkki 28



20 1,0 g (1,9 mmol) amiinia b, 265 mg natriumsyaani-
boorihydridiä ja 610 mg heptanaalia sekoitettiin 10 ml:ssa
kuivaa metanolia 48 tuntia huoneenlämpötilassa. Seos haih-
dutettiin vakuumissa, jäännös jaettiin etyyliasetaatin ja
25 kyllästetyn natriumvetykarbonaattiliuoksen välillä ja or-
gaanisen faasin jäännös puhdistettiin kromatografisesti.
Pienen monoheptyyliaminojohdannais määrän lisäksi saatiin
650 mg (49 %) esimerkin 28 mukaista yhdistettä.

$\text{C}_{45}\text{H}_{83}\text{NO}_5$ (718), MS: 725 ($\text{M} + \text{Li}^+$)

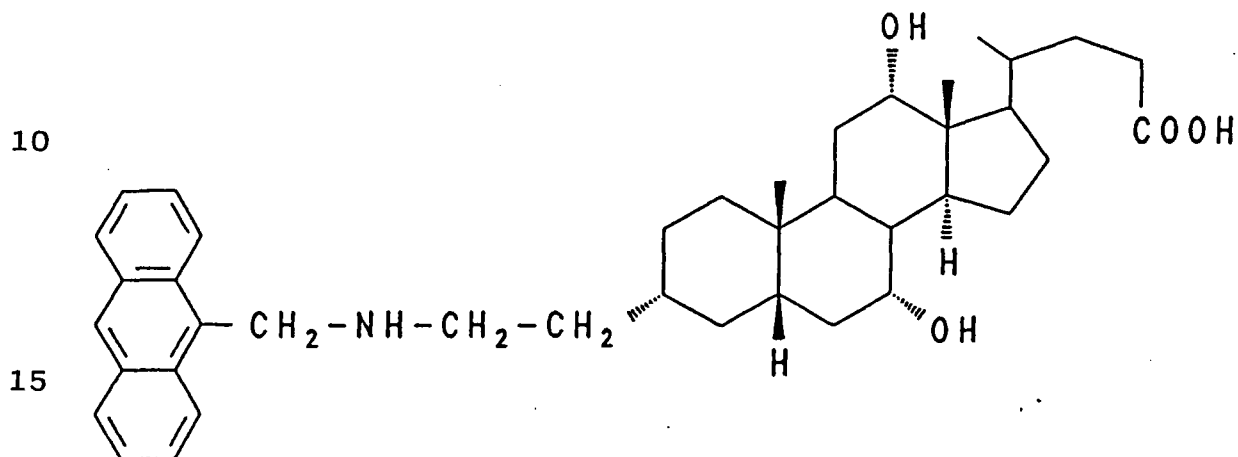
Esimerkki 29



Valmistettiin esimerkin 21 mukaisella tavalla. Kun seos oli tehty happamaksi dekantoitiin vesifaasi öljymäisestä raakatuotteesta ja jäännös sekoitettiin etyyliasettaatin kanssa, imusuodatettiin sitten ja kuivattiin.

5 $C_{44}H_{82}ClNO_5$ (740), MS: 711 ($M - HCl + Li^+$), 705 ($M - Cl^-$)

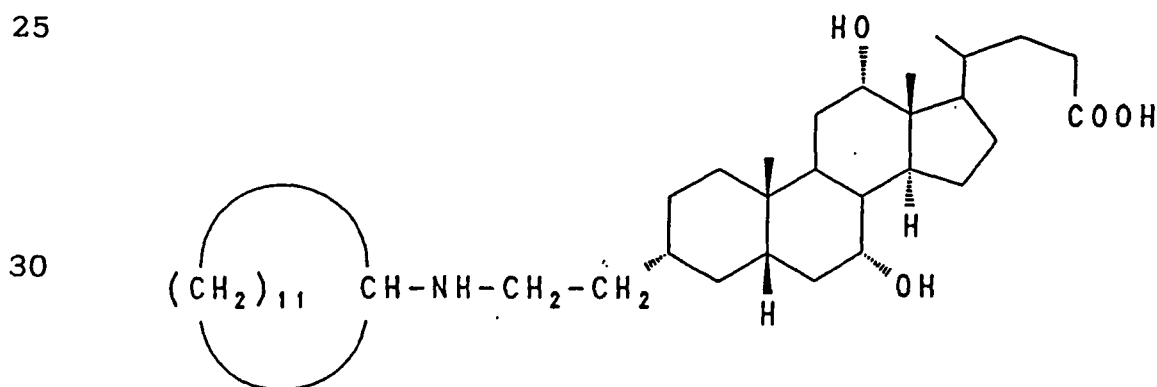
Esimerkki 30



Valmistettiin esimerkin 28 ja esimerkin 29 mukaisella tavalla aminoimalla pelkistävästi antraseeni-9-karb-aldehydiä 3 α -(aminoetyyli)-7 α ,12 α -dihydroksi-24-kolaani-happometyyliesterillä (d) ja saippuoimalla sen jälkeen emäksisesti.

20 $C_{41}H_{55}NO_4$ (625), MS: 632 ($M + Li^+$)

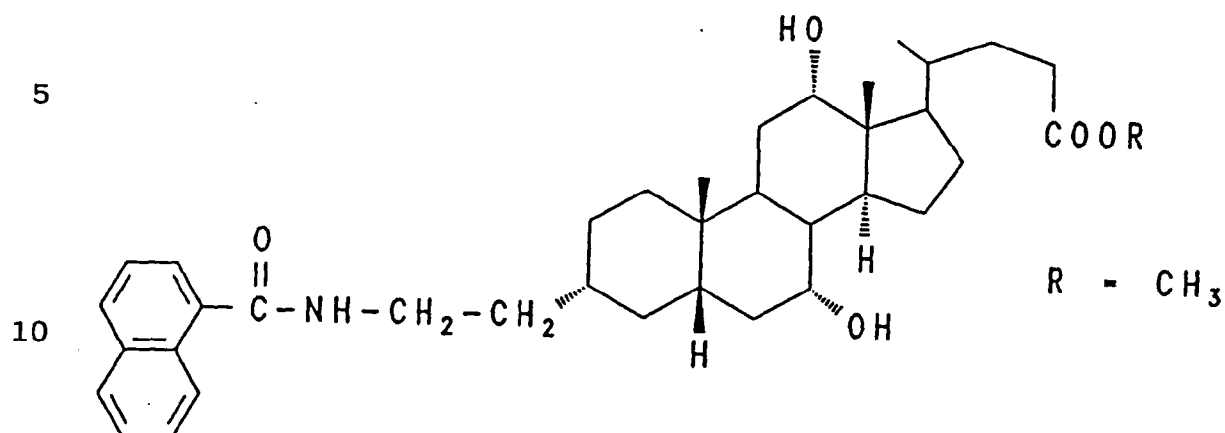
Esimerkki 31



35 Valmistettiin esimerkin 30 mukaisella tavalla käyttämällä syklo-dodekanonia karbonyyliyhdisteenä.

$C_{38}H_{87}NO_4$ (602), MS: 609 ($M + Li^+$)

Esimerkki 32

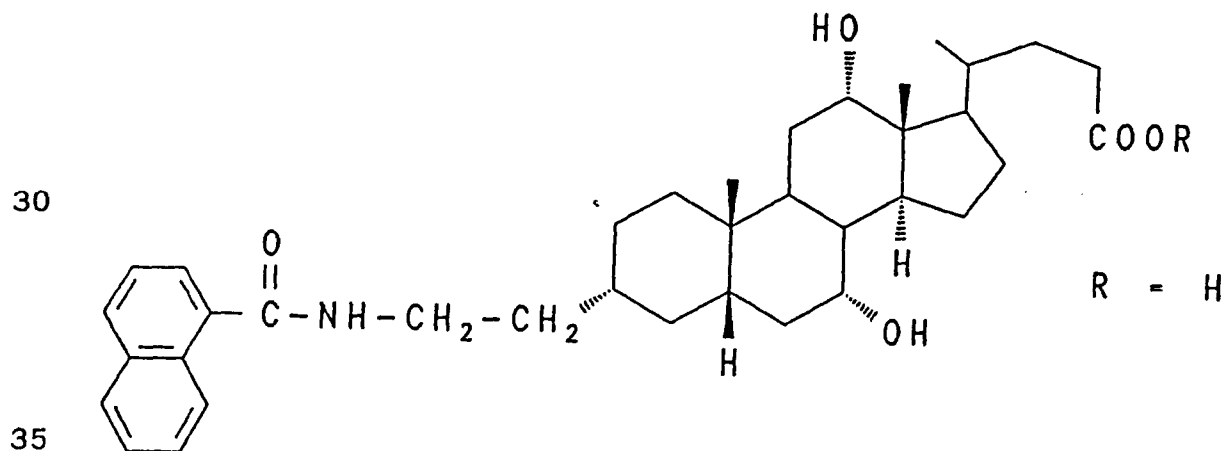


15 0,9 g:aan (2 mmol) amiinia d ja 0,6 ml:aan trietyyliamiinia 20 ml:ssa kuivaa dikloorimetaania lisättiin jäähdyttämällä samalla jäällä 0,38 g (2 mmol) naftoyylikloridia 5 ml:ssa dikloorimetaania. Seosta sekoitettiin tunnin ajan 0 °C:ssa ja se jätettiin seisomaan yöksi. Siihen lisättiin vettä, se tehtiin happamaksi ja uutettiin useita

20 kertoja dikloorimetaanilla. Orgaanisen faasin jäännös puhdistettiin kromatografisesti (silikageeli, etyyliasetatti/sykloheksaani 3:1). Saatiin 1 g (83 %) esimerkin 32 mukaista yhdistettä.

$C_{38}H_{53}NO_5$ (603), MS: 610 ($M + Li^+$)

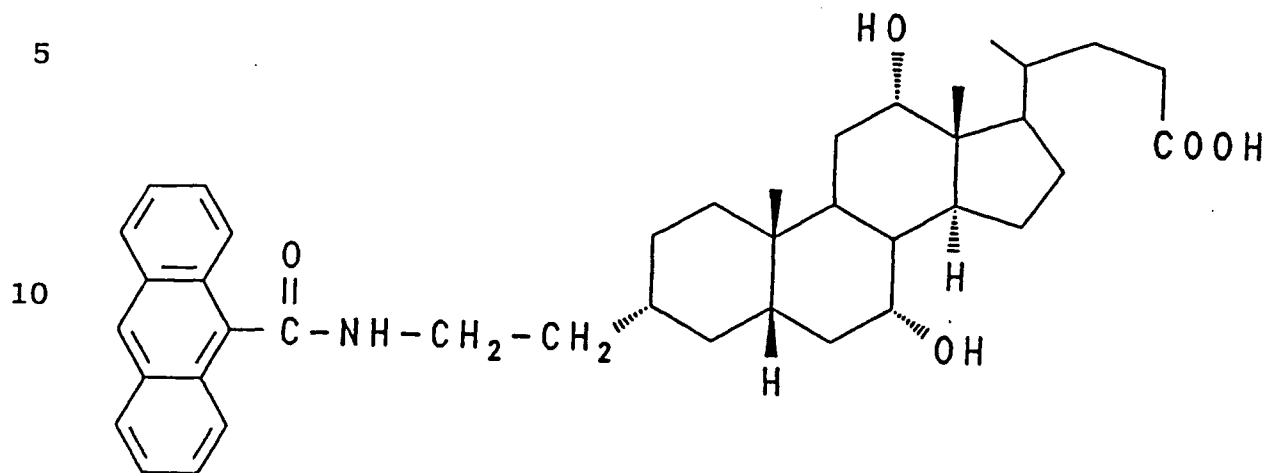
Esimerkki 33



Valmistettiin esimerkin 21 mukaisella tavalla.

$C_{37}H_{51}NO_5$ (589), MS: 596 ($M + Li^+$)

Esimerkki 34

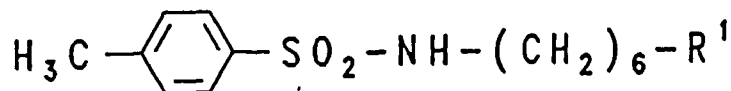


15 Valmistettiin esimerkin 32 ja esimerkin 33 mukaisella tavalla käyttämällä antraseeni-9-karboksyylihappokloridia.

$C_{41}H_{53}NO_5$ (639), MS: 646 ($M + Li^+$)

Esimerkki 35

20

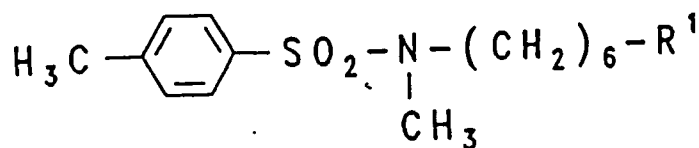


25 Valmistettiin esimerkin 34 mukaisella tavalla käyttämällä p-tolueenisulfonihappokloridia ja amiinia b

$C_{37}H_{59}NO_7S$ (661), MS: 668 ($M + Li^+$)

Esimerkki 36

30



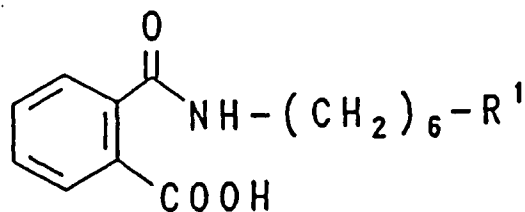
35 Valmistettiin esimerkin 35 mukaisella tavalla. Väli-
lituotteena saatu metyyliesteri metyloitiin deprotonoinnin
jälkeen jodimetaanilla dimetyyliformamidissa huoneenlämpö-

tilassa. Sitten saippuoitiin emäksisesti esimerkin 35 mukaisella tavalla.

$C_{38}H_{61}NO_7S$ (675), MS: 688 ($M - H^+ + 2Li^+$), 682 ($M + Li^+$)

Esimerkki 37

5



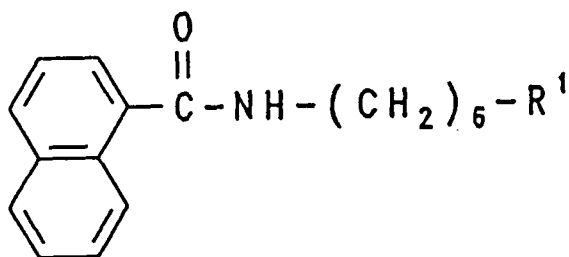
10

Valmistettiin esimerkin 34 mukaisella tavalla käyttämällä o-ftaalihappoanhydridia ja amiinia b.

$C_{38}H_{57}NO_8$ (655), MS: 668 ($M - H^+ + 2Li^+$), 662 ($M + Li^+$)

Esimerkki 38

15



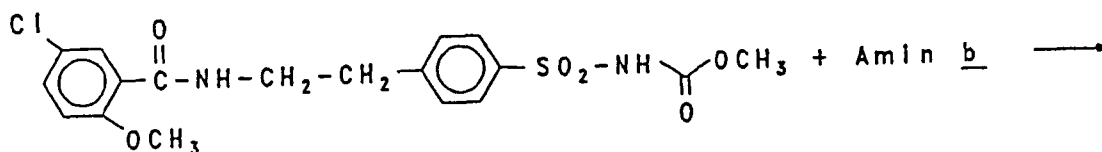
20

Valmistettiin esimerkin 32 ja esimerkin 33 mukaisella tavalla käyttämällä amiinia b.

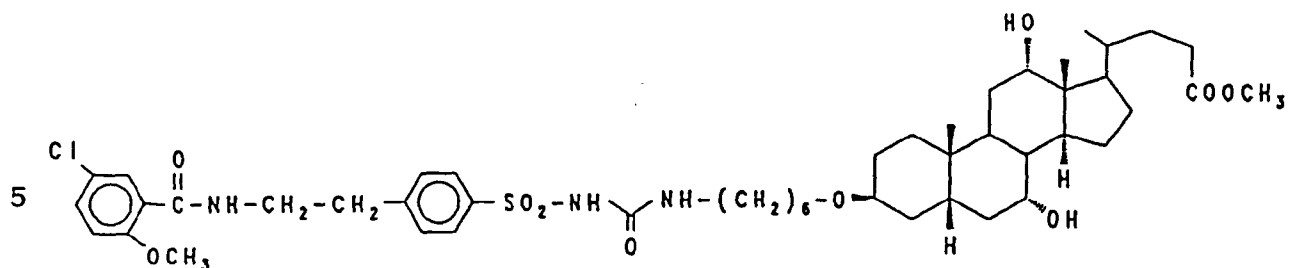
$C_{41}H_{59}NO_6$ (661), MS: 668 ($M + Li^+$)

25

Esimerkki 39

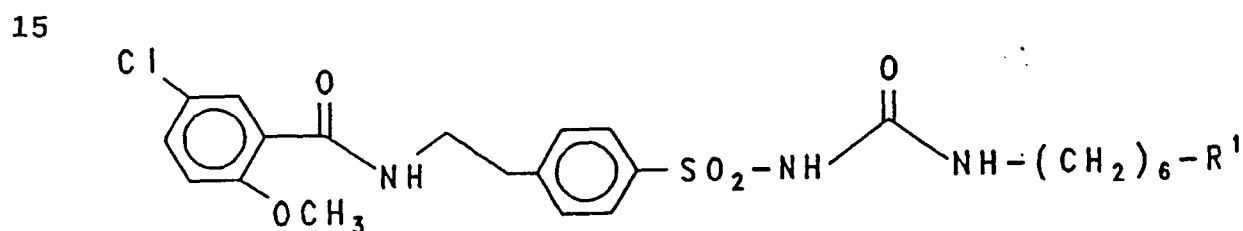


30



426 mg (1 mmol) uretaania ja 782 mg (15 mmol) amiinia b refluksoitiin 50 ml:ssa dioksaania neljä tuntia. Sitten seos väkevöitiin ja jäännös puhdistettiin kromatografisesti (silikageeli, dikloorimetaani/metanoli 10:1). Saatiin 540 mg (59 %) esimerkin 39 mukaista yhdistettä. $C_{48}H_{70}ClN_3O_{10}S$ (915), MS: 922 ($M + Li^+$)

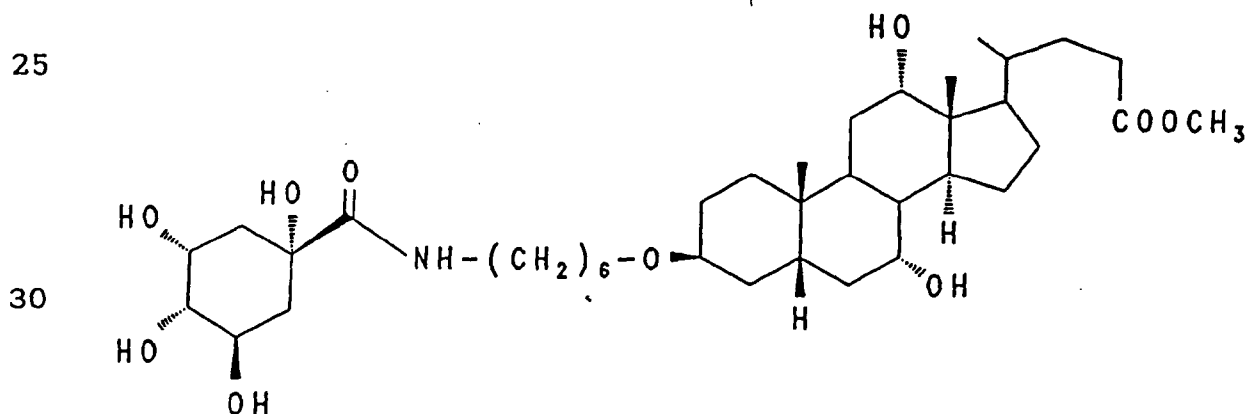
Esimerkki 40



20

Valmistettiin esimerkin 21 mukaisella tavalla. $C_{47}H_{68}ClN_3O_{10}S$ (901), MS (elektrospray): 902 ($M + H^+$)

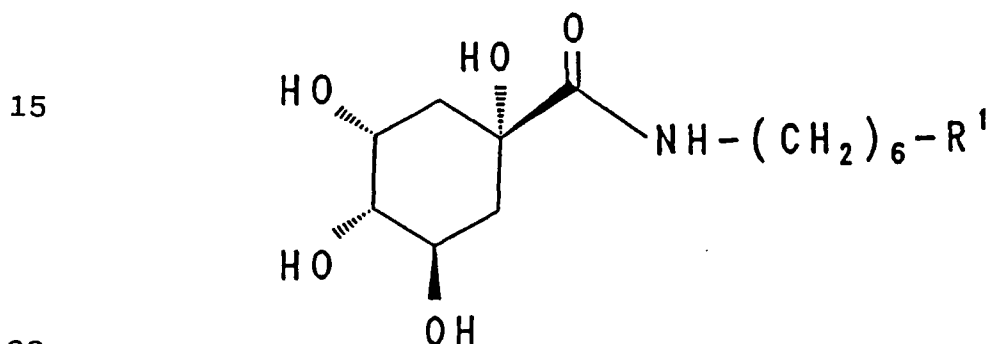
Esimerkki 41



35 Liuokseen, jossa oli 1,56 g (3 mmol) amiinia b, 576 mg (3 mmol) kiinahappoa ja 490 mg (83,6 mmol) hydrok-

sibentsotriatsolia 100 ml:ssa tetrahydrofuraania lisättiin 750 mg (3,6 mmol) disykloheksyylikarbodi-imidiä. Seosta sekoitettiin 40 tuntia huoneenlämpötilassa. Muodostunut virtsa-aine suodatettiin pois, liuos väkevöitiin ja jäännös liuotettiin etyyliasetaattiin. Liuos pestiin kyllästetyllä natriumvetykarbonaattiliuoksella, 2 N sitruunahappoliuoksella, kyllästetyllä natriumvetykarbonaattiliuoksella ja vedellä. Orgaanisen faasin jäännös puhdistettiin kromatografisesti (silikageeli, etyyliasetaatti/metanoli 5:1).
 5 Saatiin 1,2 g (58 %) esimerkin 41 mukaista yhdistettä.
 10 $C_{38}H_{65}NO_{10}$ (695), MS: 702 ($M + Li^+$)

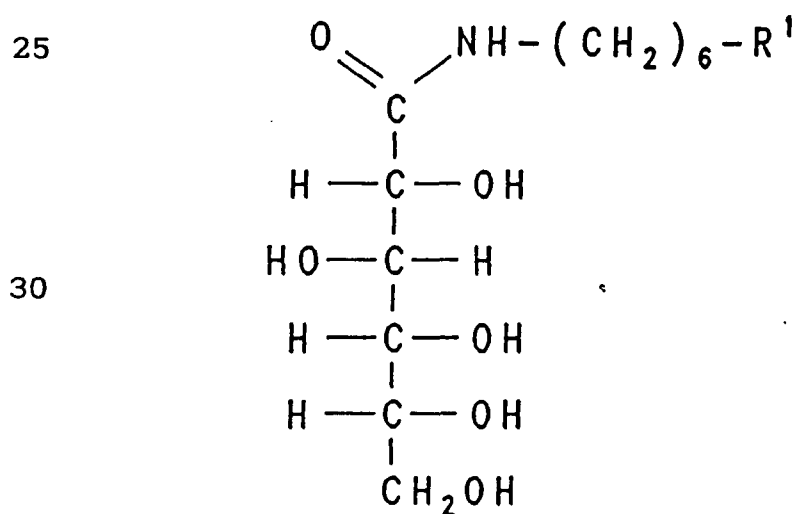
Esimerkki 42



Valmistettiin esimerkin 21 mukaisella tavalla.

$C_{37}H_{63}NO_{10}$ (681), MS (FAB, 3-NBA): 682 ($M + H^+$)

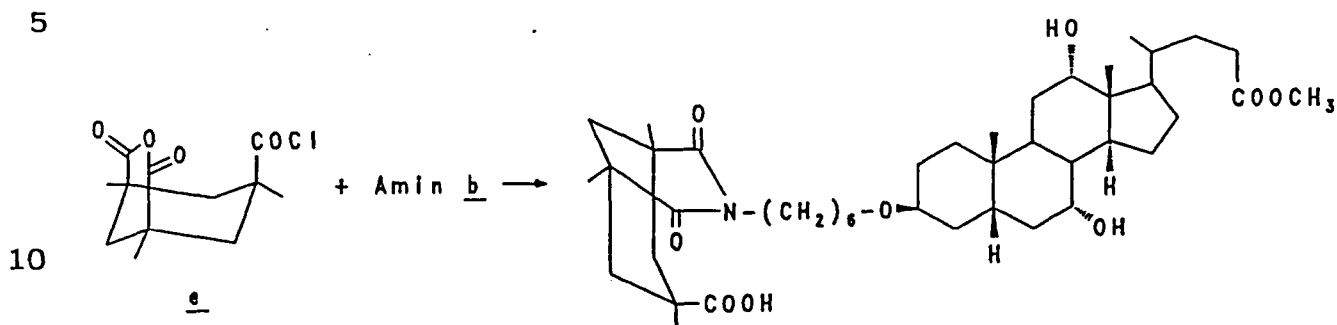
Esimerkki 43



Valmistettiin esimerkin 41 ja esimerkin 42 mukaisella tavalla käyttämällä glukonihappoa.

$C_{36}H_{63}NO_{11}$ (685), MS: 714 ($M - H^+ + Li^+ + Na^+$)

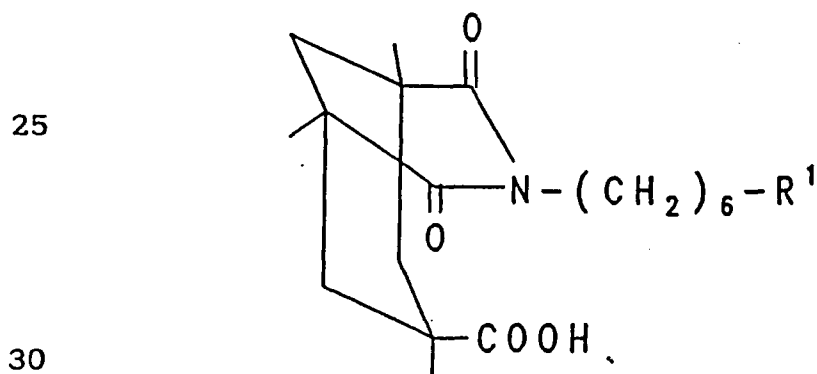
Esimerkki 44



1,04 g (4 mmol) happokloridia e, 2,1 g (4 mmol) amiinia b ja veitsenkärjellinen 4-dimetyyliaminopyridiniä sekoitettiin kuusi tuntia huoneenlämpötilassa 40 ml:ssa kuivaa pyridiiniä. Kun seos oli seissyt yön yli huoneenlämpötilassa se väkevöitiin vakuuissa. Esimerkin 44 mukainen yhdiste eristettiin kromatografisen puhdistuksen jälkeen (silikageeli, dikloorimetaani/metanoli 20:1).

20 $C_{43}H_{69}NO_9$ (743), MS: 750 ($M + Li^+$)

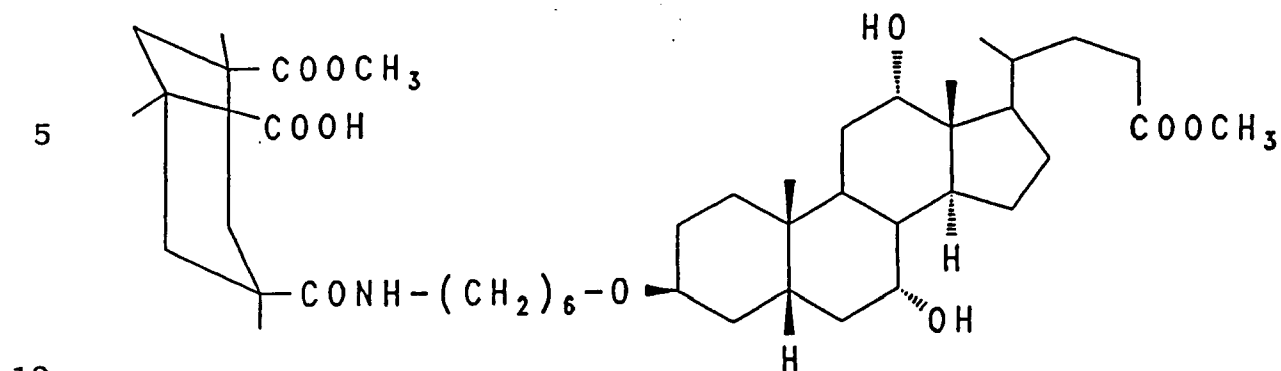
Esimerkki 45



Valmistettiin esimerkin 21 mukaisella tavalla.

$C_{42}H_{67}NO_9$ (729), MS: 742 ($M - H^+ + 2Li^+$), 736 ($M + Li^+$)

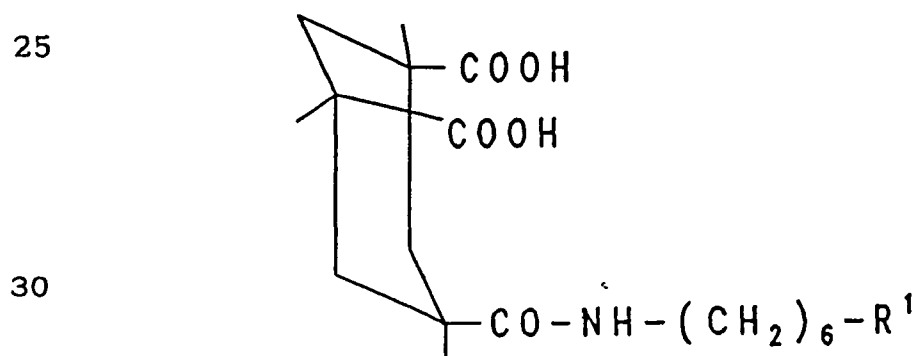
Esimerkki 46



1,3 g:aan (5 mmol) happokloridia e ja 0,8 ml:aan trietyyliamiinia 520 ml:ssa kuivaa dikloorimetaania lisättiin jäähdyttäen samalla jäällä 2,6 g (5 mmol) amiinia b dikloorimetaanissa ja seosta sekoitettiin tunnin ajan 0 °C:ssa. Sitten seokseen lisättiin metanoliylimäärä, se sai lämetä huoneenlämpötilan, vettä lisättiin ja seos tehtiin happamaksi laimealla kloorivetyhapolla. Vesifaasi ravisteltiin useita kertoja dikloorimetaanilla. Jäännöksen kromatografisen puhdistuksen jälkeen (silikageeli, dikloorimetaani/metanoli 10:1) saatiin esimerkin 46 mukainen yhdiste.

$C_{44}H_{73}NO_{10}$ (775), MS: 783 ($M + Li^+$)

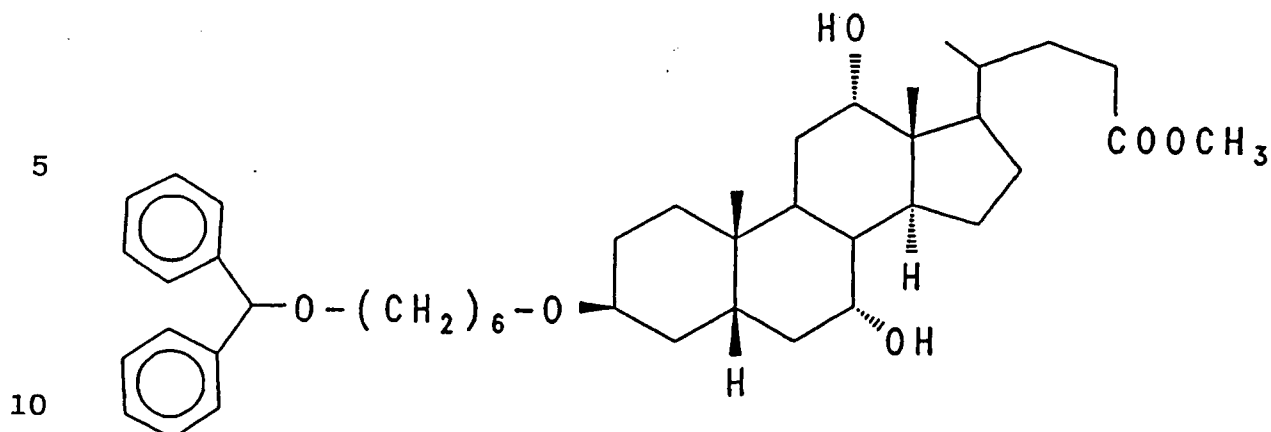
Esimerkki 47



Valmistettiin esimerkin 21 mukaisella tavalla.

$C_{42}H_{69}NO_{10}$ (747), MS: 760 ($M - H^+ + 2Li^+$), 754 ($M + Li^+$)

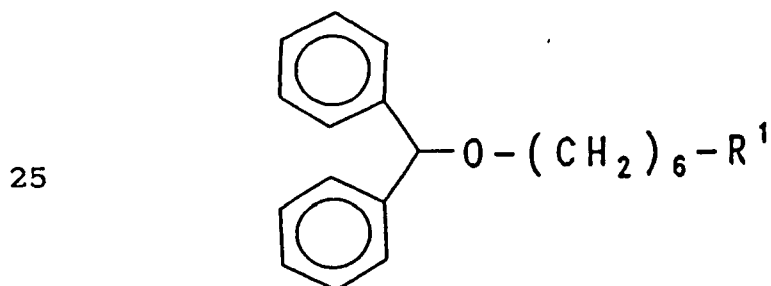
Esimerkki 48



3,14 g (6 mol) alkoholia a ($n = 6$) lämmitettiin yhdessä 3 ml:n kanssa ettyylidi-isopropyylimiinia ja 1,5 g:n kanssa difenyyylimetyyliibromidia 50 ml:ssa dimetyyliformamidia kahdeksan tuntia 100 °C:ssa. Esimerkin 48 mukainen yhdiste saatiin vesipohjaisen käsittelyn ja kromatografisen puhdistuksen jälkeen (silikageeli, dikloorime-

$C_{44}H_{64}O_6$ (688), MS: 695 ($M + Li^+$)

Esimerkki 49



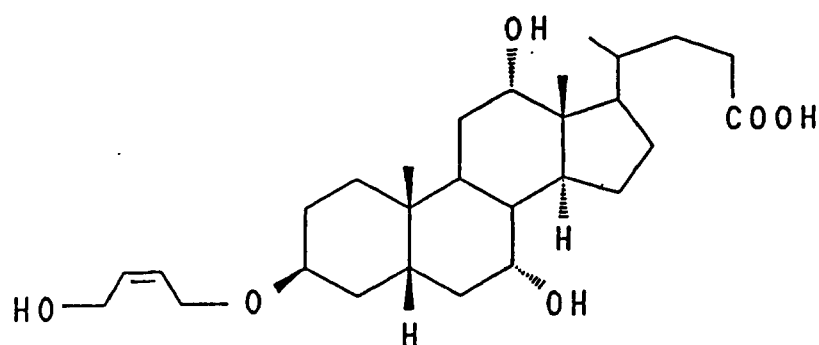
Valmistettiin esimerkin 21 mukaisella tavalla.

$C_{43}H_{62}O_6$ (674), MS: 681 ($M + Li^+$)

Esimerkin 1 mukaisella tavalla valmistettiin seuraavat yhdisteet 50 - 52 vastaavista sappihappoestereistä emäksisellä saippuoinnilla.

Esimerkki 50

5

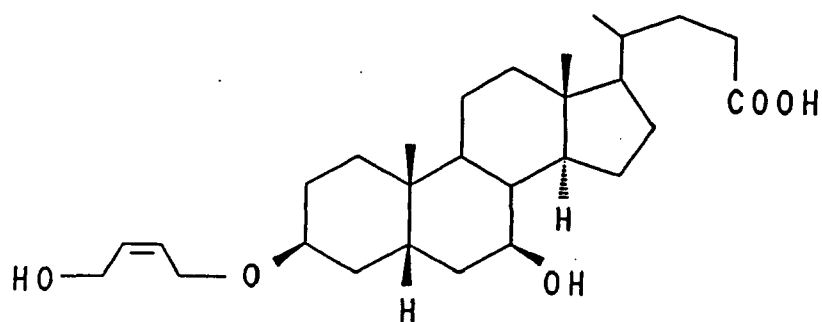


10

$C_{28}H_{46}O_6$ MP: 478, MS: 485 ($M + Li^+$)

Esimerkki 51

15

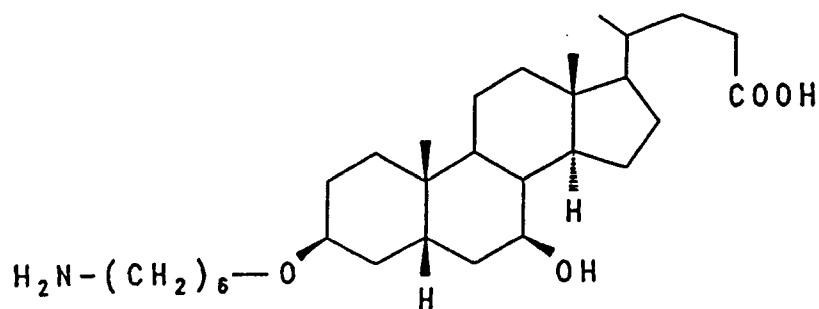


20

$C_{28}H_{46}O_5$ MP: 462, MS: 469 ($M + Li^+$)

Esimerkki 52

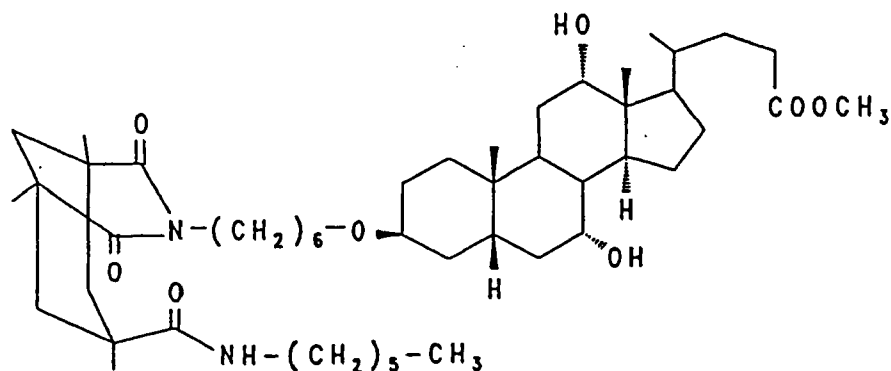
25



30

$C_{30}H_{53}NO_4$ MP: 491, MS: 498 ($M + H^+$)

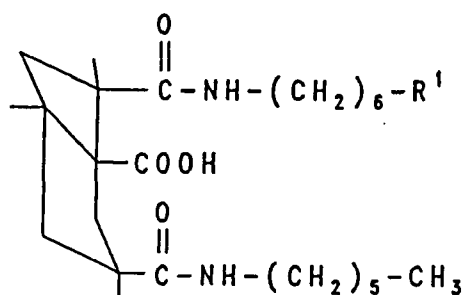
Esimerkki 53



Valmistettiin esimerkin 44 mukaisesta yhdisteestä ja n-heksyyliamiinista esimerkin 41 mukaisella tavalla käyttämällä 25 tunnin reaktioaikaa.

$C_{49}H_{82}N_2O_8$ (827), MS: 834 ($M + Li^+$)

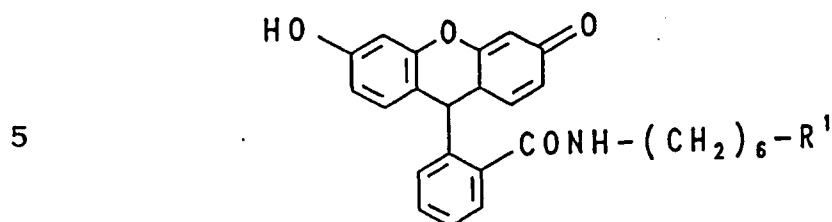
Esimerkki 54



170 mg esimerkin 53 mukaista yhdistettä liuotettiin 5 ml:aan dioksaania, seokseen lisättiin 1,5 ml puolikon-sentroitua natriumhydroksidiliuosta ja 25 ml vettä ja sitä sekoitettiin 12 tuntia huoneenlämpötilassa. Sameus suoda-tettiin pois, suodos tehtiin happamaksi laimealla kloori-vetyhapolla, sitä sekoitettiin vielä tunnin ajan ja synty-nyt saostuma imusuodatettiin talteen. Kuivauksen jälkeen saatiin 154 mg esimerkin 54 mukaista yhdistettä.

$C_{48}H_{82}N_2O_9$ (831), MS: 838 ($M + Li^+$)

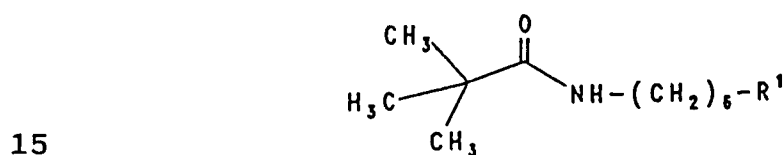
Esimerkki 55



Valmistettiin esimerkin 53 ja esimerkin 54 mukaisella tavalla fluoreskeinista ja amiinista b.

10 $C_{50}H_{63}NO_9$ (821), MS: 828 ($M + Li^+$)

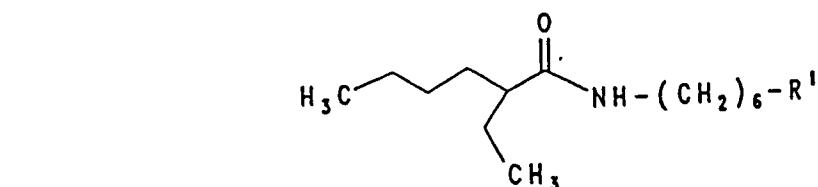
Esimerkki 56



Valmistettiin esimerkin 55 mukaisella tavalla pivaliinihaposta ja amiinista b.

$C_{35}H_{61}NO_6$ (591), MS: 598 ($M + Li^+$)

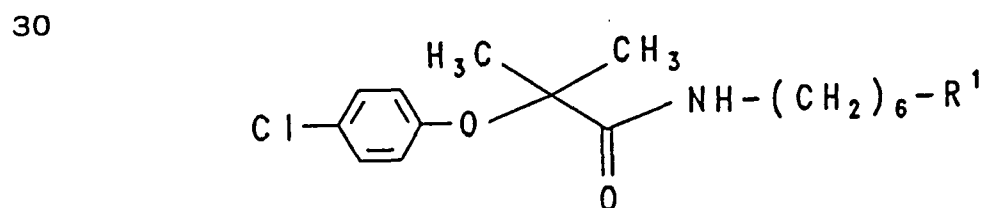
Esimerkki 57



Valmistettiin esimerkin 55 mukaisella tavalla 2-etyyliheksaanihaposta ja amiinista b.

$C_{38}H_{67}NO_6$ (633), MS: 640 ($M + Li^+$)

Esimerkki 58



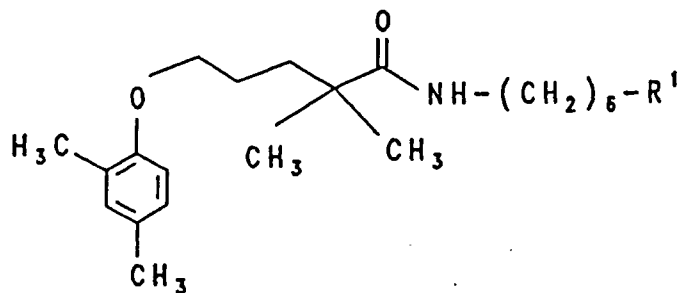
Valmistettiin esimerkin 55 mukaisella tavalla klo-
fibriinihaposta ja amiinista b.

$C_{40}H_{62}ClNO_7$ (703), MS: 710 ($M + Li^+$)

Esimerkki 59

5

10



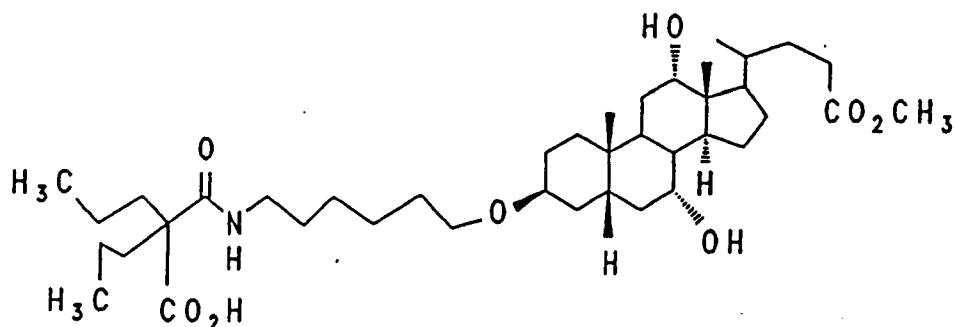
Valmistettiin esimerkin 55 mukaisella tavalla gem-
fibrosiilista ja amiinista b.

15

$C_{45}H_{73}NO_7$ (740), MS: 747 ($M + Li^+$)

Esimerkki 60

20



25

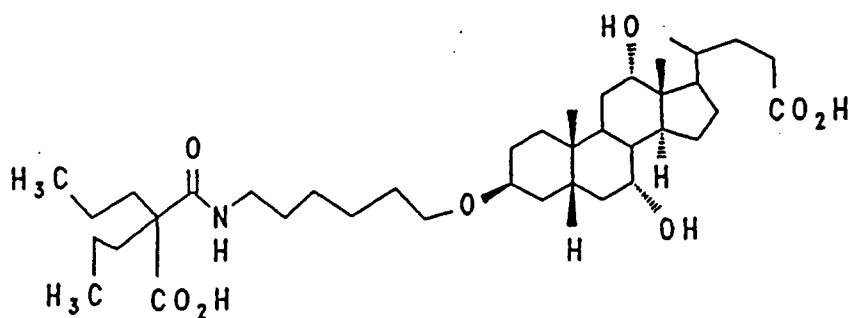
Valmistettiin 522 mg:sta amiinia b ja 94,1 mg:sta
di-n-propyyylimalonihappoa tetrahydrofuraanissa disyklehek-
syylikarbodiimidin ja hydroksibentsotriatsolin läsnä ol-
lessa. Eristäminen tapahtui 54 tunnin kuluttua. Saanto oli
69 %.

30

$C_{40}H_{69}NO_8$ (690), MS: 697 ($M + Li^+$)

Esimerkki 61

5



10

250 mg esimerkin 60 mukaista yhdistettä saipuoitettiin dioksaanissa 2 N natriumhydroksidiliuoksella. Vesipohjaisen käsittelyn ja pylväskromatografisen puhdistuksen jälkeen (silikageeli, etyyliasetaatti/metanoli 10:1) saatiin 160 mg esimerkin 61 mukaista yhdistettä.

15

$C_{39}H_{67}NO_8$ (676), MS: 677 ($M + 1$)

Patenttivaatimukset:

1. Menetelmä monomeeristen kaavan I mukaisten sappihappojohdannaisien valmistamiseksi

5

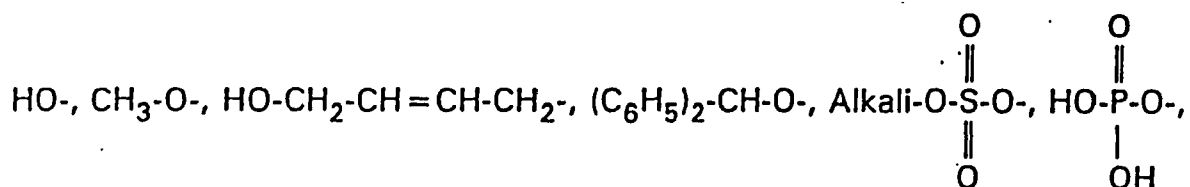


jossa

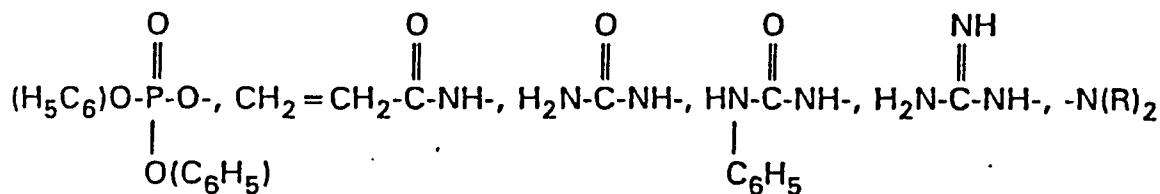
GS merkitsee sappihappotähdettä, jossa on hapan funktio sivuketjussa, tai tämän suolaa

10 X on kovalenttinen sidos tai siltaryhmä, jonka kaava on $(CH_2)_n$, jolloin $n = 1 - 10$, jolloin alkyleeniketjussa on 1 - 3 happiatomia, NH- tai NH(C=O)-ryhmää, jolloin GS voi olla mielivaltaisesti sidottu X:n kautta, ja
Z on

15



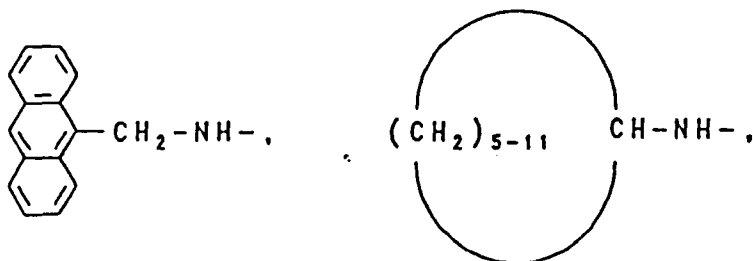
20



25

tai $-N^+(R)_3$, jolloin R kulloinkin on C_{1-7} -alkyyli tai $H_2N(CH_2)_6-$,

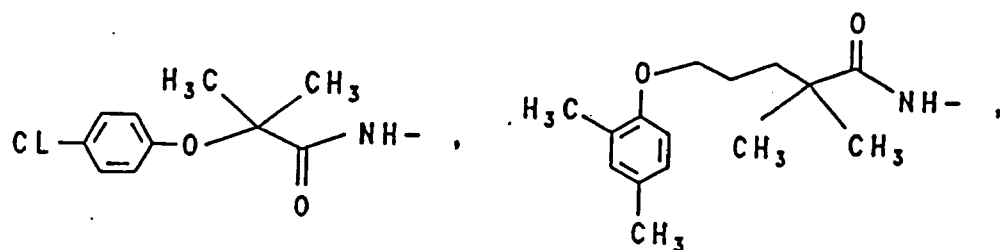
30



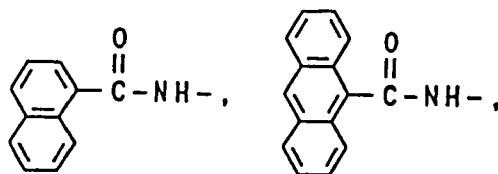
35

(C_{1-10}) -alkyyli(C=O)NH, jolloin alkyyliosaa mahdollisesti voi olla substituoitu COOH-ryhmällä,

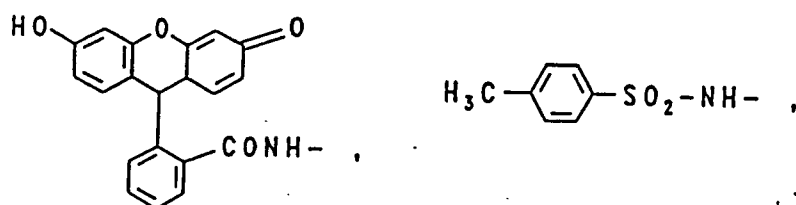
5



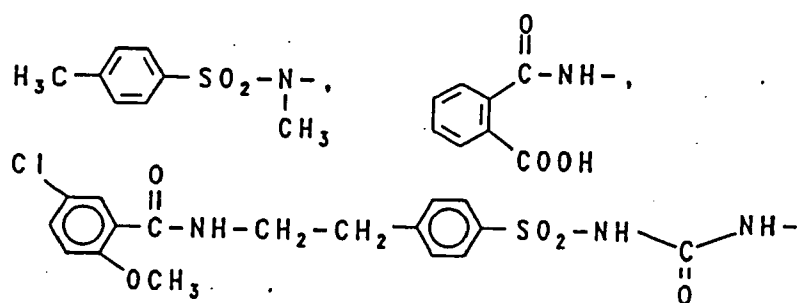
10



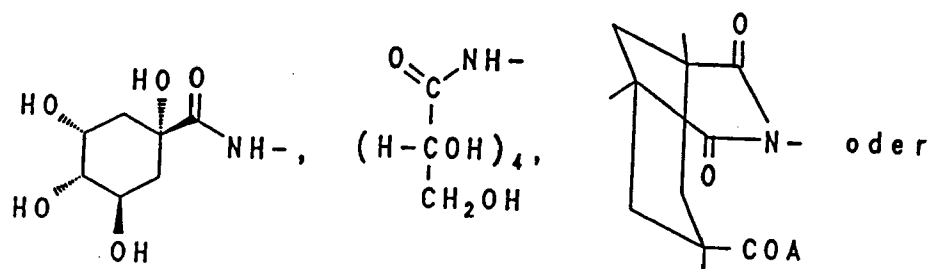
15



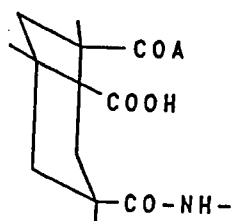
20



25



30



35

jolloin A kulloinkin on OH tai $\text{NH}(\text{C}_{1-10})$ -alkyyli, t u n n e t t u siitä, saippuoidaan että kaavan II mukainen yhdiste

5

Z-X-GSE (II)

jossa GSE merkitsee sappihappojohdannaista, jolla on esterifunktio sivuketjussa, ja jossa Z ja X merkitsevät samaa kuin kaavassa I.

10

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan kaavan I mukaisia sappihappojohdannaisia, joissa GS on kytketty X:n kanssa 3-asemassa, jolloin kytkentä tapahtuu α - tai β -asemassa.

15

3. Menetelmä lääkeaineen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että patenttivaatimuksen 1 mukainen sappihappojohdannainen saatetaan sopivaan antomuotoon.

20

4. Menetelmä hypolipideemisen lääkeaineen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että patenttivaatimuksen 1 mukainen sappihappojohdannainen saatetaan sopivaan antomuotoon.

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar

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

FI _____

CH _____

DE _____

DK _____

FR _____

GB _____

NO _____

SE _____

US _____

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

EP -A- 489483 (vast. FI-hak. 915719) /¹/₂
EP-A-417725 (vast. FI-hak. 904497 / FI-B-105155)

WO

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

21.7.2000

TLX

Allekirjoitus