



F1000093006B



SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(B) (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLAGGNINGSSKRIFT

93006

C (45) Patentti myönnetty
Patent beviljat 10 00 100 0

(51) Kv.1k.5 - Int.cl.5

C 07D 209/54, 209/96, 221/20

(21) Patenttihakemus - Patentansökning	901530
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	27.03.90
(24) Alkupäivä - Löpdag	27.09.88
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	27.03.90
(44) Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. - Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	31.10.94
(86) Kv. hakemus - Int. ansökan	PCT/US88/03323
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet	
28.09.87 US 101704 P	13.09.88 US 244229 P

(71) Hakija - Sökande

1. Smithkline Beckman Corporation, One Franklin Plaza, Philadelphia, Pa. 19103, USA, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Badger, Alison Mary, 56 Parkridge Drive, Bryn Mawr, Pa. 19010, USA, (US)
2. Cheeseman, Elaine Nicholas, 1050 Edwin Drive, Phoenixville, Pa. 19432, USA, (US)
3. DiMartino, Michael John, 3809 Millbrook Place, Philadelphia, Pa. 19154, USA, (US)
4. Dorman, James Woodrow, 700 E. Marshall Street, Apartment B203, West Chester, Pa. 19380, USA, (US)
5. Mirabelli, Christopher Kevin, 111 N. Ship Road, Exton, Pa. 19341, USA, (US)
6. Picker, Donald Harold, 405 Merwyn Road, Merion, Pa. 19066, USA, (US)
7. Schwartz, David Aaron, 122 Princeton Road, Exton, Pa 19341, USA, (US)

(74) Asiamies - Ombud: Berggren Oy Ab

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Menetelmä immunomoduloivien atsaspiraaniin valmistamiseksi
Förfarande för framställning av immunomodulerande azaspiraner

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Immunomoduloivat atsaspiraanit
Farmaseuttinen koostumus, joka käsittää farmaseuttisesti hyväksyttävän kantaja- tai liuotusaineen ja tehoavan määrän atsaspiraanianalogia, immunomodulaation tarpeessa olevan eläimen hoitomenetelmä, joka käsittää sen, että tälle eläimelle annetaan tehoava määrä atsaspiraani johdannaista, ja tietyt atsaspiraani johdannaiset.

Immunomodulatoriska azaspiraner
En farmaceutisk komposition innefattande en farmaceutiskt acceptabel bärare eller utspädningsmedel och en effektiv mängd av ett azaspiranderivat, ett förfarande för behandling av ett djur i behov av immunomodulation som omfattar det att man till ett sådant djur administrerar en effektiv mängd av ett azaspiranderivat, och vissa azaspiranderivat.

Menetelmä immunomoduloivien atsaspiraaniin valmistamiseksi

5

Tämä keksintö liittyy menetelmään metallia sisältämättömän spirogermaniumanalogin valmistamiseksi.

10

Geschickter et al., US- patenttijulkaisu 4 468 393, julkaistu 28. elokuuta 1984, esittävät patenttivaatimuksen niveltulehduksen hoitomenetelmästä, jossa käytetään useita eri germaniumia sisältäviä spirogermaniumanalogeja, joihin kuuluvat:

15

N-(3-dimetyyliaminopropyyli)-2-atsa-8,8-dimetyyli-8-germaniumspiro[4,5]dekaani;

N-(3-dimetyyliaminopropyyli)-2-atsa-8,8-dietyyli-8-germaniumspiro[4,5]dekaani;

20

N-(3-dimetyyliaminopropyyli)-2-atsa-8,8-dipropyyli-8-germaniumspiro[4,5]dekaani ja

N-(3-dimetyyliaminopropyyli)-2-atsa-8,8-dibutyyli-8-germaniumspiro[4,5]dekaani.

25

Tenoso et al., US-patenttijulkaisu 4 654 333, julkaistu 31. maaliskuuta 1987, esittää patenttivaatimuksen multippeliskleroosin hoitomenetelmästä, joka käsittää sen, että tätä tautia sairastavalle potilaalle annetaan multippeliskleroosin hoidossa tehoava määrä spirogermaniumia, joka on

30

N-(3-dimetyyliaminopropyyli)-2-atsa-8,8-dimetyyli-8-germaniumspiro[4:5]dekaani;

N-(3-dimetyyliaminopropyyli)-2-atsa-8,8-dietyyli-8-germaniumspiro[4:5]dekaani;

N-(3-dimetyyliaminopropyyli)-2-atsa-8,8-dipropyyli-8-germaniumspiro[4:5]dekaani tai

5 N-(3-dimetyyliaminopropyyli)-2-atsa-8,8-dibutyyli-8-germaniumspiro[4:5]dekaani.

Rice et al., (1973) J. Heterocycl. Chem., 10(5) 731 - 735
(Rice I), kuvaavat N-(2-dimetyyliaminopropyyli)-8,8-dimetyyli-2-atsaspiro[4,5]dekaanin, N-(2-dimetyyliaminopropyyli)-8,8-dietyyli-2-atsaspiro[4,5]dekaanin, N-(3-dimetyyliaminopropyyli)-9,9-dimetyyli-3-atsaspiro[5,5]undekaanin ja N-(3-dimetyyliaminopropyyli)-9,9-dietyyli-3-atsaspiro[5,5]undekaanin synteesit. Julkaisussa Rice I todetaan, että
15 näiden amiinien biologinen arviointi osoitti syöpäsolun kasvun merkittävää estymistä kudosviljelmänä kasvatetuissa ihmisen syöpäsoluissa. Julkaisussa Rice I ei ole kuvausta eikä siinä esitetä ehdotusta siitä, että tällaisilla amiineilla on niveltulehdusta ehkäisevää aktiivisuutta.

20

Rice et al., (1973) J. Heterocycl. Chem., 10(5) 737 - 741
(Rice II) kuvaavat N-(2-dimetyyliaminopropyyli)-8,8-dimetyyli-8-sila-2-atsaspiro[4,5]dekaanin ja N-(3-dimetyyliaminopropyyli)-9,9-dimetyyli-9-sila-3-atsaspiro[5,5]undekaanin
25 synteesit ja toteavat lisäksi, että näiden yhdisteiden biologinen arviointi osoitti solutoksista vaikutusta kudosviljelmässä kasvatettuja ihmisen syöpäsoluja vastaan. Julkaisussa Rice II ei ole kuvausta eikä siinä esitetä ehdotusta siitä, että tällaisilla yhdisteillä on niveltulehdusta ehkäisevää aktiivisuutta.
30

Rice et al., U.S. patenttijulkaisu 3 256 277, julkaistu 14. kesäkuuta 1966, (Rice III), esittää patenttivaatimuksen yhdisteestä, joka on (1) kaavan

35



5

mukainen yhdiste, jossa A on ainakin 5 rengasatomista muodos-
 tuva rengas, kaikkien muiden renkaan atomien paitsi R¹:n ol-
 lessa hiiltä; R¹ on happi tai rikki; X on vety, alempi alkok-
 10 si-, alempi alkyyli-, alempi alkenyyli-, syklinen alempi al-
 kyyli- ja monokarbosyklinen aryyli-ryhmä, B on 5 - 6 rengas-
 atomin muodostama tyydyttynyt rengas, renkaassa B olevien
 rengasatomien ollessa tyypiatomia lukuunottamatta hiiliatome-
 15 ja; Y on alkyleeni- tai korkeintaan 6 hiiliatomia käsittävä
 alkenyleeniryhmä; n on 0 - 1; ja R on alempi alkyyli-, alempi
 alkenyyli-, syklinen alempi alkyyli-, syklinen alempi al-
 kenyyli-, alempi ja di- alempi alkyyli- ja alkenyyliaminoryh-
 mä, tyydyttynyt heterosyklinen ryhmä, joka on morfoliini-,
 20 piperidiini-, pyrrolidiini-, piperatsiini-, tetrahydrofuryy-
 liryhmä ja näiden alempia alkyyli- tai alkenyyli-substituent-
 teja sisältävä johdannainen, monokarbosyklinen aryyli-, naf-
 tyyli-, pyridyyli-, kinolyyli-, furyyli- ja alempi alkoksyy-
 liryhmä; (2) yhdisteen (1) ei-toksiset happoadditiosuolat; ja
 25 (3) yhdisteen (1) ei-toksiset kvaternääriset suolat.

...

Patenttijulkaisussa Rice III todetaan, että näille yhdisteil-
 le on luonteenomaista hermojärjestelmään ja sydämeen ja ve-
 risuonistoon kohdistuva farmakologinen aktiivisuus. Patent-
 30 tijulkaisussa Rice III ei ole kuvausta eikä siinä esitetä
 ehdotusta siitä, että tällaisilla yhdisteillä on niveltuleh-
 dusta ehkäisevää aktiivisuutta.

Rice et al., U.S. patenttijulkaisu 3 282 947, julkaistu 1. marraskuuta 1966, (Rice IV), esittää patenttivaatimuksen kaavan:

5



10 mukaisesta yhdisteestä, jossa R ja R¹ ovat erilaiset ja ne ovat:

- (a) vety
- (b) alempi alkyyliryhmä
- (c) aryylialkyyliryhmä, joka on pyridyyli-, alempi alkyyliryhmä, tai fenyyli- alempi alkyyliryhmä,
- 15 (d) di- alempi alkyylimino alempi alkyleeniryhmä, tai
- (e) hydroksi- alempi alkyleeniryhmä.

20 Patenttijulkaisussa Rice IV todetaan, että tällaiset yhdisteet ovat arvokkaita välituotteina ja että niillä on määrittämätöntä farmakologista aktiivisuutta. Patenttijulkaisussa Rice IV ei ole kuvausta eikä siinä esitetä ehdotusta siitä, että tällaisilla amiineilla on niveltulehdistusta ehkäisevää aktiivisuutta.

25 Rice et al., (1963) J. Med. Chem. 6, 388 - 402 (Rice V) kuvaavat suuren N-dialkyyliminoalkyyliatspiroalkaanien ryhmän valmistuksen, ja toteavat että kautta koko ryhmän on havaittu voimakasta (mutta määrittelemätöntä) farmakologista aktiivisuutta ja että erityisesti huomionarvoisia ovat tiettyjen jäsenten (esim. 3-(3-dimetyyliminoprolyyli-9-t-butyyli-3-atspiro[5,5]undekaani) huomattavat kasvua estävät vaikutukset kudosiseläseläissä oleviin syöpäsoluihin ja objektiiviset kliiniset vaikutukset ihmisen syöpäsoluissa. Julkaisussa Rice V ei ole kuvausta eikä siinä esitetä ehdo-

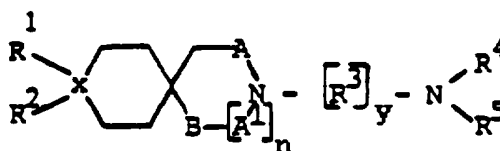
tusta siitä, että tällaisilla yhdisteillä on niveltulehdusta ehkäisevää aktiivisuutta.

5 Julkaisussa Rice et al., (1964) J. Heterocycl. Chem., 1 (3) 125 - 127 (Rice VI), kuvataan synteeseitä useisiin eri symmetrisiin ja epäsymmetrisiin 3,9-diatsaspiro[5,5]undekaaneihin. Rice VI:ssa ei ole kuvausta eikä siinä esitetä ehdotusta siitä, että näillä yhdisteillä on minkäänlaista biologista aktiivisuutta.

10

Rice et al., U.S. patenttijulkaisu 3 825 546, julkaistu 23. heinäkuuta 1974, (Rice VII), esittävät patenttivaatimukset rakennekaavan:

15



20

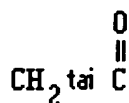
mukaisesta yhdisteestä, jossa

R^1 ja R^2 ovat samoja tai eri 1 - 4 hiiliatomia sisältäviä alkyyliiryhmiä,

X = pii tai germanium,

25

A ja A^1 samoja ja joko



n = 0 tai 1

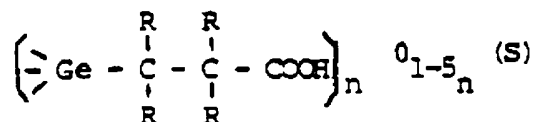
B = CH_3 , kun n on yksi ja B on sama kuin A, kun n on nolla

R^3 = alkyleeni- tai alkenyleeniryhmä

30

y = 2 - 6, kun R^3 on alkyleeni ja 3 - 4, kun R^3 on alkenyleeniryhmä

- R⁴ ja R⁵ ovat saman- tai erilaisia, 1 - 4 hiiliatomisia alempia alkyyliryhmiä, 3 - 4 hiiliatomisia alempia alkenyyliryhmiä tai rengasrakenteeksi yhtyneenä muodostavat heterosyklisen ryhmän, joka on morfoliini-, pyrrolidiini-, piperidiini- tai alemman alkyyliryhmän (1 - 4 hiiliatomia) sisältävä piperatsiiniryhmä, jossa mainittu alempi alkyyliryhmä on liittynyt päätetyypiatomiin. Rice VII:ssa todetaan, että tällaisten yhdisteiden biskvaternäärisuolat osoittavat verenpainetta alentavaa aktiivisuutta ja ne ovat erityisen käyttökelpoisia ganglioaktiivisuuden estäjiä koirissa ja muissa eläimissä. Patenttijulkaisussa Rice VII ei ole kuvausta eikä siinä esitetä ehdotusta siitä, että tällaisilla yhdisteillä on nivel-
tulehdusta ehkäisevää aktiivisuutta.
- Sanwa KK, Euroopan patenttihakemusjulkaisu numero EP 186 505 A2, julkaistu 2. heinäkuuta 1986, esittää patenttivaatituksen koostumuksesta, joka käsittää kaavan



Kaava I

esittämän yhdisteen, jossa n on 1 tai tätä suurempi kokonaisluku, R on vety, alkyyliryhmä, -COOH, -COOR', fenyyliiryhmä,



5

ja R' on alempi alkyyli-ryhmä, ja suurimolekyyllisen kantaja-
 aineen farmaseuttisille aineille.

10 Julkaisussa Sanwa KK olevan kuvauksen mukaisesti tällaisil-
 la yhdisteillä ei ole immunitettia kiihdyttävää vaikutus-
 ta, mutta sen sijaan niillä on immunitettia säättävä tai
 säätelevä vaikutus.

15 DiMartino et al., (1986) J. Pharmacol. Exp. Therapeut.,
 236, 103 - 110 raportoivat spirogermaniumin kyvystä aiheut-
 taa suppressorisolujen muodostumisen.

20 Badger et al., (1985) Immunopharmacol. 10, 201 - 207 rapor-
 toivat suppressorisolujen syntymisestä spirogermaniumilla
 käsitellyissä normaaleissa rotissa.

Australian National University, PCT patenttihakemusjulkaisu
 numero WO 85/05031, julkaistu 21. marraskuuta 1985, esittää
 patenttivaatimuksen eläimen immuunivastetta moduloivasta
 tai vaimentavasta menetelmästä, joka käsittää vaikuttavan
 25 määrän antamisen ainakin yhtä sellaista amfifiilistä ainet-
 ta, joka kykenee solun pintaan kohdistuvan vuorovaikutuk-
 sensa perusteella muuttamaan solun pintaominaisuuksia si-
 ten, että muuttuneen solun antigeenin tunnistus estyy tai
 muuttuu. Tämä amfifiilinen aine on edullisesti kationinen
 30 pinta-aktiivinen aine, kuten kaksiketjuinen kvaternäärinen
 ammoniumpinta-aktiivinen aine.

Gerschickter Fund, Englannin patenttihakemusjulkaisu numero
 929 739, julkaistu 26 kesäkuuta 1963, kuvaa rakenteen



20

∴ Tämä keksintö liittyy kaavan



Kaava (IA)

mukaiseen yhdisteeseen, jossa:

n on 3 - 7

m on 1 tai 2

5 R_1 ja R_2 ovat samoja tai erilaisia ja ne ovat vety tai suora-
ketjuinen, haaraketjuinen tai syklinen alkyyliryhmä, edellyt-
täen, että $R_1:n$ ja $R_2:n$ yhdessä sisältämien hiiliatomien koko-
naismäärä on 4 - 10; tai R_1 ja R_2 liittyvät yhteen muodostaen
3 - 7 hiiliatomia sisältävän syklisen alkyyliryhmän;

10 R_3 ja R_4 ovat samoja tai erilaisia ja ne ovat vety tai suora-
ketjuinen 1 - 3 hiiltä sisältävä alkyyliryhmä; tai R_3 ja R_4
liittyvät yhteen muodostaen 4 - 7 hiiliatomia sisältävän syk-
lisen alkyyliryhmän;

edellyttäen, että kun R_1 ja R_2 ovat CH_3CH_2 , R_3 ja R_4 ovat CH_3 ja
m on 1 tai 2, n on muu kuin 3; ja edelleen edellyttäen, että
kun R_1 on H; R_2 on $(CH_3)_3C$; R_3 ja R_4 ovat CH_3 ja m on 1 tai 2, n
15 on muu kuin 3; ja lisäksi edellyttäen, että kun R_2 on H; R_1 on
 $(CH_3)_3C$; R_3 ja R_4 ovat CH_3 ja m on 2, n on muu kuin 3;
tai näiden farmaseuttisesti hyväksyttävä suola, hydraatti tai
solvaatti.

20 Alan ammattimies havaitsee, että kaikki kaavan (IA) mukaiset
yhdisteet kuuluvat kaavan (I) mukaisten yhdisteiden piiriin.

Edulliset kaavan (I) mukaiset yhdisteet on lueteltu taulukos-
sa 1. Erityisen edullinen on yhdiste n:o 02 taulukossa 1.

25

Farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat ja niiden valmistus on
alan ammattimiesten hyvin tuntemaa. Edullisiin kaavan (I)
mukaisten yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttäviin suoloi-
hin kuuluvat, näihin kuitenkin rajoittumatta, hydrokloridi,
30 dihydrokloridi, sitraatti, maleaatti, laktaatti, hydrobromidi
ja sulfaatti. Dihydrokloridisuola on erityisen edullinen.

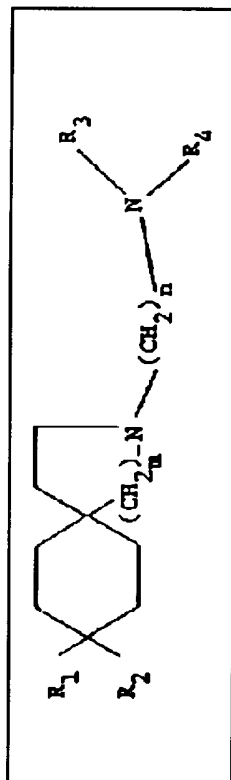
Kaavan (I) mukaiset yhdisteet voivat muodostaa hydraatteja
tai solvaatteja. Alan ammattimiesten tiedossa on, että va-
35 raukselliset yhdisteet muodostavat hydratoituja muotoja kyl-
mäkuivattaessa veden kanssa, tai muodostavat solvatoituja
muotoja väkevöittäessä liuoksessa sopivan orgaanisen liuotti-
men kanssa.

Kaavan (I) mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa myöhemmin esitettävien esimerkkien mukaisesti.

5 Kaikki kaavan (I) mukaiset yhdisteet ovat käyttökelpoisia
immunomodulaatiota tarvitsevien eläinten hoidossa, ihmiset
mukaanlukien. Tällainen immunomodulatorinen aktiivisuus var-
mennettiin käyttäen adjuvantin aiheuttamaa niveltulehdusmää-
ritystä rotissa, joka on esitetty yhteenvetona taulukossa I,
ja/tai käyttäen suppressorisoluaktiivisuusmääritystä, joka on
10 esitetty yhteenvetona taulukossa II.

Taulukko 1

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden aktiivisuudet adjuvanttisyntyisessä niveltulehdusmäärityksessä



Kaava (I)

5

# ^(a)	m	n	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	b	c
02	1	3	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃	CH ₃	1,35	30
03	1	3	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂	CH ₃	CH ₃	0,88	30
04	1	3	CH ₃ (CH ₂) ₃ CH ₂	CH ₃ (CH ₂) ₃ CH ₂	CH ₃	CH ₃	0,41	30
05	1	3	(CH ₃) ₂ CHCH ₂	(CH ₃) ₂ CHCH ₂	CH ₃	CH ₃	0,97	30
06	2	3	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃	CH ₃	0,90	30
07	1	3	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃ CH ₂ CH ₂	H	H	1,52	30
08	1	3	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃	H	1,02	30
09	1	3	CH ₃ CH ₂ (CH ₃)CH	CH ₃	CH ₃	CH ₃	1,27	30
10	1	3	CH ₃	CH ₃ CH ₂ (CH ₃)CH	CH ₃	CH ₃	2,84	60
11	1	3	CH ₃ CH ₂	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂	CH ₃	CH ₃	1,15	15

93006

12

# ^(a)	m	n	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	b	c
12	1	3	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂	CH ₃ CH ₂	CH ₃	CH ₃	4,00	30
13	1	3	H	CH ₃ (CH ₂) ₈ CH ₂	CH ₃	CH ₃	0,78	30
14	1	3	H	sykloheksyyliiryhmä	CH ₃	CH ₃	0,98	30
16	1	3	(CH ₃) ₃ C	H	CH ₃	CH ₃	0,90	30
17	1	3	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -		CH ₃	CH ₃	1,70	60
18	1	3	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃ CH ₂	CH ₃ CH ₂	1,42	30
19	1	3	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃ CH ₂ CH ₂	-CH ₂ (CH ₂) ₃ CH ₂ -		1,89	30
20	1	4	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃	CH ₃	0,45	30
21	1	5	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃	CH ₃	0,82	30
22	1	6	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃	CH ₃	1,28	30
23	1	7	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃	CH ₃	1,57	30
27	1	3	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃ CH ₂ CH ₂	-CH ₂ (CH ₂) ₂ CH ₂ -		1,03	30
28	1	6	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃ CH ₂ CH ₂	-CH ₂ (CH ₂) ₂ CH ₂ -		0,63	30
29	1	6	CH ₃ CH ₂ CH ₂	CH ₃ CH ₂ CH ₂	-CH ₂ (CH ₂) ₃ CH ₂ -		e.t.	
30	1	3	CH ₃ CH ₂	CH ₃ CH ₂	-CH ₂ (CH ₂) ₂ CH ₂ -		e.t.	
31	1	3	CH ₃ CH ₂	CH ₃ CH ₂	-CH ₂ (CH ₂) ₃ CH ₂ -		e.t.	
32	1	3	CH ₃ CH ₂	CH ₃ CH ₂	CH ₃ CH ₂ CH	₃ CH ₂	e.t.	

e.t. = ei testattu

20

- 5

10

15

e) Merkitsevän aktiivisuuden määritelmä (*)
Yhdisteellä katsotaan olevan niveltulehduksen vastaista aktiivisuutta, jos se aiheuttaa tilastollisesti merkitsevän ($p < 0,05$) kolmenkymmenen prosentin (30 %) tai tätä suuremman vähenemän käsiteltyjen ryhmien tulehtuneiden takakäpäliden tilavuuksissa ja/tai niveltulehdusarvoissa niveltulehduksen saaneisiin verrokkeihin verrattuna. Käsiteltyjen ja verrokki-ryhmien välillä olevan merkitsevän eron taso määritetään Studentin "t"-testillä. Ruumiin-painon muutokset päivästä 0 lähtien verrataan myös tilastollisesti niveltulehduksen saaneeseen verrokkiryhmään. Kaavan (I) ja kaavan (II) mukaisten yhdisteiden prosentuaalinen esto 16. päivänä (oikea käpälä) jaetaan spirogermaniumin aktiivisuudella 16. päivänä suhteellisen aktiivisuusprofiilin saamiseksi. Huomautus: joissakin kokeissa taulukon 1. yhdistettä #2 käytettiin standardina spirogermaniumin (SG) sijaan. Yhdiste #2 on 1,35 kertaa parempi kuin SG rotan AN-mallissa. Kaikkien yhdisteiden aktiivisuudet normalisoitiin siksi SG:n suhteen kertomalla ne tällä tekijällä.

Taulukko 2

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden suppressorisoluaktiivisuus^(c)

	Yhdiste ^(a) numero	annos	Suppressorisolu- aktiivisuus ^(b)
5	1	30 mg/kg	88
	2	30 mg/kg	172
	3	30 mg/kg	176
10	4	7,5 mg/kg	118
	5	30 mg/kg	162
	6	30 mg/kg	158
	7	30 mg/kg	217
	8	15 mg/kg	67
15	9	30 mg/kg	132
	10	30 mg/kg	112
	11	15 mg/kg	139
	12	15 mg/kg	172
	13	15 mg/kg	96
20	14		e.t.
	15		e.t.
	16		e.t.
	17		e.t.
	18	30 mg/kg	201
25	19	30 mg/kg	241
	20	30 mg/kg	178
	21	30 mg/kg	177
	22	30 mg/kg	141
	23	30 mg/kg	146
30	27	30 mg/kg	139
	28	30 mg/kg	24
	29	30 mg/kg	22
	30	30 mg/kg	77
	31	30 mg/kg	64
35	32	30 mg/kg	83

:

e.t. = ei testattu

^(a) Yhdisteiden rakenteet, katso taulukko 1

40 ^(b) Suppressorisoluaktiivisuus lasketaan seuraavasti. Tehtiin kuvaaja prosentuaalisesta suppressiosta (riippuva muuttuja) suppressorisolujen logaritmin (kantaluksena e) (riippumaton muuttuja) suhteen ja näiden mittaustulospisteiden edustama käyrän alainen pinta-ala (AUC) määritettiin puolisuunnikas-

45 säännön mukaan. AUC saadaan puolisuunnikassäännöllä laskemalla yhteen sellaisten puolisuunnikkaiden alat, joiden huiput sijaitsevat riippumattoman muuttujan kahden vierekkäisen arvon kohdalla ja näitä vastaavien riippuvan muuttujan arvojen kohdalla. Kaikki mittaustulokset normalisoitiin spirogerma-

50 niumin (SG) suhteen. Joissakin kokeissa taulukon 1. yhdistet-

tä #2 käytettiin standardina spirogermaniumin (SG) sijaan. Yhdiste #2 on 1,75 kertaa parempi kuin SG suppressorisolumäärityksessä. Kaikkien yhdisteiden aktiivisuudet normalisoitiin siksi SG:n suhteen kertomalla ne tällä tekijällä (s.o. SG = 100, yhdiste #2 = 172).

^(c) Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden suppressorisoluja synnyttävän aktiivisuuden määrittelykseen käytetty testi oli julkaissussa Badger et al., (1985) Immunopharmacology 10, 201 - 207 kuvattu testi. Lyhyesti:

10 Sisäsiittoisia urospuolisia Lewis-rottia hankittiin yhteiöstä Charles River Breeding Laboratories (Wilmington, MA, U.S.A.). Rottien ravintona oli vettä ja normaalia rotanruokaa ja ne otettiin käyttöön 6 - 8 viikon ikäisinä (160 - 180 g). Missä tahansa tietyssä kokeessa
15 käytettiin vain samanikäisiä ja samaa kantaa ja sukupuolta olevia rottia. Concanavalin A (Con A) hankittiin yhteiöstä Pharmacia Fine Chemicals (Piscataway, N.J.) ja se liuotettiin RPMI-1640-liuokseen (Flow Laboratories, Rockville, MD), jota oli täydennetty penisilliinillä,
20 streptomysiinillä ja L-glutamiinilla (Grand Island Biological Co. Grand Island, NY) ja 10-%:isella lämpöinaktivoidulla (56 °C, 30 min) fetaalisella vasikanseerumilla. Tätä liuosta nimitetään seuraavassa RPMI-10:ksi. In vivo -käsittelyä varten yhdisteet liuotettiin 0,5-%:iseen tragakanttiin ja annosteltiin suun kautta ker-
25 ran päivässä. Kaavan (I) ja kaavan (II) mukaisilla yhdisteillä käsitellyistä eläimistä saatuja pernasoluja vietiin RPMI-10-liuokseen 5×10^6 pitoisuuteen. Rinnakkaisviljelmäkokeet suppressorisolujen määrittämiseksi
30 suoritettiin lisäämällä ensin vaihtelevia määriä suppressorisoluiksi odotettuja soluja ($0,15 - 5 \times 10^5$) 96-kuoppaisiin pyöreäpohjaisiin mikrotiitterilevyihin (Linbro, Flow Labs) 100 μ l:ssa RPMI-10:a. Nämä solut säteilytettiin (2000 Rad) sitten Gamma cell 40:ssa ^{137}Cs
35 säteilylähteellä. Näihin viljelmiin lisättiin sitten 5×10^5 normaaleja soluja ja optimaalinen Con A-pitoisuus (5 $\mu\text{g/ml}$) ja lopputilavuus säädettiin 200 μl :ksi. Soluviljelmät inkuboitiin 72 tunnin ajan 37 °C:ssa 5-

%:isessa CO₂-atmosfäärissä ja niille annettiin 0,5
μCi:n pulssi [³H]tymidiiniä (spesifinen aktiivisuus 1,9
Ci/millimooli; Schwarz/Mann, Orangeburg, NY) viljelyn
viimeisten 16 tunnin aikana. Solut kerättiin automaat-
5 tisella moninäytekerääjällä ja soluihin liittynyt ra-
dioaktiivisuus laskettiin Beckman-nestetuikelaskijassa.
Suppressioiva aktiivisuus määritetään vertaamalla käsit-
telemättömiä soluja sisältävien viljelmien cpm-arvoja
10 käsitellyillä soluilla saatuihin Studentin t-testiä
käyttäen.

Taulukko 2 osoittaa useiden kaavan (I) mukaisten yhdisteiden
15 aktiivisuuden suppressorisolujen muodostamisessa in vivo.
Ilmaisu "suppressorisolujen muodostaminen" tarkoitetaan
sitä, että yhdiste indusoi suppressorisolun kaltaista aktii-
visuutta, esim. solun, joka kykenee suppressoimaan norma-
lisolun immuunitoiminnon in vitro rinnakkaisviljelmätestissä
20 julkaisun Rich and Pierce, (1973) J. Exp. Med., 137, 649 mu-
kaisesti. Käsitellyistä eläimistä saaduista pernasoluista
lähdettiin yhdessä normaali solujen kanssa suoritettavaan
viljelyyn eri solupitoisuuksia käyttäen. Nämä suppressoriso-
lut kykenevät myös estämään lymfosyyttien sekareaktioita,
25 vasta-aineiden synteesiä ja viivästyneen tyyppin yliherkkyy-
reaktioita.

Tämä keksintö liittyy myös farmaseuttiseen koostumukseen,
joka käsittää farmaseuttisesti hyväksyttävän kantaja- tai
30 liuotusaineen ja tehoavan määrän kaavan (I) mukaista yhdis-
tettä.

Kaavan (I) mukaista yhdistettä annostellaan tavanomaisessa
annostelumuodossa, joka on valmistettu yhdistämällä terapeut-
35 tisesti tehoava määrä (s.o. tehoava immunomoduloiva määrä)
kaavan (I) mukaista yhdistettä ("aktiivista ainesosaa") nor-
maaleihin farmaseuttisiin kantaja- tai liuotusaineisiin ta-
vanomaisia menetelmiä käyttäen. Näihin menetelmiin voi sisäl-

tyä ainesosien sekoitus, rakeistus, ja puristus tai liuotus sen mukaan, mitä valmistetta halutaan.

Käytetty farmaseuttinen kantaja-aine voi olla esimerkiksi
5 joko kiinteä tai nestemäinen. Esimerkkejä kiinteistä kantaja-
aineista ovat laktoosi, valkea kaoliini, sakkaroosi, talkki,
gelatiini, agar-agar, pektiini, arabikumi, magnesiumstea-
raatti, steariinihappo ja muut näiden kaltaiset aineet. Esi-
merkkejä nestemäisistä kantaja-aineista ovat siirappi, maa-
10 pähkinäöljy, oliiviöljy, vesi ja muut näiden kaltaiset ai-
neet. Kantaja-aine voi samoin sisältää sinänsä hyvin tunnet-
tua aikaviiveen antavaa ainetta, kuten glyseryylimonostea-
raattia tai glyserylidistearaattia joko yksinään tai yhdessä
vahan, etyyliiselluloosan, hydroksipropyylimetyyliiselluloosan,
15 metyyliimetakrylaatin ja näiden kaltaisten aineiden kanssa.

Voidaan käyttää useita eri farmaseuttisia muotoja. Jos käy-
tetään kiinteää kantaja-ainetta, valmisteesta voidaan tehdä
tabletti, pakata kovaan gelatiinikapseliin jauhemaisessa tai
20 pellettimuodossa tai tabletin muodossa. Kiinteän kantaja-ai-
neen määrä voi vaihdella paljon, mutta edullisesti tämä on
noin 25 mg:sta noin 1 g:aan. Jos käytetään nestemäistä kanta-
ja-ainetta, valmiste on siirapin, emulsion, pehmeän gelatii-
nikapselin, ampullissa tai pullossa olevan steriilin injek-
25 toitavan liuoksen tai suspension tai vedettömän nestesuspen-
sion muodossa.

Pysyvän vesiliukoisen annostusmuodon saamiseksi kaavan (I)
mukaisen yhdisteen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola liuo-
30 tetaan orgaanisen tai epäorgaanisen hapon vesiliuokseen, ku-
ten meripihkahapon, tai edullisemmin sitruunahapon 0,3 M:een
liuokseen. Jos sopivaa liukoista suolamuotoa ei ole saatavil-
la, kaavan (I) mukainen yhdiste liuotetaan sopivaan tukiliu-
ottimeen tai näiden yhdistelmään. Esimerkkeihin tällaisista
35 tukiliuottimista kuuluu, näihin kuitenkin rajoittumatta,
alkoholi, propyleeniglykoli, polyetyleeniglykoli 300, po-
lysorbaatti 80, glyseriini ja näitä vastaavat aineet pitoi-
suuksissa, jotka ovat alueella 0 - 60 % kokonaistilavuudesta.

Kukin ruoansulatuskanavan ulkopuolinen annostusmuotoyksikkö sisältää edullisesti aktiivista ainesosaa määrän, joka on noin 0,1 mg:sta noin 500 mg:aan. Kukin suun kautta annettava annostusmuoto sisältää aktiivista ainesosaa määrän, joka on
5 noin 1 mg:sta noin 1000 mg:aan.

Kaikki kaavan (I) mukaiset yhdisteet ovat immunomoduloivia aineita immunomodulaation tarpeessa olevissa eläimissä, myös ihmiset mukaanlukien, kun näitä aineita annetaan näille eläi-
10 mille tämän keksinnön mukaisella menetelmällä. Käsitteellä "immunomoduloiva aine" tarkoitetaan sitä, että kukin kaavan (I) mukainen yhdiste kykenee aiheuttamaan immuunisuppression indusoimalla suppressorisolun kaltaista aktiivisuutta (josta näyttönä on niiden aktiivisuus taulukossa 2 kuvatussa supp-
15 ressorisolumäärityksessä) ja/tai tuottamalla tilastollisesti merkittävän vähenemisen adjuvanttiniveltulehdusmäärityksessä esiintyvässä, immuunijärjestelmävasteen välittämän sekundaarivaurion tulehduksessa (katso taulukko 1.) Immunomoduloivia aineita käyttävän hoidon syihin kuuluvat, niihin kuitenkin
20 rajoittumatta, seuraavien sairauksien hoito:

nivelreuma
punahukka
multippeli skleroosi
25 äkillinen kudus- tai elinsiirteen hylkiminen
myasthenia gravis
etenevä systeeminen skleroosi
multippeli myelooma
atooppinen ihotulehdus
30 hyperimmunoglobiini E
hepatiitti-B -antigeeninegatiivinen krooninen aktiivinen maksatulehdus
Hashimoton kilpirauhastulehdus
perheittäinen Välimeren kuume
35 Graven tauti
autoimmuuninen hemolyyttinen anemia
primaarinen sappitietulehduksen aiheuttama maksakirroosi
tulehduksellinen suolistotauti.

Tämä keksintö liittyy myös kaavan (I) mukaisen yhdisteen käyttöön immunomodulaation tarpeessa olevan eläimen, ihmiset ja muut nisäkkäät mukaanlukien, hoidossa, joka käsittää sen, että tälle eläimelle annetaan tehoava määrä kaavan (I) mukaista yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suola-

5 laa, hydraattia tai solvaattia. Käsitteellä "hoito" tarkoitetaan suojaavaa tai terapeuttista hoitoa. Kaavan (I) mukaista yhdistettä annetaan immunomoduloivan hoidon tarpeessa olevalle eläimelle määrä, joka riittää kohottamaan tällaisen immunomodulaation terapeuttiselle tai suojaavalle asteelle.

10 Tällaista kaavan (I) mukaista yhdistettä voidaan antaa tällaiselle eläimelle tavanomaisessa annostusmuodossa, joka on valmistettu yhdistämällä kaavan (I) mukainen yhdiste tavanomaiseen farmaseuttisesti hyväksyttävään kantaja- tai liuotusaineeseen tunnettujen menetelmien mukaisesti. Alan ammattimiehelle on selvää, että farmaseuttisesti hyväksyttävän

15 kantaja- tai liuotusaineen muoto ja luonne määräytyy sen aktiivisen ainesosan määrän perusteella, jonka kanssa tämä on yhdistettävä, annostelutien perusteella ja muiden hyvin tunnettujen muuttujien perusteella.

20

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden annostus voi tapahtua suun kautta, ruoansulatuskanavan ulkopuolitse, inhalaation avulla tai paikallisesti. Tässä käytettynä käsite ruoansulatus-

25 kanavan ulkopuolinen tarkoittaa suonensisäistä, lihaksensisäistä, ihonalaista, peräsuolen kautta tapahtuvaa, emättimen kautta tapahtuvaa tai vatsaontelonsisäistä annostelua. Ruoansulatuskanavan ulkopuolisen annostelun ihonalaiset ja lihaksensisäiset muodot ovat tavallisesti edullisia. Päivittäinen ruoansulatuskanavan ulkopuolinen yhdisteen hoitoannos

30 on edullisesti noin 0,1 mg:sta noin 1000 mg:aan päivässä. Päivittäinen suun kautta annettava hoitoannos on edullisesti noin 1 mg:sta 2000 mg:aan.

35

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet voidaan myös antaa inhalaatiolla. "Inhalaatiolla" tarkoitetaan nenän tai suun kautta tapahtuvaa inhalaatioannostusta. Tällaiseen annosteluun sopivat annostelumuodot, kuten aerosoliformulaatio tai mitta-annosin-

halaattori, voidaan valmistaa tunnetuilla menetelmillä. Kaavan (I) mukaisen yhdisteen edullisen päiväannoksen määrä on noin 10 mg:sta noin 100 mg:aan päivässä.

- 5 Kaavan (I) mukaisia yhdisteitä voi myös annostella paikallisesti.

Se kaavan (I) mukaisen yhdisteen (jota jäljempänä kutsutaan aktiiviseksi ainesosaksi) määrä, joka paikallisesti annosteltaessa tarvitaan terapeuttisen vaikutuksen aikaansaamiseksi, vaihtelee tietenkin valitun yhdisteen, tulehdustilan luonteen ja vakavuuden ja hoidettavan eläimen mukaan, ja on lopullisesti lääkärin arvion alainen. Sopiva kaavan (I) mukaisen yhdisteen immunomoduloiva annos on 1,5 μ g:sta 500 mg:aan ainetta yhtä ruumiinpainokiloa kohti, edullisimman annoksen ollessa 1 μ g - 50 mg/eläimen ruumiinpainokilo, esimerkiksi 5 μ g - 25 mg/kg; annettuna 2 - 3 kertaa päivässä. Käytettäessä iholle voidaan käyttökerralla levittää 1 μ g - useita mg aktiivista ainesosaa, edullisesti noin 10 μ g - 100 μ g levitystä kohti.

Paikallisella annostelulla tarkoitetaan ei-systeemistä annostelua ja siihen kuuluu kaavan (I) mukaisen yhdisteen levittäminen ulkoisesti ihon pintakerrokseen, suuonteloon tai tällaisen yhdisteen tiputtaminen korvaan, silmään ja nenään, ja sinne, missä yhdistettä ei merkittävästi pääse vereen. Systeemisellä annostelulla tarkoitetaan suun kautta tapahtuvaa, suonensisäistä, vatsaontelonsisäistä ja lihaksensisäistä annostelumuotoa.

30 Vaikkakin on mahdollista annostella aktiivinen ainesosa raakakemikaalina, on edullista saattaa se käyttöön farmaseuttisen kaavan mukaan valmistettuna. Paikalliseen annosteluun tarkoitettu aktiivinen ainesosa voi käsittää 35 0,001 - 10 paino-%, esimerkiksi 1 - 2 paino-% valmistuskaavasta, vaikkakin se voi käsittää jopa 10 paino-%, mutta edullisesti ei yli 5 paino-% ja edullisemmin 0,01 - 1 paino-% valmistuskaavasta.

Tämän keksinnön mukaiset paikallisannosteluun tarkoitetut valmistuskaavat, jotka on tarkoitettu sekä eläinlääketieteelliseen käyttöön että ihmisten lääkitykseen, käsittävät siksi aktiivisen ainesosan yhdessä yhden tai useamman hyväksyttävän kantaja-aineen, ja valinnaisesti minkä tahansa muun (muiden) 5 terapeuttis(t)en ainesosan (-osien) kanssa. Kantaja-aineiden täytyy olla 'hyväksyttäviä' siinä mielessä, että ne ovat yhteensopivia muiden valmistuskaavan ainesosien kanssa eivätkä ole haitallisia tämän saajalle.

10

Paikalliseen annosteluun sopiviin valmistuskaavoihin kuuluvat nestemäiset tai puolittain nestemäiset valmisteet, jotka soveltuvat kulkeutumaan ihon läpi siihen kohtaan, jossa hoitoa tarvitaan kuten: linimentit, liuokset, voiteet, salvat tai 15 pastat ja tipat, jotka soveltuvat silmään, korvaan tai nenään tapahtuvaan annosteluun.

20

Tämän keksinnön mukaiset tipat voivat käsittää steriilejä vesipitoisia tai öljypitoisia liuoksia tai suspensioita ja niitä voidaan valmistaa liuottamalla aktiivinen ainesosa sopivaan bakteereja ja/tai sieniä tappavan aineen vesiliuokseen ja/tai mihin tahansa muuhun sopivaan säilöntäaineeseen, ja liittämällä mukaan edullisesti pinta-aktiivinen aine. Saatu liuos voidaan sitten kirkastaa suodattamalla, siirtää sopivaan säiliöön, joka sitten suljetaan ja steriloidaan autokla- 25 voimalla tai pitämällä se 90 - 100 °C:ssa puolen tunnin ajan. Vaihtoehtoisesti liuos voidaan steriloida suodattamalla ja siirtää säiliöön aseptista menetelmää käyttäen. Esimerkkejä sopivista tippoihin yhdistettävistä bakteereja ja sieniä tappavista aineista ovat fenyylielohopeanitraatti tai -asetaat- 30 ti (0,002 %), bentsalkoniumkloridi (0,01 %) ja klorheksidiini-asetaat (0,01 %). Öljypitoisen liuoksen valmistukseen sopiviin liuotusaineisiin kuuluvat glyseroli, laimennettu alkoholi ja propyleeniglykoli.

35

Tämän keksinnön mukaisiin liuoksiin kuuluvat sellaiset liuokset, jotka soveltuvat viettäviksi iholle tai silmiin. Silmäliuos voi käsittää steriilin vesipitoisen liuoksen, joka voi

valinnaisesti sisältää bakteereja tappavaa ainetta ja tämä voidaan valmistaa samoilla menetelmillä, joita käytettiin tippojen valmistukseen. Iholle levitettävät liuokset ja li-

5 viilentävää ainetta, kuten alkoholia tai asetonia, ja/tai kosteuttavaa ainetta, kuten glyserolia tai öljyä, kuten risiini- tai maapähkinäöljyä.

Tämän keksinnön mukaiset voiteet, salvat tai pastat ovat ak-

10 tiivisen ainesosan ulkoiseen levitykseen tarkoitettuja puoli-kiinteitä valmistuskaavoja. Niitä voidaan tehdä sekoittamalla hienojakoinen tai jauhemainen aktiivinen ainesosa joko sellaisenaan tai liuoksena tai suspensionä vesipitoisessa tai vedettömässä nesteessä sopivan laitteen avulla rasvaisen tai

15 rasvattoman perusaineen kanssa. Perusaine voi käsittää hii-livetyjä, kuten kova, pehmeä tai nestemäinen paraffiini, glyseroli, mehiläisvaha, metallisaippua, arabikumiliuos; luon-nonöljyjä, kuten manteli-, maissi-, maapähkinä-, risiini- tai oliiviöljy; villarasvaa tai sen johdannaisia, tai rasvahapon,

20 kuten steaarihapon tai öljyhapon yhdessä alkoholin, kuten propyleeniglykolin tai makrogolien kanssa. Valmistuskaavaan voi sisältyä mikä tahansa sopiva pinta-aktiivinen aine, kuten anioninen, kationinen tai ioniton pinta-aktiivinen aine, ku-ten sorbitaaniesterit tai näiden polyoksietyleenijohdannai-

25 set. Mukaan voidaan myös liittää suspentoivia aineita, kuten luonnon kasvikumeja, selluloosajohdannaisia tai epäorgaanisia materiaaleja, kuten piimaapohjaiset vesilasit, ja muita ai-nesosia, kuten lanoliini.

30 Alan ammattimiehelle on selvää, että yksittäisten kaavan (I) tai kaavan (II) mukaisten yhdisteiden optimimäärä ja optimaalinen annosteluväli määräytyy hoidettavan sairaustilan luon-teesta ja vaikeusasteesta, annostelumuodosta ja -kohdasta, ja hoidettavasta eläimestä ja että näitä optimeja voidaan mää-

35 rittää tavanomaisilla menetelmillä. Alan ammattimies ymmär-tää myös sen, että hoidon optimaalinen kulku, s.o. kaavan (I) tai kaavan (II) mukaisten yhdisteiden päiväannosten lukumää-rät määriteltujen päivien aikana on alan ammattimiehen var-

mistettävissä käyttämällä tavanomaisia hoidon kulun määritykseen käytettäviä testejä.

5 Tarkempiin yksityiskohtiin menemättä on luultavaa, että alan ammattimies voi edellä olevaa kuvausta käyttäen hyödyntää tätä keksintöä sen täydessä laajuudessa. Seuraavat esimerkit on siksi laadittu ainoastaan kuvaaviksi, eivätkä ne millään tavalla rajoita tämän keksinnön kattamaa sovellusaluetta.

10 Esimerkit

I. Koostumusesimerkit

Esimerkki A - Kapselin koostumus

15

Kapselin muodossa oleva, tämän keksinnön mukainen farmaseuttinen koostumus valmistetaan täyttämällä normaali kaksiosainen kova gelatiinikapseli 50 mg:lla jauhemaista kaavan (I) tai kaavan (II) mukaista yhdistettä, 110 mg:lla laktoosia, 32

20

mg:lla talkkia ja 8 mg:lla magnesiumstearaattia.

Esimerkki B - Ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti injektoitava koostumus

25

Injektioannostukseen sopivassa muodossa oleva, tämän keksinnön mukainen farmaseuttinen koostumus valmistetaan sekoittamalla 1,5 paino-% kaavan (I) tai kaavan (II) mukaista yhdistettä 10 tilavuus-% glyseroliin ja veteen. Liuos steriloidaan suodattamalla.

30

Esimerkki C - Salvakoostumus

Kaavan (I) tai kaavan (II) mukaista yhdistettä 1,0 g Valkoista pehmeää paraffiinia täytetään 100 g:ksi.

35

Kaavan (I) tai kaavan (II) mukainen yhdiste dispergoidaan pieneen tilavuuteen kantajaa ja se viedään vähitellen pääosaan kantajaa tasaisen ja tasa-aineisen tuotteen tuottami-

seksi. Puristettavat metalliputkilot täytetään sitten dispersiolla.

Esimerkki D - Paikallisvoidekoostumus

5

Kaavan (I) tai kaavan (II) mukaista yhdistettä 1,0 g

Polawax GP 200 20,0 g

vedetöntä lanoliinia 2,0 g

kirkasta mehiläisvahaa 2,5 g

10 metyylihydroksibentsoaattia 0,1 g

tislattua vettä täytetään 100,0 g:ksi

Polawax, mehiläisvaha ja lanoliini kuumennetaan yhdessä 60 °C:ssa. Lisätään metyylihydroksibentsoaattiliuos ja tasaineisen seoksen saamiseksi käytetään nopeaa sekoitusta. Lämpötilan annetaan sitten laskea 50 °C:een. Sitten lisätään kaavan (I) tai kaavan (II) mukaista yhdistettä ja se dispergoidaan kauttaaltaan ja koostumuksen annetaan jäähtyä pienellä sekoitusnopeudella.

20

Esimerkki E - Nestekoostumus paikallisannostukseen

Kaavan (I) tai kaavan (II) mukaista yhdistettä 1,0 g

sorbitaanimonolauraattia 0,6 g

25 Polysorbaatti 20:a 0,6 g

: setostearyylialkoholia 1,2 g

glyseriiniä 6,0 g

metyylihydroksibentsoaattia 0,2 g

puhdistettua vettä B.P. lisätään 100,00 ml:ksi

30

Metyylihydroksibentsoaatti ja glyseriini liuotetaan 70 ml:aan vettä 75 °C:ssa. Sorbitaanimonolauraatti, polysorbaatti 20 ja setostearyylialkoholi sulatetaan yhdessä 75 °C:ssa ja lisätään vesipitoiseen liuokseen. Saatu emulsio homogenoidaan, sen annetaan jäähtyä jatkuvasti sekoittaen ja kaavan (I) tai kaavan (II) mukaista yhdistettä lisätään loppuun veteen tehtynä suspensiona. Koko suspensiota sekoitetaan, kunnes se on saatu homogeeniseksi.

:.

Esimerkki F - Silmätippakoostumus

Kaavan (I) tai kaavan (II) mukaista yhdistettä 0,5 g
metyylihydroksibentsoaattia 0,01 g
5 propyylihydroksibentsoaattia 0,04 g
puhdistettua vettä lisätään 100,00 ml:ksi (B.P = Britannian
farmakopea)

10 Metyyli- ja propyylihydroksibentsoaatit liuotetaan 70 ml:aan
puhdistettua vettä 75 °C:ssa ja saadun liuoksen annetaan
jäähtyä. Sitten lisätään kaavan (I) tai kaavan (II) mukainen
yhdiste ja liuos steriloidaan suodattamalla kalvosuodattimen
läpi (huokoskoko 0,22 μ m) ja se pakataan aseptisesti sopiviin
steriileihin säiliöihin.

15

Esimerkki G - Inhalaatioannostuskoostumus

15-20 ml:n vetoista aerosolisäiliötä varten: Sekoitetaan 10
mg kaavan (I) tai kaavan (II) mukaista yhdistettä 0,2 - 0,2-
20 %:n voiteluaineen, kuten polysorbaatti 85:n tai öljyhapon,
kanssa ja dispergoidaan tämä seos ponneaineeseen, kuten freo-
niin, edullisesti yhdessä (1,2 diklooritetrafluorietaanin) ja
difluorikloorimetaanin kanssa ja täytetään näillä sopiva ae-
rosolisäiliö, joka soveltuu joko nenäontelon tai suun kautta
25 tapahtuvaan inhalaatioannosteluun.

::

Esimerkki H - Inhalaatioannostelukoostumus

15-20 ml:n vetoista aerosolisäiliötä varten: Sekoitetaan 10
30 mg kaavan (I) tai kaavan (II) mukaista yhdistettä etanoliin
(6 - 8 ml), lisätään 0,1 - 0,2 % voiteluainetta, kuten po-
lysorbaatti 85:a tai öljyhappoa; ja dispergoidaan tämä seos
ponneaineeseen, kuten freoniin, edullisesti yhdessä (1,2-
diklooritetrafluorietaanin) ja difluorikloorimetaanin kanssa
35 ja viedään nämä sopivaan aerosolisäiliöön, joka soveltuu joko
nenäontelon tai suun kautta tapahtuvaan inhalaatioannoste-
luun.

II. Synteesiesimerkit

Seuraavissa esimerkeissä lämpötila on Celsius-asteita (°C).
Seuraavissa synteesiesimerkeissä esitettyjen menetelmien
5 avulla valmistettujen kaavan (I) ja kaavan (II) mukaisten
yhdisteiden alkuaineanalyysit ja sulamispisteet on luetteloi-
tu taulukoissa 3 ja 4.

Natriumhydridi, trimetyylisulfoksoniumjodidi, metyyllivinyyli-
10 ketoni, etyyllisyanoasetatti, morfoliini, litiumaluminiumhy-
dridi, booritrifluoridieteraatti, heptan-4-oni, nonan-5-oni,
undekan-6-oni, 4-(1,1-dimetyylietyyli)sykloheksanoni, 4-syk-
loheksyyllisykloheksanoni, valeriaanahappoaldehydi, allyyli-
bromidi, dodekanaali, 2,3-dimetyyllivaleriaanahappoaldehydi,
15 2-etyyllibutyylialdehydi, 2-etyyliheksanaali, adamantanoni,
bisyklo(3.3.1)nonan-9-oni, 3-dimetyyliaminopropyyliamiini, 3-
dietyyliaminopropyyliamiini, di-isobutyliamiini, 2,6-dime-
tyyliheptan-4-oni, sykloheptanoni, etikkahappoanhydridi, Tri-
ton B, ja 3-metyyliaminopropyyliamiini hankittiin yhtiöstä
20 Aldrich Chemicals (Milwaukee, Wisconsin, U.S.A.). 3-(1-pipe-
ridiini)propyyliamiini syntetisoitiin pelkistämällä 1-piperi-
diinipropionitriili (Aldrich Chemicals (Milwaukee, Wisconsin,
U.S.A.) litiumaluminiumhydridillä.

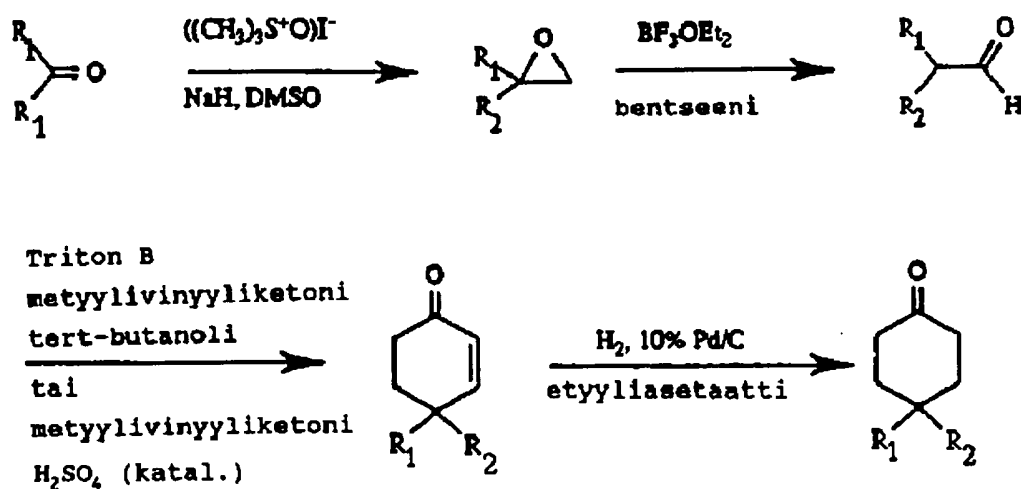
25 4-Dimetyyliaminobutyliamiini ja 6-dimetyyliaminoheksyyli-
amiini hankittiin yhtiöstä Pfaltz and Bauer (Waterbury, Con-
necticut, U.S.A.). 5-Dimetyyliaminopentyliamiini ja 7-dime-
tyyliaminoheptyyliamiini hankittiin yhtiöstä Karl Industries
(Aurora, Ohio, U.S.A.).

30 3-Aminopropaaninitriili ja 3-(1-pyrrolidiini)propyyliamiini
hankittiin yhtiöstä Alfa Chemicals (Danvers, Massachusetts,
U.S.A.). 6-(1-Piperidiini)heksyyliamiini valmistettiin kah-
dessa vaiheessa alkyloimalla 6-bromoheksyyliamiini (Aldrich
35 Chemicals) piperidiinillä ja pelkistämällä tämän jälkeen li-
tiumaluminiumhydridillä. 6-(1-pyrrolidiini)heksyyliamiini
valmistettiin samoin tähän tarvittavista bromonitriilistä ja
pyrrolidiinistä.

Osa 1: 4,4-Disubstituoitujen sykloheksanonien synteesi

Kaavio 1 on pääpiirteittäinen esitys 4,4-disubstituoitujen sykloheksanonien yleisestä synteesistä lähtien joko kaupallisesti saatavilla olevasta ketonista tai α,α -disubstituoitusta aldehydistä.

Kaavio 1



10

Esimerkit 1-5 kuvaavat erityisesti 4,4-dipropyylisykloheksanonin synteesin heptan-4-onista, mutta tätä menetelmää on käytetty seuraavien sykloheksanonien valmistukseen lähtien seuraavassa luetelluista kaupallisesti saatavilla olevista ketoneista:

ketoni	sykloheksanoni
2,6-dimetyyliheptanoni	4,4-bis(2-metyylipropyyli)-no-
nan-5-oni	4,4-dibutyli-
undekan-6-oni	5,5-dipentyyli-
sykloheptanoni	spiro[5.6]dodekan-3-oni
2-adamantanoni	spiro(sykloheksaani-1,2'-
	trisyklo[3.3.1.1 ^{3,7}]de-
	kan-4-oni

25

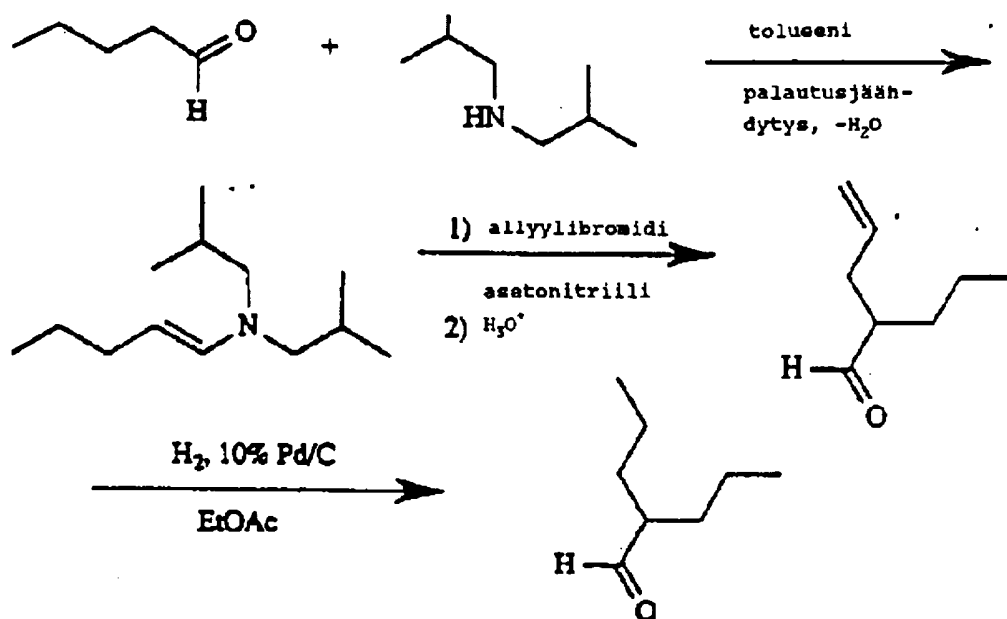
Seuraavissa tapauksissa oli saatavilla α,α -disubstituoidut aldehydit ja näistä syntetisoitiin 4,4-disubstituoidut sykloheksanonit:

5	aldehydi	sykloheksanoni
	2-etyyllibutyraldehydi	4,4-dietyyli-
	2-etyyliheksanaali	4-butyli-4-etyyli-
10	2,3-dimetyyllivaleriaan-	4-metyyli-4-(1-metyylliprohap-
	poaldehydi	pyyli

Toinen paremman saaliin antava tie erityisesti 2-propyylipentanaalin syntetisoimiseksi on kuvattu kaaviossa 2. Nämä menetelmät on esitetty pääpiirteittäin esimerkeissä 5 ja 6.

15

Kaavio 2



20

Esimerkki 1: 2-Propyyli-1,2-epoksipentaani

Dimetyylisulfoksidi (1 l/mooli) lisättiin hitaasti mekaanisesti sekoitettuun natriumhydridin (1,1 ekvivalenttia) ja trimetyylisulfoksoniumjodidin (1 ekvivalentti) seokseen inertin atmosfäärin alla. Tästä seurasi voimakas vedyn kehitys ja kaasun kehittymisen päätyttyä lisättiin heptan-4-onia (0,4 ekvivalenttia) ja reaktioseosta kuumennettiin 75 °C:ssa 3 - 24 tunnin ajan. Reaktioseos juoksutettiin veteen (3 - 5 tilavuutta) ja uutettiin etyyliasetaatilla. Orgaaninen uute kuivattiin magnesiumsulfaatilla, suodatettiin ja väkevöitiin, jotta saatiin haluttu tuote (saanto 85 %), jota käytettiin pidemmälle puhdistamatta.

15 Esimerkki 2: 2-Propyylipentanaali

Voimakkaasti sekoitettuun, 0 °C:een jäähdytetyssä bentseenissä olevaan 2-propyyli-1,2-epoksipentaaniin (1 ekvivalentti), joka oli valmistettu esimerkissä 1 olevan kuvauksen mukaisesti, lisättiin bentseeniin valmistettua booritrifluoridieterraattiliuosta (0,5 ekvivalenttia). Reaktioseosta sekoitettiin 1 minuutin ajan ja reaktio lopetettiin lisäämällä vettä. Faasien erottumisen jälkeen orgaaninen faasi pestiin kylläisellä veteen tehdyllä natriumbikarbonaatilla ja vedellä, kuivattiin magnesiumsulfaatilla, suodatettiin ja väkevöitiin, jotta saatiin väritön öljy. Öljy tislattiin, jotta saatiin haluttu tuote värittömänä öljynä; saanto 75 %; kiehumispiste (k.p.) 60 - 63 °C/13,3 Pa.

30 Esimerkki 3: 4,4-Dipropyylisykloheks-2-enoni

Menetelmä 1: Emäksen (Triton B, 0,05 ekvivalenttia) tert-butanolissa olevaan liuokseen lisättiin yhtä aikaa eri tiputussuppiloista esimerkin 2 mukaisesti valmistettua 2-propyylipentanaalia (1 ekvivalentti), ja metyylivinyyliketonia (1,2 ekvivalenttia) 1 tunnin kuluessa siten, että lämpötila pysyi 15 °C:n alapuolella. Reaktioseokseen lisättiin tämän jälkeen väkevää suolahappoa (0,02 - 0,2 ekvivalenttia) ja liuos väke-

vöitiin tahmeaksi öljyksi. Öljy liuotettiin etyyliasetaattiin ja pestiin kahdesti 0,5 M natriumhydroksidiliuoksella. Orgaaninen faasi kuivattiin magnesiumsulfaatin päällä, suodatettiin ja väkevöitiin, jotta lasihelmikolonnitislauksen jälkeen saatiin haluttu tuote; k.p. 75 - 80 °C/6,7 Pa; saanto 20 - 35 %.

Menetelmä 2: Bentseenissä (400 ml/mooli) olevaan 2-propyyli-pentanaalin (1 ekvivalentti) ja metyylivinyyliketonin (1 ekvivalentti) liuokseen lisättiin väkevää rikkihappoa (3 ml/mooli). Reaktioseos kuumennettiin palautusjäähdyttäen käyttäen Dean-Stark-vesiloukkua. Palautusjäähdytystä jatkettiin 3 - 5 tunnin ajan eikä enempää veden erottumista havaittu. Musta reaktioseos jäähdytettiin huoneenlämpötilaan ja pestiin kylläisellä natriumbikarbonaatilla. Orgaaninen faasi kuivattiin magnesiumsulfaatilla, suodatettiin ja väkevöitiin, jotta saatiin tummanruskea öljy. Öljy tislattiin lasihelmitäytteisessä kolonnissa, jotta saatiin haluttu tuote värittömänä öljynä; k.p. 75 - 85 °C/10 Pa, saanto 65 - 75 %.

Esimerkki 4: 4,4-Dipropyyli sykloheksanoni

Etyyliasetaatissa olevaan 10-%:een palladiumpäällysteiseen hiileen (0,1 ekvivalenttia) lisättiin 4,4-dipropyyli sykloheks-2-enonia, joka oli valmistettu esimerkissä 3 kuvatulla tavalla. Reaktioseos vedytettiin 300 N/m² vetyä Parr-vedytyslaitteessa huoneenlämpötilassa, kunnes vedyn otto oli lakanut (0,5 - 5 tuntia). Katalyytti poistettiin suodattamalla piimaalla ja suodos väkevöitiin halutun tuotteen saamiseksi värittömänä öljynä. Tuote käytettiin ilman jatkopuhdistusta. Saanto oli 98 %.

Esimerkki 5: 2-Propyyli pent-4-enaali

Tolueeni, valeriaanahappoaldehydi (1 ekvivalentti), ja diisobutyylimiini (1 ekvivalentti) yhdistettiin ja kuumennettiin palautusjäähdyttäen Dean-Stark-vesiloukkua käyttäen. Kuumennusta jatkettiin, kunnes veden kertyminen loukkuun lak-

kasi (kerättiin 1 ekvivalentti vettä). Reaktioseos jäähdytettiin huoneenlämpötilaan ja tolueeni poistettiin alipaineessa. Värittömään jäännökseen lisättiin asetonitriiliä (500 ml/mooli), jonka jälkeen lisättiin allyylibromidia (1,5 ekvivalenttia). Reaktioseosta kuumennettiin palautusjäähdyttäen 16 - 24 tunnin ajan.

Reaktioseosta käsiteltiin puskuriliuoksella ((etikkahappo (60 ml)/natriumasetaatti (30 g)/vesi (300 ml))/mooli) ja kuumennettiin palautusjäähdyttäen 5 tunnin ajan. Kirkas oranssinruskea liuos jäähdytettiin huoneenlämpöön ja tähän lisättiin etyyliasetaattia (300 ml/mooli) ja suolavettä (150 ml/mooli). Orgaaninen faasi pestiin tämän jälkeen 10-%:lla vesipitoisella suolahapolla, vedellä, kylläisellä vesipitoisella natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolavedellä. Orgaaninen uute kuivattiin magnesiumsulfaatin päällä, suodatettiin ja väkevöitiin, jotta saatiin ruskea öljy. Öljy jakotislattiin halutun tuotteen saamiseksi; k.p. 68 - 73 °C/4000 Pa; saanto oli 50 %.

20

Esimerkki 6: 2-Propyylipentenaali

Parr-vedytyslaitteeseen vietiin 10 % palladiumpääallysteistä hiiltä (0,1 ekvivalenttia) ja etyyliasetaattia. Lisättiin esimerkin 5 mukaisesti valmistettua 2-propyylipent-4-enaalia etyyliasetaatissa. Seos vedytettiin 300 N/m² vetyä Parr-vedytyslaitteessa huoneenlämpötilassa, kunnes vedyn otto oli lakannut. Katalyytti poistettiin suodattamalla piimaan läpi. Suodos väkevöitiin halutun tuotteen saamiseksi värittömänä öljynä. Tuote käytettiin ilman jatkopuhdistusta.

30

Osa 1A: 4-Substituoitujen sykloheksanonien synteesi

4-Dekyylisykloheksanonin synteesi kuvataan esimerkissä 7. Muut suoraketjuiset, haaroituneet tai sykliset α -substituoidut aldehydit voitaisiin muuttaa 4-substituoiduiksi sykloheksanoneiksi.

35

Esimerkki 7: 4-Dekyyllisykloheksanonin synteesi

Kaliumkarbonaatin (1 ekvivalentti) ja morfoliinin (3,3 ekvivalenttia) seos jäädytettiin $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilaan inertin
5 atmosfäärin alla ja dodekanaalia (1 ekvivalentti) lisättiin
tipoittain 30 minuutin ajan. Reaktioseoksen annettiin lämme-
tä huoneenlämpöiseksi ja sekoitusta jatkettiin 3 - 6 tunnin
ajan. Eetteriin lisäämisestä ja tätä seuraavista suodatuk-
sesta ja väkevöinnistä saatiin raaka morfoliinieeniemiini.
10 Jäännös tislattiin halutun tuotteen saamiseksi; k.p. $103 - 108\text{ }^{\circ}\text{C}/9,3\text{ Pa}$; saanto oli 74 %.

Edellä kuvattu morfoliinieeniemiini (1 ekvivalentti) ja me-
tyylinvinyyliketoni (1,05 ekvivalenttia) yhdistettiin ja se-
15 koitettiin yli yön huoneenlämmössä inertin atmosfäärin alla.
Lisättiin puskuriliuosta ((natriumasetaatti (70 g)/etikkahap-
po (700 ml)/etanolli (525 ml)/vesi (175 ml))/mooli ja liuosta
kuumennettiin palautusjäädyttäen 4 - 6 tunnin ajan. Haihtu-
vat ainesosat poistettiin alipaineessa ja paksulle ruskealle
20 öljylle tehtiin jaotteleva uutto etyyliasetaatin ja veden
kesken. Orgaaninen faasi pestiin vedellä ja suolavedellä,
kuivattiin magnesiumsulfaatin päällä, suodatettiin ja väke-
vöitiin, jotta saatiin vaaleanruskea tahmea öljy. Öljy tis-
lattiin lasihelmitäytteisessä kolonnissa, jotta saatiin väri-
25 tön tahmea öljy, k.p. $122 - 135\text{ }^{\circ}\text{C}/29,3\text{ Pa}$; saanto oli 40 %.

Edellä syntetisoitu sykloheksanoni vedytettiin esimerkissä 6
kuvatulla tavalla, jotta saatiin 4-dekyyllisykloheksanoni.
Tuotetta käytettiin ilman jatkopuhdistusta.

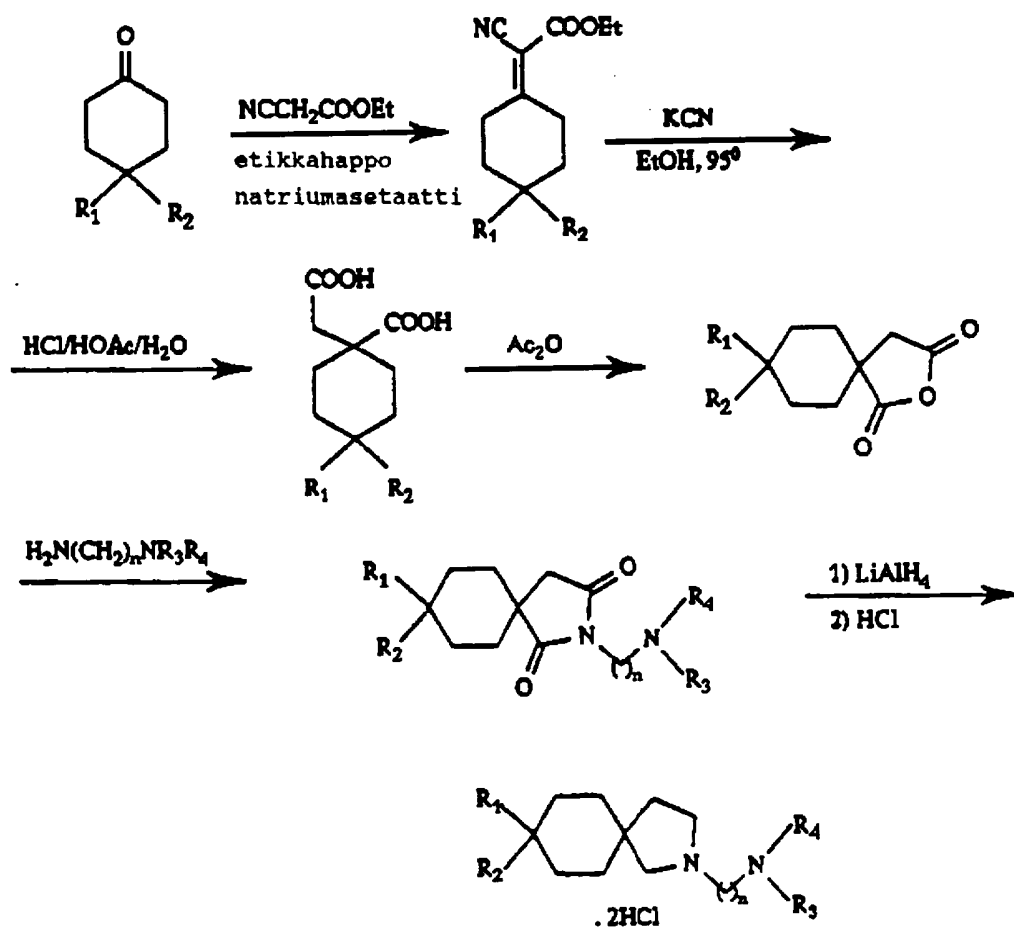
30

Osa 2: Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa m on 1 ja R_3 ja
 R_4 ovat muita kuin H

35

Kaaviossa 3 on esitetty pääpiirteittäin sellaisten atsaspia-
raanianalogien yleinen synteesi, jotka ovat kaavan (I) mukai-
sia, joissa m on 1; R_3 ja R_4 ovat muita kuin H, ja n, R_1 ja R_2
ovat määriteltä edellä esitetysti, käyttäen lähtöaineina so-
pivasti substituoituja sykloheksanoneja.

Kaavio 3



5

Esimerkit 8 - 12 kuvaavat 2-(3-dimetyyliaminopropyyli)-8,8-dietyyli-2-atsaspiro[4.5]dekaanidihydrokloridin synteesin 4,4-dietyylisykloheksanonista. Seuraavien syklisten ketonien annettiin reagoida samoin, jotta saatiin kaavan (I) mukaisia analogisia johdannaisia, ja näihin kuuluvat:

10

4,4-dipropyyლისykloheksanoni

4,4-dibutyylisykloheksanoni

4,4-dipentyylisykloheksanoni

4,4-bis(2-metyylipropyyli)sykloheksanoni

15

4-etyyli-4-butyylisykloheksanoni

4-metyyli-4-(1-metyylipropyyli)sykloheksanoni

:

4-sykloheksyyლისykloheksanoni

4-dekyylisykloheksanoni

4-(1,1-dimetyyli)sykloheksanoni

5 Esimerkki 11 kuvaa anhydridin reaktion dimetyyliaminopropyliamiinin kanssa, jotta saadaan haluttu imidi. Samalla tavoin on kondensoitu 4,4-dipropyylisykloheksaani-1-karboksi-1-etikkahappoanhydridi yhdisteiden:

10 4-dimetyyliaminobutyliamiini
5-dimetyyliaminopentyliamiini
6-dimetyyliaminoheksyliamiini
7-dimetyyliaminoheptyliamiini
3-dimetyyliaminopropyliamiini
3-(1-piperidiini)propyliamiini
15 6-(1-piperidiini)heksyliamiini
3-(1-pyrrolidiini)propyliamiini
6-(1-pyrrolidiini)heksyliamiini

20 kanssa ja pelkistetty tämän jälkeen, kuten esimerkissä 12 on kuvattu, halutun tuotteen saamiseksi hydrokloridin muodostamisen jälkeen.

25 Samalla tavoin voidaan mikä tahansa sopivasti substituoidusta sykloheksanonista johdettu anhydridi saattaa reagoimaan minkä tahansa edellä luetellun amiinin kanssa ja saattaa edelleen reagoimaan esimerkin 12 mukaisesti, jotta saadaan haluttu atsaspiraanianalogi.

30 Esimerkki 8: Etyyli- α -syaani- α -(4,4-dietyylisykloheksylideeni)asetatti

35 Tolueenissa olevaan 4,4-dietyylisykloheksanoniliuokseen (1 ekvivalentti) lisättiin etyyliasyaniasetaattia (1 ekvivalentti), etikkahappoa (0,2 ekvivalenttia) ja ammoniumasetattia (0,1 ekvivalenttia). Seos kuumennettiin palautusjäähdyttäen käyttäen Dean-Stark-laitetta keräämään talteen atseotrooppisesti reaktiosta poistuneen veden. Kun yksi ekvivalentti vettä oli kerätty, reaktioseos jäähdytettiin ja pestiin ve-

dellä ja kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella. Orgaaninen faasi kuivattiin magnesiumsulfaatin päällä, suodatettiin ja väkevöitiin. Jäännös puhdistettiin tislamalla lasihelmitäytteisessä kolonnissa, jotta saatiin haluttu tuote
 5 värittömänä öljynä; k.p. 92 - 98 °C/20 Pa; saanto oli 80 - 95 %.

Esimerkki 9: 4,4-Dietyyylisykloheksaani-1-karboksi-1-etikkahappo

10

Etanolissa olevaan, edellä kuvatulla tavalla valmistetun etyyli- α -syaani- α -(4,4-dietyyylisykloheksylideeni)asetaatin liuokseen (1 ekvivalentti) lisättiin vedessä olevaa kaliumsy-
 15 anidiliuosta (1,15 ekvivalenttia). Reaktioseos kuumennettiin 50 - 85 °C:ssa 3 - 9 tunnin ajan ja väkevöitiin sitten kuivaksi. Jäännös käsiteltiin suolahapolla ja uutettiin etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset uutteet kuivattiin magnesiumsulfaatin päällä, suodatettiin ja väkevöitiin. Jäännös
 20 liuotettiin koostumuksen etikkahappo/suolahappo/vesi ((4,5 1/2 1/0,2 1)/mooli) omaavaan seokseen ja kuumennettiin palautusjäähdyttään 2 - 5 päivän ajan. Haihtuvat aineet poistettiin alipaineessa ja kiinteälle jäännökselle tehtiin jaottele-
 va uutto etyyliasetaatin ja veden kesken. Orgaaninen uute kuivattiin magnesiumsulfaatilla, suodatettiin ja väkevöitiin,
 25 jotta saatiin haluttu dihapo valkeana kiinteänä aineena. Uudelleenkiteytytyksellä etyyliasetaatista saatiin valkea ki-
 30 teinen kiinteä aine; sp. 150 - 152 °C, saanto oli 75 - 85 %.

Esimerkki 10: 4,4-Dietyyylisykloheksaani-1-karboksi-1-etikkahappoanhydridi

30

Esimerkin 9 mukaan valmistettu 4,4-dietyyylisykloheksaani-1-karboksi-1-etikkahappo liuotettiin etikkahappoanhydridiin ja
 35 palautusjäähdytettiin 1 - 6 tunnin ajan. Ylimäärä etikkahappoanhydridiä poistettiin alipainetislauksella ja jäännös kiteytettiin uudelleen heksaaneista; sp. 91 - 93 °C; saanto oli 90 - 95 %.

:

Huomaa: Tapauksissa, joissa lähtöaineena olevan sykloheksanonin 4-asemassa olevat substituentit eivät ole identtisiä, erotettiin geometrisesti isomeeriset anhydridit kromatografisesti preparatiivisella Waters 500-järjestelmällä käyttäen
5 heksaani/etyyliasettaattiseoksia eluenttina.

Esimerkki 11: 2-(3-Dimetyyliaminopropyyli)-8,8-dietyyli-2-atsaspiro[4.5]dekaani-1,3-dioni

10 Tolueenissa olevaan 4,4-dietyylisykloheksaani-1-karboksi-1-etikkahappoanhydridiliuokseen (1 ekvivalentti) lisättiin 3-dimetyyliaminopropyyliamiinia (1,05 ekvivalenttia) ja reaktioseos kuumennettiin palautusjäähdyttään Dean-Stark-loukkua käyttäen. Loukussa olevan veden talteenoton ((1 ekvivalentti)
15 ti) jälkeen reaktioseos jäähdytettiin huoneenlämpöön ja liuotin poistettiin alipaineessa. Jäännös käytettiin suoraan ilman jatkopuhdistusta.

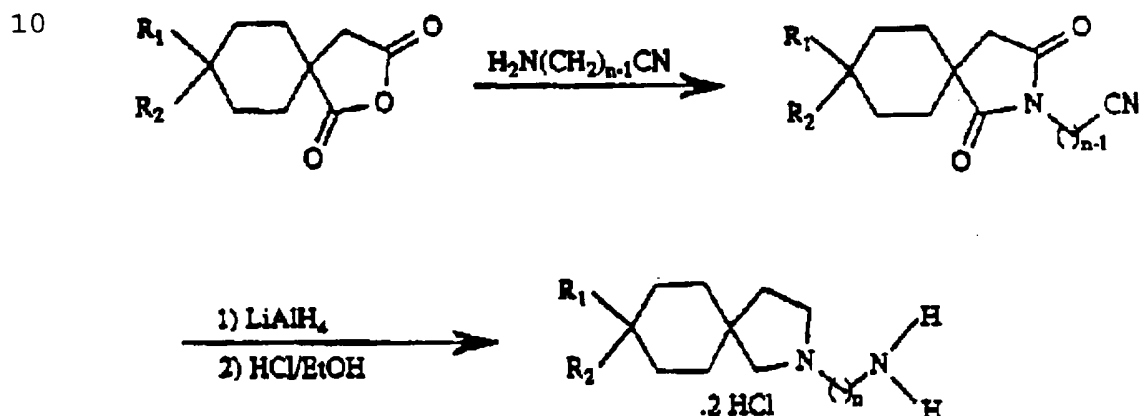
Esimerkki 12: 2-(3-Dimetyyliaminopropyyli)-8,8-dietyyli-2-atsaspiro[4.5]dekaanidihydrokloridi
20

Dietyylieetterissä olevaan litiumaluminiumhydridiin (4 ekvivalenttia) lisättiin tipoittein dietylieetterissä olevan, esimerkissä 11 kuvatulla tavalla valmistetun 2-(3-dimetyyliaminopropyyli)-8,8-dietyyli-2-atsaspiro[4.5]dekaani-1,3-dionin liuosta (1 ekvivalentti). Reaktioseosta sekoitettiin 2 -
25 6 tuntia lisäyksen päättymisestä. Hydridiylimäärä tuhottiin natriumsulfaattidekahydraatilla ja saatu seos suodatettiin ja suodos väkevöitiin halutun amiinin saamiseksi värittömänä
30 öljynä; saanto oli 90 - 95 %.

Öljy liuotettiin minimimäärään vedetöntä etanolia ja siihen lisättiin etanolissa oleva suolahappoliuos. Lisättäessä suuri tilavuus eetteriä muodostui valkea sakka, joka eristettiin
35 suodattamalla. Valkea kiinteä aine kiteytettiin uudelleen etanolista; sp. 298 - 299 °C (hajoaminen). Saanto oli 90 %.

Osa 3: Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa m on 1 ja R_3 ja R_4 ovat H

5 Kaaviossa 4 on esitetty pääpiirteittäin sellaisten atsaspi-
raanianalogien yleinen synteesi, jotka ovat kaavan (I) mukai-
sia, missä m on 1; R_3 ja R_4 ovat H, ja n, R_1 ja R_2 ovat määri-
teltyjä edellä esitetysti, käyttäen lähtöaineina sopivasti
käsiteltäviä sykloheksanoneja.



Esimerkit 13 ja 14 kuvaavat 2-(3-aminopropyyli)-8,8-dipropyy-
li-2-atsaspiro[4.5]dekaanidihydrokloridin synteesin 4,4-dip-
ropyyli-sykloheksaani-1-karboksi-1-etikkahappoan
hydridistä.

15

Samalla tavalla voidaan sopivasti substituoidut sykloheksano-
nit ja näistä johdetut edellä kuvatut anhydrit saattaa rea-
goimaan ω -aminoalkyylinitriilien ($n = 4 - 7$) kanssa, kuten
esimerkeissä 13 ja 14, sellaisten haluttujen atsaspiraani-
20 syntetisoimiseksi, joissa $R_3 = R_4 = \text{H}$.

Esimerkki 13: 2-(2-syaanietyyli)-8,8-dipropyli-2-atsaspiro[4.5]-dekaani-1,3-dioni

5 4,4-Dipropyylisykloheksaani-1-karboksi-1-etikkahappoanhydridiliuokseen (1 ekvivalentti), joka oli valmistettu analogisesti esimerkissä 10 valmistetun 4,4-dietyylijohdannaisen kanssa, lisättiin 3-aminopropaaninitriiliä (1,1 ekvivalenttia) ja tolueenia. Reaktioseos kuumennettiin palautusjäähdyttään Dean-Stark-loukkua käyttäen. Veden talteenoton (10 ekvivalentti) jälkeen reaktioseos jäähdytettiin huoneenlämpöön ja liuotin poistettiin alipaineessa. Jäännös puhdistettiin pylväskromatografialla (heksaani/etyyliasetatti (2/1)) valkean kiinteän aineen saamiseksi; sp. 117 - 117,5 °C; saalis oli 95 %.

15

Esimerkki 14: 2-(3-Aminopropyli)-8,8-dipropyli-2-atsaspiro[4.5]dekaanidihydrokloridi

20 Dietyylietterissä olevaan litiumaluminiumhydridiin (4 ekvivalenttia) lisättiin tipoitain dietyylietterissä olevan, esimerkissä 13 kuvatulla tavalla valmistetun 2-(2-syaanietyyli)-8,8-dipropyli-2-atsaspiro[4.5]-dekaani-1,3-dioninliuosta (1 ekvivalentti). Reaktioseosta sekoitettiin 2 - 4 tuntia lisäyksen päätyttyä. Hydridiylimäärä tuhottiin natriumsulfaattidekahydraatilla ja saatu seos suodatettiin ja suodos väkevöitiin. Saatu neste puhdistettiin preparatiivisella nestekromatografialla (silikageeli; 2,5 % ammoniumhydroksidi metanolissa) halutun amiinin saamiseksi värittömänä öljynä; saanto oli 73 %.

30

Öljy liuotettiin minimimäärään vedetöntä etanolia ja siihen lisättiin etanolissa oleva suolahappoliuos. Liuos väkevöitiin valkean kiinteän aineen saamiseksi, sp. 245 - 249 °C (hajoaminen); saanto 95 %.

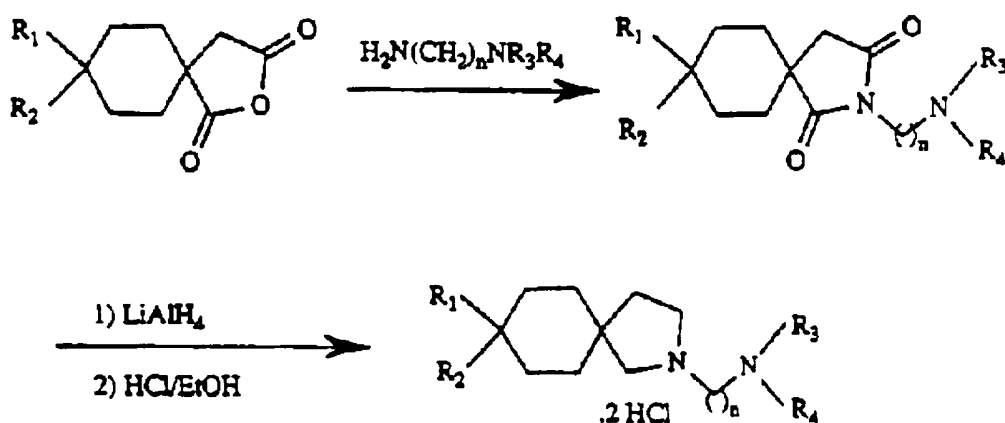
35

Osa 4: Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa m on 1 ja R₃ on muu kuin H ja R₄ on H

.

Kaaviossa 5 on esitetty pääpiirteittäin sellaisten atsaspiraanianalogien yleinen synteesi, jotka ovat kaavan (I) mukaisia, jossa m on 1; toinen R_3 :sta ja R_4 :sta on H, ja n, R_1 ja R_2 ovat edellä olevan esityksen mukaisesti määriteltäviä, käyttäen lähtöaineina sopivasti substituoituja sykloheksanoneja.

Kaavio 5



Esimerkit 15 ja 16 kuvaavat 2-(3-metyyliaminopropyyli)-8,8-dipropyyli-2-atsaspiro[4.5]dekaanidihydrokloridin synteesin 4,4-dipropyyllisykloheksaani-1-karboksi-1-etikkahappoanhydridistä.

Samalla tavalla voidaan sopivasti substituoidut edellä kuvautut sykloheksanonit ja näistä johdetut anhydridit saattaa reagoimaan ω -alkyyliaminoalkyyliamiinien ($n = 4 - 8$) kanssa sellaisten atsaspiraanien saamiseksi, joissa $R_3 =$ alkyyliiryhmä ja $R_4 = H$.

Esimerkki 15: 2-(3-Metyyliaminopropyyli)-8,8-dipropyyli-2-atsaspiro[4.5]dekaanidioni

Tolueenin ja 4,4-dipropyyllisykloheksaani-1-karboksi-1-etikkahappoanhydridin liuokseen (1 ekvivalentti) lisättiin 3-metyyliaminopropyyliamiinia (1,05 ekvivalenttia). Reaktioseos kuumennettiin palautusjäähdyttäen Dean-Stark-loukkua käyttäen. Veden talteenoton (1 ekvivalentti) jälkeen reaktioseos

jäähdytettiin huoneenlämpöön ja liuotin poistettiin alipaineessa. Jäännös käytettiin ilman jatkopuhdistusta.

5 Esimerkki 16: 2-(3-Metyyliaminopropyyli)-8,8-dipropyyli-2-atsaspiro[4.5]dekaanidihydrokloridi

10 Dietyylieetterissä olevaan litiumaluminiumhydridiseokseen (4 ekvivalenttia) lisättiin tipoittain dietyylieetterissä olevan, esimerkissä 15 kuvatulla tavalla valmistetun 2-(3-metyyliaminopropyyli)-8,8-dipropyyli-2-atsaspiro[4.5]dekaanidionin liuosta (1 ekvivalentti). Reaktion myöhemmät vaiheet tehtiin esimerkin 14 mukaisesti. Tuote puhdistettiin pylväskromatografialla (silikageeli; 0,5-%:inen ammoniumhydroksidi metanolissa) värittömän öljyn saamiseksi; saanto oli 67 %.

15 Öljy liuotettiin minimimäärään vedetöntä etanolia ja siihen lisättiin etanolissa oleva suolahappoliuos. Jäähdytettäessä muodostui valkea sakka, joka eristettiin suodattamalla; sp. 258 - 260 °C (hajoaminen); saanto 84 %.

20 Osa 5: Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, jossa m on 2

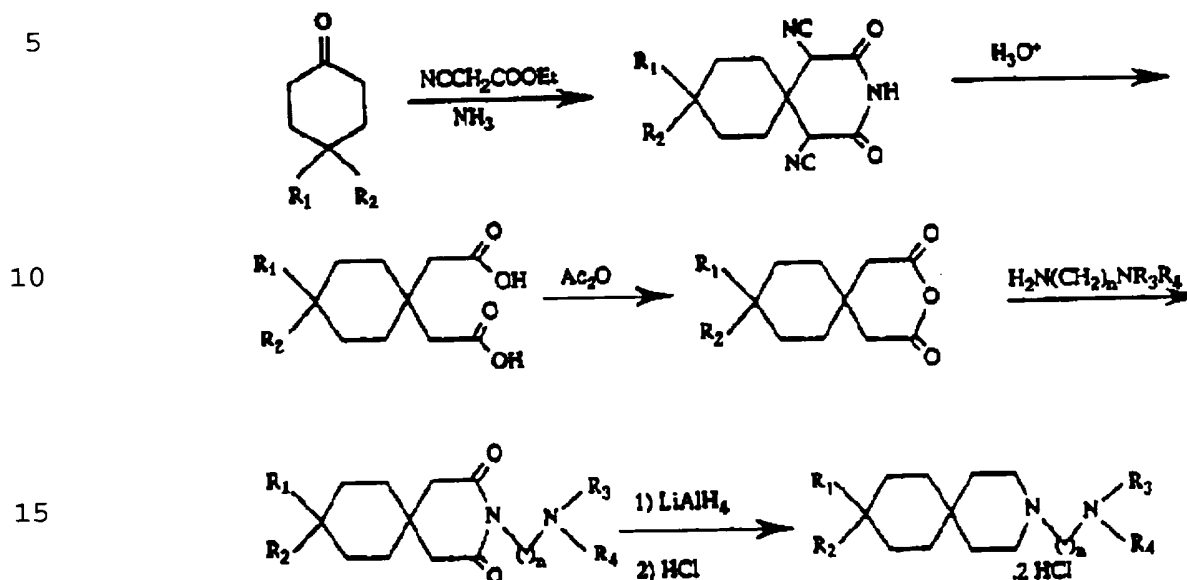
25 Kaaviossa 6 on esitetty pääpiirteittäin synteesitie alkyylisubstituoituihinatsaspiro[5.5]undekaanianalogeihin sopivasti substituoiduista sykloheksanoneista lähtien.

:

Esimerkit 17 - 21 kuvaavat 3-(3-dimetyyliamino)propyyli-9,9-dipropyyli-3-atsaspiro[5.5]undekaanidihydrokloridisynteesin 4,4-dipropyyli-sykloheksanonista.

:

Kaavio 6



Edellä kuvatun mukaiset (katso osat 1, 1A ja 2), sopivasti substituoidut sykloheksanonit ja näistä tässä osassa esitetyn kuvauksen mukaisesti johdetut anhydridit voidaan samoin saat-
taa reagoimaan:

a) synteesiesimerkkien osassa 2 esitetyn kuvauksen mukaisten dialkyyliaminoalkyyliamiinien kanssa selllaisten atsaspiraani-
johdannaisten saamiseksi, joissa $R_3 = R_4 =$ alkyyliryhmä

b) synteesiesimerkkien osassa 3 esitetyn kuvauksen mukaisten aminoalkyylinitriilien kanssa selllaisten atsaspiraani-
johdannaisten saamiseksi, joissa $R_3 = R_4 = H$

c) synteesiesimerkkien osassa 4 esitetyn kuvauksen mukaisten alkyyliaminoalkyyliamiinien kanssa selllaisten atsaspi-
raanijohdannaisten saamiseksi, joissa $R_3 =$ alkyyliryhmä ja $R_4 = H$.

Esimerkki 17: 9,9-Dipropylyli-1,5-disyaani-3-atsaspiro[5.5]-undekaani-2,4-dioni

Etanolissa olevaan, 0 °C:een jäähdytettyyn 4,4-dipropyylisykloheksanonin (1 ekvivalentti) ja etyyliisyaaniasetaatin (2 ekvivalenttia) liuokseen lisättiin kylläistä alkoholisen ammoniakkin liuosta. Reaktioliuos suljettiin korkilla ja sen annettiin reagoida 0 °C:ssa kahdesta seitsemään päivään. Saostunut disyaani-imidin ammoniumsuola suodatettiin, purettiin, pestiin eetterillä ja kuivatettiin. Kuivatettu suola liuotettiin minimimäärään kiehuvaa vettä ja suodatettiin kuumana. Kuumaa suodosta sekoitettiin ja se tehtiin happameksi väkevällä suolahapolla ja tämän jäähdyttyä saostunut tuote eristettiin suodattamalla, jotta saatiin haluttu imidi; saanto oli 33 %.

Esimerkki 18: 4,4-Dipropyylisykloheksaani-1,1-dietikkahappo

Esimerkin 17 mukaisen menetelmän mukaan valmistettu 9,9-dipropylyli-1,5-disyaani-3-atsaspiro[5.5]-undekaani-2,4-dioni liuotettiin liuokseen, jonka koostumus oli väkevä suolahappo-/etikkahappo/vesi (4/7/1), ja liuosta kuumennettiin palautusjäähdyttäen 2 - 3 päivää. Reaktioseos jäähdytettiin huoneenlämpöön ja haihtuvat aineet poistettiin pyöröhaihduttajassa. Jäännökselle tehtiin jaotteleva uutto veden ja etyyliasetaatin kesken. Orgaaninen faasi pestiin suolavedellä, kuivatettiin magnesiumsulfaatin päällä, suodatettiin ja väkevöitiin, jotta saatiin haluttu happo, joka kiteytettiin uudelleen etyyliasetaatti/heksaanit -liuoksesta; saanto oli 35 - 50 %.

Esimerkki 19: 4,4-Dipropyylisykloheksaani-1,1-dietikkahappoanhydridi

Esimerkissä 18 kuvatulla tavalla valmistettu 4,4-dipropyylisykloheksaani-1,1-dietikkahappoliuotettiin etikkahappoanhydridiin ja palautusjäähdytettiin 1 - 6 tuntia. Etikkahappoanhydridin ylimäärä poistettiin alipainetislauksella ja jään-

nös kiteytettiin uudelleen heksaaneista, sp. 91 - 93 °C; saanto oli 90 - 95 %.

Esimerkki 20: 3-(3-Dimetyyliamino)propyyli-9,9-dipropyyli-3-atsaspiro[5.5]undekaani-2,4-dioni

Tämä imidi valmistettiin esimerkissä 19 kuvatulla tavalla 9,9-dipropyyllisykloheksaani-1,1-dietikkahappoanhydridistä (1 ekvivalentti) ja 3-dimetyyliaminopropyyliamiinista (1 ekvivalentti) esimerkissä 11 esitetyn kuvauksen mukaisesti. Tuote, väritön öljy, käytettiin ilman jatkopuhdistusta.

Esimerkki 21: 3-(3-Dimetyyliamino)propyyli-9,9-dipropyyli-3-atsaspiro[5.5]undekaanidihydrokloridi

Amiini valmistettiin pelkistämällä litiumaluminiumhydridillä esimerkissä 16 esitetyn kuvauksen mukaisesti valmistettu 3-(dimetyyliamino)propyyli-9,9-dipropyyli-3-atsaspiro[5.5]undekaani-2,4-dioni esimerkissä 12 kuvatun tavan mukaisesti. Raakatuotteena saatu valkea kiinteä aine saostui eetterilisäyksellä ja tämä kiteytettiin uudelleen etanolista; sp. >320 °C, hajoaminen; saanto oli 85 - 90 %.

Osa 6: Kaavan (II) mukaisten polysyklisten atsaspiraaniaanalogien synteesi

2-Adamantanoni muunnettiin 4,4-spirosubstituoiduksi sykloheksanoniksi, kuten osassa 1 on kuvattu, ja muunnettiin sen jälkeen halutuksi atsaspiraanianalogiksi osassa 2 kuvattuja menetelmiä (esimerkit 8 - 12) käyttäen; 329 - 330°C.

2-Adamantanoni muunnettiin halutuksi atsaspiraani johdannaiseksi osassa 2 kuvattuja menetelmiä käyttäen (esimerkit 8 - 12); sp. 300 - 302 °C.

35

2-Adamantanoni voitiin myös saada reagoimaan osassa 5 kuvatulla tavalla sellaisten atsaspiraani johdannaisten saamiseksi, joissa m = 2.

Samoin voitiin 2-adamantanonin anhydridi, joka oli syntetisoitu joko osassa 2 tai osassa 5 kuvatulla tavalla, saattaa reagoimaan:

- 5 a) synteesiesimerkkien osassa 2 kuvattujen dialkyyliaminoalkyyliamiinien kanssa sellaisten atsaspiraani johdannaisten saamiseksi, joissa $R_3 = R_4 =$ alkyyliiryhmä
- b) synteesiesimerkkien osassa 3 kuvattujen aminoalkyylinitriilien kanssa sellaisten johdannaisten saamiseksi, joissa $R_3 = R_4 = H$
- 10 c) synteesiesimerkkien osassa 4 kuvattujen alkyyliaminoalkyyliamiinien kanssa sellaisten atsaspiraani johdannaisten saamiseksi, joissa $R_3 =$ alkyyliiryhmä ja $R_4 = H$.

15 Bisyklo[3.3.1]nonan-9-oni saatettiin samoin reagoimaan osan 2 mukaisesti halutun atsaspiraanianalogin saamiseksi; sp. 303 - 304 °C. Tämä ketoni voitiin myös 2-adamantanonin tavoin modifioida samalla tavalla substituoiduiksi diamiinijohdannaisiksi.

20 3,3-Dimetyyllibisyklo[3.3.1]nonan-9-oni ja 3,3,7,7-tetrametyyllibisyklo[3.3.1]nonan-9-oni (valmistettu väitöskirjan Y. Chan, (1972) Ph. D. Dissertation, University of Utah, mukaisesti) voitiin saada reagoimaan lähtösystemistä edellä esitetyn kuvauksen mukaisesti.

25

:

Taulukko 3

Sulamispisteet (hajoaminen) kaavan (I) ja kaavan (II) mukaisilla yhdisteillä, jotka on valmistettu synteesiesimerkeissä
 5 esitettyjen menetelmien mukaisesti

	# ^(a)	sp. (°C)
	01	300 - 302
	02	299 - 300
10	03	299 - 301
	04	301 - 302
	05	297 - 298
	06	245 - 249
	07	258 - 260
15	08	295 - 296
	09	296 - 298
	10	289 - 291
	11	303 - 304
	12	306 - 307
20	13	297 - 298
	14	326 - 328
	15	325 - 326
	16	334 - 335
	17	305 - 307
25	18	252 - 254
	19	285 - 286
	20	266 - 269
	21	274 - 276
	22	259 - 261
30	23	245 - 246
	24	329 - 330
	25	308 - 310
	26	323 - 325
	27	284 - 286
35	28	287 - 289
	29	293 - 296
	30	271 - 272
	31	275 - 278
	32	240 - 245
40	-----	

(a) Katso rakenteet, taulukko 1.

45

..

Taulukko 4

Alkuaineanalyysi kaavan (I) ja kaavan (II) mukaisista yhdisteistä, jotka on valmistettu synteesisimerkeissä esitettyjen
5 menetelmien mukaisesti

molekyyli- mol.

kaava paino laskettu:

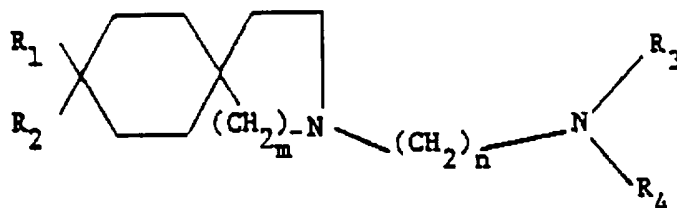
havaittu:

			C:	H:	N:	Cl:		C:	H:	N:	Cl:
10	01	$C_{18}H_{31}N_7Cl_2$	353.5	61.17	10.83	7.93	20.06	60.98	10.78	7.64	20.01
	02	$C_{20}H_{42}N_7Cl_2$	381.5	62.97	11.10	7.34	18.59	62.73	10.97	7.32	18.42
	03	$C_{22}H_{44}N_7Cl_2$	409.5	64.52	11.32	6.84	17.31	64.69	11.34	6.82	
	04	$C_{24}H_{50}N_7Cl_2$	437.6	65.88	11.52	6.40	16.20	66.04	11.42	6.31	16.39
	05	$C_{26}H_{46}N_7Cl_2$	409.5	64.52	11.32	6.84	17.31	64.23	11.32	6.76	17.28
	06	$C_{18}H_{31}N_7Cl_2$	353.4	61.17	10.84	7.93	19.30	61.03	10.90	7.85	19.97
	07	$C_{19}H_{40}N_7Cl_2$	367.4	62.11	10.97	7.62	19.30	62.06	10.99	7.58	19.33
	08	$C_{21}H_{44}N_7Cl_2$	395.5	63.78	11.21	7.08	17.93	63.68	11.07	7.08	18.12
15	09	$C_{19}H_{40}N_7Cl_2$	367.4	62.11	10.97	7.62	19.30	62.06	10.98	7.61	19.35
	10	$C_{19}H_{40}N_7Cl_2$	367.4	62.11	10.97	7.62	19.30	61.99	11.01	7.58	19.36
	11	$C_{20}H_{42}N_7Cl_2$	381.5	62.97	11.10	7.34	18.59	62.92	11.11	7.30	18.64
	12	$C_{20}H_{42}N_7Cl_2$	381.5	62.97	11.10	7.34	18.59	62.88	11.13	7.31	18.65
	13	$C_{24}H_{50}N_7Cl_2$	437.6	65.88	11.52	6.40	16.20	65.89	11.52	6.38	16.17
	14	$C_{20}H_{40}N_7Cl_2$	379.5	63.31	10.62	7.38	18.69	63.24	10.64	7.37	18.68
	15	$C_{18}H_{31}N_7Cl_2$	353.4	61.17	10.84	7.93	20.06	61.10	10.77	8.02	20.07
	16	$C_{18}H_{31}N_7Cl_2$	353.4	61.17	10.84	7.93	20.06	61.16	10.86	7.92	19.94
	17	$C_{20}H_{40}N_7Cl_2$	379.5	63.31	10.62	7.38	18.69	63.22	10.67	7.35	18.70
20	18	$C_{22}H_{46}N_7Cl_2$	409.5	64.52	11.32	6.84	17.31	64.42	11.32	6.82	17.39
	19	$C_{22}H_{46}N_7Cl_2$	421.5	65.53	11.00	6.65	16.82	65.42	11.03	6.64	16.89
	20	$C_{21}H_{44}N_7Cl_2$	395.5	63.78	11.21	7.08	17.93	63.64	10.99	6.96	
	21	$C_{22}H_{46}N_7Cl_2$	409.5	64.52	11.32	6.84	17.31	64.59	11.30	6.78	17.30
	22	$C_{23}H_{48}N_7Cl_2$	423.6	65.22	11.42	6.61	16.74	65.05	11.29	6.57	
	23	$C_{24}H_{50}N_7Cl_2$	437.6	65.88	11.52	6.40	16.20	65.91	11.48	6.37	16.19
	24	$C_{20}H_{40}N_7Cl_2$	417.5	66.17	10.14	6.71	16.98	66.21	10.16	6.67	16.94
	25	$C_{18}H_{31}N_7Cl_2$	349.4	61.88	9.81	8.02	20.29	61.30	9.70	7.85	
	26	$C_{17}H_{24}N_7Cl_2$	337.4	60.52	10.16	8.30	21.02	60.55	10.12	8.31	
	27	$C_{22}H_{44}N_7Cl_2$	407.5	64.84	10.88	6.87	17.40	64.75	10.89	6.87	17.34
25	28	$C_{25}H_{50}N_7Cl_2$	449.6	66.79	11.21	6.23	15.77	66.68	11.31	6.30	15.67
	29	$C_{26}H_{52}N_7Cl_2$	463.6	67.36	11.30	6.04	15.29	67.39	11.29	6.03	15.24
	30	$C_{20}H_{40}N_7Cl_2$	379.5	63.31	10.62	7.38	18.69	63.24	10.65	7.35	18.65
	31	$C_{21}H_{42}N_7Cl_2$	393.5	64.10	10.76	7.12	18.02	60.01	10.81	7.10	17.93
	32	$C_{20}H_{42}N_7Cl_2$	381.5	62.97	11.10	7.34	18.59	62.83	11.11	7.31	18.52

30 -----

Huomautus: Yhdisteistä 03, 20, 22, 25 ja 26 ei analysoitu kloridikoostumusta

1. Menetelmä immunomodulatorisen vaikutuksen omaavan kaavan (IA) mukaisen atsaspiraanianalogin tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan, hydraatin tai solvaatin valmistamiseksi,



Kaava (IA)

jossa kaavassa

n on 3 - 7;

m on 1 tai 2;

R_1 ja R_2 ovat samoja tai erilaisia ja valitaan ryhmästä, johon kuuluvat vety ja suoraketjuinen, haarautunut tai syklinen alkyyli, edellyttäen, että R_1 :n ja R_2 :n sisältämien hiiliatomien kokonaismäärä on yhteensä 4-10; tai R_1 ja R_2 ovat liittyneet yhteen muodostaen syklisen alkyyliryhmän, joka sisältää 3-7 hiiliatomia;

R_3 ja R_4 ovat samoja tai erilaisia ja valitaan ryhmästä, johon kuuluu vety ja suoraketjuinen alkyyli, joka sisältää 1-3 hiiliatomia; tai R_3 ja R_4 ovat liittyneet yhteen muodostaen syklisen alkyyli-ryhmän, joka sisältää 4-7 hiiliatomia;

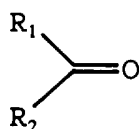
edellyttäen, että kun R_1 ja R_2 ovat CH_3CH_2 , R_3 ja R_4 ovat CH_3 ja m on 1 tai 2, n on muu kuin 3; ja edellyttäen edelleen, että kun R_1 on H ; R_2 on $(\text{CH}_3)_3\text{C}$; R_3 ja R_4 ovat CH_3 ja m on 1 tai 2, n on muu kuin 3; ja edellyttäen edelleen, että

kun R_2 on H; R_1 on $(CH_3)_3C$; R_3 ja R_4 ovat CH_3 ja m on 2, n on muu kuin 3;

5 t u n n e t t u siitä, että A) kun m on 1 ja R_3 ja R_4 ovat muita kuin vetyjä, sellainen menetelmä käsittää sen, että

i) käsitellään $((CH_3)_3S^+O)I^-$:a, emästä (edullisesti NaH/DMSO:a DMSO:ssa) tai emästä inertissä liuottimessa ja sopivaa kaavan A mukaista yhdistettä

10

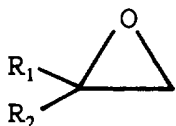


Kaava A

15

jolloin muodostuu kaavan B mukaista yhdistettä

20

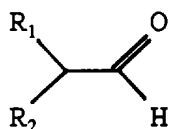


Kaava B

25 ii) käsitellään vaiheessa i) valmistettua, kaavan B mukaista
 • yhdistettä Lewis'in hapon ja inertin liuottimen (edullisesti BF_3OEt_2 :n tai bentseenin) kanssa, jolloin muodostuu vastaavaa kaavan C mukaista yhdistettä:

30

∴



Kaava C

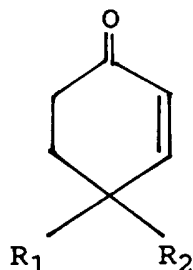
35

iii) käsitellään vaiheessa ii) tuotettua, kaavan C mukaista
 ∴ yhdistettä metyylivinyyliketonin kanssa ja katalyyttisen

määrän kanssa väkevöityä rikkihappoa, jolloin muodostuu vastaavaa kaavan D mukaista yhdistettä:

5

10

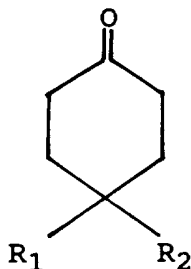


Kaava D

iv) käsitellään vaiheessa iii) tuotettua, kaavan D mukaista yhdistettä $H_2:n$, hydrauskatalysaattorin (edullisesti 5-10-%:isen palladiumhiilen) ja inertin liuottimen (edullisesti etyyliasetaatin) kanssa, jolloin muodostuu vastaavaa kaavan E mukaista yhdistettä:

20

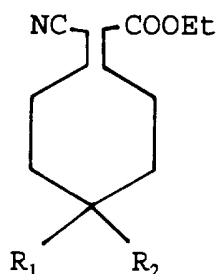
25



Kaava E

v) käsitellään vaiheessa iv) tuotettua, kaavan E mukaista yhdistettä alkyylisyaaniasetaatin (edullisesti metyyli- tai etyyliisyaaniasetaatin) kanssa ja happokatalyysissä (edullisesti etikkahappo/natriumasetaatti) tai emäskatalyysissä (edullisesti piperidiini) ja liuottimen kanssa veden poistamiseksi atseotrooppisesti (edullisesti bentseeni tai tolueeni), jolloin muodostuu vastaavaa kaavan F mukaista yhdistettä:

5

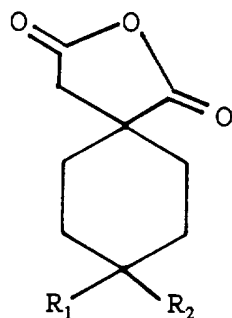


Kaava F

10 vi) käsitellään vaiheessa v) tuotettua, kaavan F mukaista
yhdistettä perättäisesti a) natrium- tai kaliumsyanidin,
veden ja alkoholin (edullisesti metanolin tai etanolin) kans-
sa, lämpötilassa 95°C, b) emäksisellä vesipitoisella hydro-
lyysillä ja lämmöllä (edullisesti kaliumhydroksidi, vesi,
15 etyleeniglykoli 120°C:ssa) tai happamassa hydrolyysissä (e-
dullisesti väkevöity HCl, etikkahappo, vesi ja palautusjääh-
dytys), tai c) vettä poistavan aineen kanssa (edullisesti
asetanhydridin kanssa 100°C:ssa), jolloin muodostuu vastaavaa
kaavan G mukaista yhdistettä

20

25

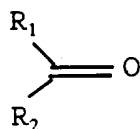


Kaava G

30 vii) käsitellään vaiheessa vi) tuotettua, kaavan G mukaista
yhdistettä perättäisesti a) $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_n\text{NR}_3\text{R}_4$:n liuottimen kanssa
veden poistamiseksi atseotrooppisesti (edullisesti tolueenin
kanssa), b) vahvan pelkistävän aineen kanssa (edullisesti
litiumalumiinihydridin kanssa), ja c) kloorivetykaasun ja
35 inertin liuottimen (edullisesti etanolin) kanssa, jolloin
muodostuu vastaavaa kaavan (IA) mukaista yhdistettä; ja
silloin, B) kun m on 1 ja R_3 ja R_4 ovat vetyjä, sellainen
menetelmä käsittää sen, että

i) käsitellään $((\text{CH}_3)_3\text{S}^+\text{O})\text{I}^-$:a, emästä (edullisesti NaH/DMSO:a DMSO:ssa) tai emästä inertissä liuottimessa ja sopivaa kaavan A mukaista yhdistettä

5

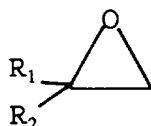


Kaava A

10

jolloin muodostuu kaavan B mukaista yhdistettä

15

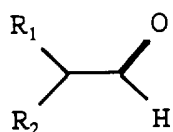


Kaava B

20

ii) käsitellään vaiheessa i) valmistettua, kaavan B mukaista yhdistettä Lewis'in hapon ja inertin liuottimen (edullisesti BF_3OEt_2 :n tai bentseenin) kanssa, jolloin muodostuu vastaavaa kaavan C mukaista yhdistettä:

25



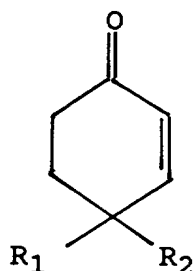
Kaava C

30

iii) käsitellään vaiheessa ii) tuotettua, kaavan C mukaista yhdistettä metyyllivinyyliketonin kanssa ja katalyyttisen määrän kanssa väkevöityä rikkihappoa, jolloin muodostuu vastaavaa kaavan D mukaista yhdistettä:

35

5

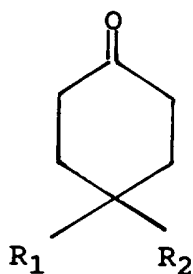


Kaava D

10 iv) käsitellään vaiheessa iii) tuotettua, kaavan D mukaista yhdistettä $H_2:n$, hydrauskatalysaattorin (edullisesti 5-10-%:isen palladiumhiilen) ja inertin liuottimen (edullisesti etyyliasetaatin) kanssa, jolloin muodostuu vastaavaa kaavan

15

20



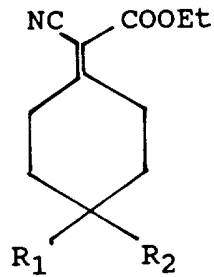
Kaava E

25 v) käsitellään vaiheessa iv) tuotettua, kaavan E mukaista yhdistettä alkyyliasyaaniasetaatin (edullisesti metyyli- tai etyyliasyaaniasetaatin) kanssa ja happokatalyyysillä (edullisesti etikkahappo/natriumasetatti) tai emäskatalyyysillä (edullisesti piperidiini) ja liuottimen kanssa veden poistami-

30 miseksi atseotrooppisesti (edullisesti bentseeni tai tolueeni), jolloin muodostuu vastaavaa kaavan F mukaista yhdistettä:

35

5

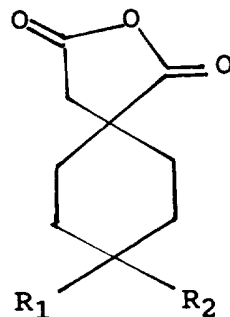


Kaava F

vi) käsitellään vaiheessa v) tuotettua, kaavan F mukaista yhdistettä perättäisesti a) natrium- tai kaliumsyanidin, veden ja alkoholin (edullisesti metanolin tai etanolin) kanssa, lämpötilassa 95°C , b) emäksisellä vesipitoisella hydrolyysillä ja lämmöllä (edullisesti kaliumhydroksidi, vesi, etyleeniglykoli 120°C :ssa) tai happamassa hydrolyysissä (edullisesti väkevöity HCl , etikkahappo, vesi ja palautusjäähdytys), tai c) vettä poistavan aineen kanssa (edullisesti asetanhydridin kanssa 100°C :ssa), jolloin muodostuu vastaavaa kaavan G mukaista yhdistettä

20

25

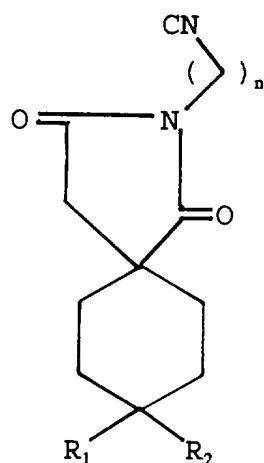


Kaava G

30

vii) käsitellään vaiheessa vi) tuotettua, kaavan G mukaista yhdistettä $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_n\text{NR}_3\text{R}_4$:n liuottimella veden poistamiseksi atseotrooppisesti (edullisesti tolueenilla), jolloin muodostuu vastaavaa kaavan L mukaista yhdistettä

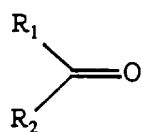
35



Kaava L

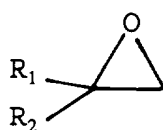
viii) käsitellään vaiheessa vii) tuotettua, kaavan L mukaista yhdistettä a) vahvan pelkistävän aineen kanssa (edullisesti litiumalumiinihydridin kanssa), ja b) kloorivetykaasulla ja inertillä liuottimella (edullisesti etanolilla), jolloin muodostuu vastaavaa, kaavan (IA) mukaista yhdistettä; ja silloin, c) kun m on 2, sellainen menetelmä käsittää sen, että:

i) käsitellään $((\text{CH}_3)_3\text{S}^+\text{O})\text{I}^-$, emästä (edullisesti NaH/DMSO:a DMSO:ssa) tai emästä inertissä liuottimessa ja sopivaa kaavan A mukaista yhdistettä



Kaava A

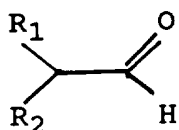
jolloin muodostuu kaavan B mukaista yhdistettä



Kaava B

ii) käsitellään vaiheessa i) valmistettua, kaavan B mukaista yhdistettä Lewis'in hapon ja inertin liuottimen (edullisesti BF_3OEt_2 :n tai bentseenin) kanssa, jolloin muodostuu vastaava kaavan C mukaista yhdistettä:

5

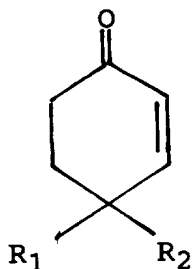


Kaava C

10

iii) käsitellään vaiheessa ii) tuotettua, kaavan C mukaista yhdistettä metyyllivinyyliketonin kanssa ja katalyyttisen määrän kanssa väkevöityä rikkihappoa, jolloin muodostuu vastaavaa kaavan D mukaista yhdistettä:

15



Kaava D

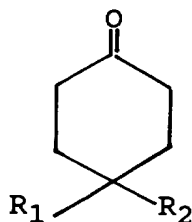
20

25

iv) käsitellään vaiheessa iii) tuotettua, kaavan D mukaista yhdistettä H_2 :n, hydrauskatalysaattorin (edullisesti 5-10-%:isen palladiumhiilen) ja inertin liuottimen (edullisesti etyyliasetatin) kanssa, jolloin muodostuu vastaavaa kaavan E mukaista yhdistettä:

30

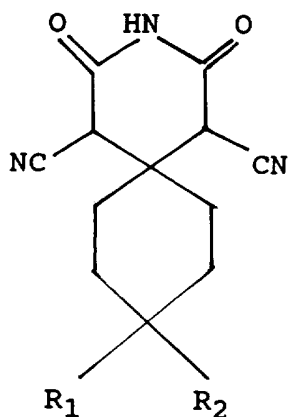
5



Kaava E

v) käsitellään vaiheessa iv) tuotettua, kaavan E mukaista yhdistettä alkyyliisyaaniasetaatin kanssa (edullisesti metyyli- tai etyyliisyaaniasetaatin kanssa), NH_3 :n ja alkoholin kanssa (edullisesti etanolin kanssa), jolloin muodostuu vastaavaa, kaavan I mukaista yhdistettä

15



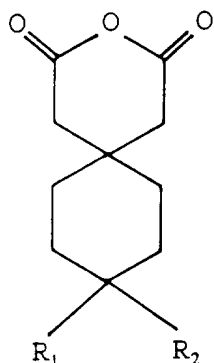
20

Kaava I

vi) käsitellään vaiheessa v) tuotettua, kaavan I mukaista yhdistettä perättäisesti a) emäksisellä vesipitoisella hydrolyysillä ja lämmöllä (edullisesti kaliumhydroksidi, vesi, etyleeniglykoli 120°C :ssa) tai happamalla hydrolyysillä (edullisesti väkevöity HCl , etikkahappo, vesi ja palautusjäähdytys), tai b) vettä poistavan aineen kanssa (edullisesti asetanhidridin kanssa 100°C :ssa), jolloin muodostuu vastaavaa, kaavan J mukaista yhdistettä

35

5

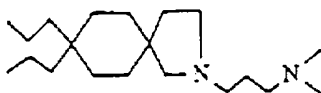


Kaava J

10

vii) käsitellään vaiheessa vi) tuotettua, kaavan J mukaista yhdistettä perättäisesti $H_2N(CH_2)_nNR_3R_4$:n liuottimella veden poistamiseksi atseotrooppisesti (edullisesti tolueenilla), b) vahvalla pelkistäväällä aineella (edullisesti litiumalumiinihydridillä), ja c) kloorivetykaasulla ja inertillä liuottimella (edullisesti etanolilla), jolloin muodostuu vastaavaa, kaavan (IA) mukaista yhdistettä.

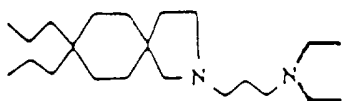
20 2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että se on:



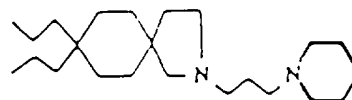
25

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että yhdiste on:

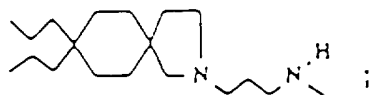
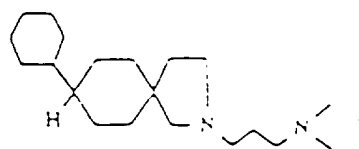
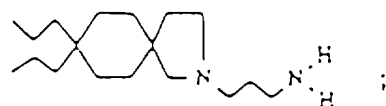
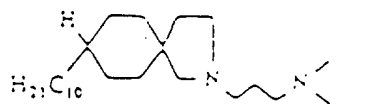
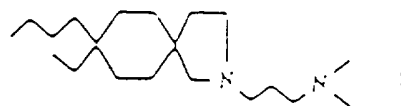
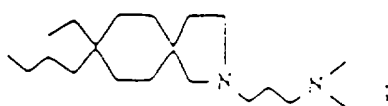
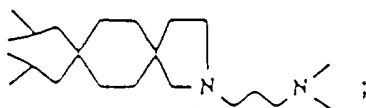
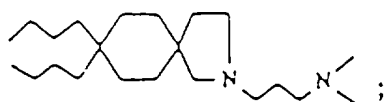
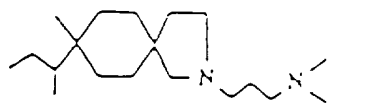
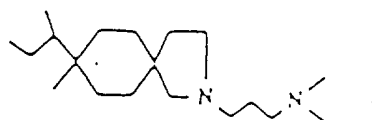
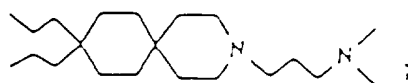
30



tai

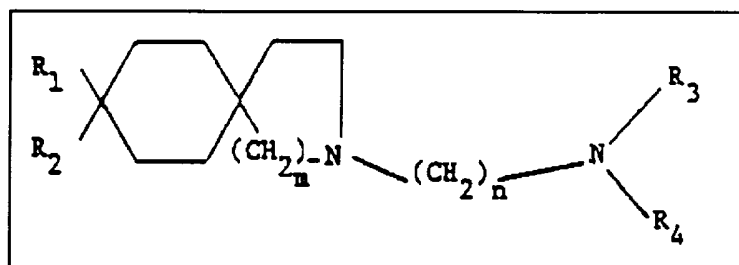


35 4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että yhdiste on:



Patentkrav

1. Förfarande för framställning av en azaspirananalog med immunmodulatorisk effekt enligt formel (IA) eller dess farmaceutiskt acceptabla salt, hydrat eller solvat,



Kaava (IA)

i vilken

n är 3 - 7;

m är 1 eller 2;

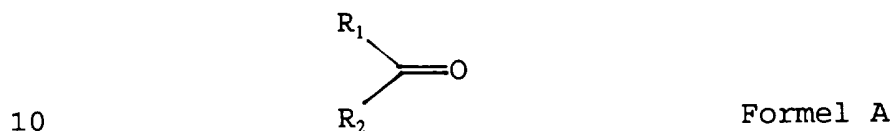
R_1 och R_2 är identiska eller olika och väljs i gruppen bestående av väte och en rakkedjig, förgrenad eller cyklisk alkyl, under förutsättning att det totala antalet kolatomer i R_1 och R_2 är inalles 4-10; eller R_1 och R_2 har förenats och bildar en cyklisk alkylgrupp som innehåller 3-7 kolatomer;

R_3 och R_4 är identiska eller olika och väljs i gruppen omfattande väte och en rakkedjig alkyl, som innehåller 1-3 kolatomer; eller R_3 och R_4 har förenats och bildar en cyklisk alkylgrupp som innehåller 4-7 kolatomer;

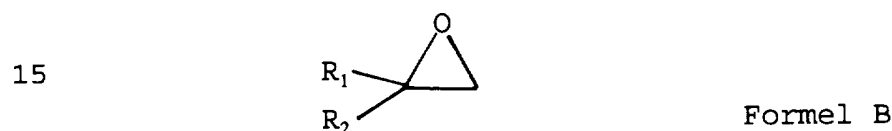
under förutsättning att då R_1 och R_2 är CH_3CH_2 , R_3 och R_4 är CH_3 och m är 1 eller 2, n är annat än 3; och under förutsättning att då R_1 är H; R_2 är $(\text{CH}_3)_3\text{C}$; R_3 och R_4 är CH_3 och m är 1 eller 2, n är annat än 3; och vidare under förutsättning att R_2 är H; R_1 är $(\text{CH}_3)_3\text{C}$; R_3 och R_4 är CH_3 och m är 2, n är annat än 3;

k ä n n e t e c k n a t av att A) då m är 1 och R_3 och R_4 är andra än väten, omfattar ett dylikt förfarande det att

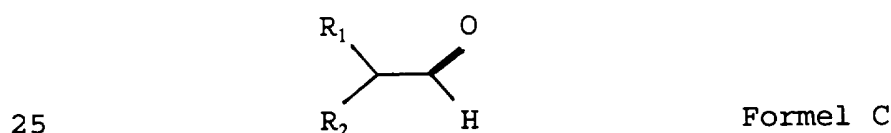
- 5 i) $((CH_3)_3S^+O)I^-$, bas (företrädesvis NaH/DMSO i DMSO) eller bas i ett inert lösningsmedel och en lämplig förening enligt formel A behandlas



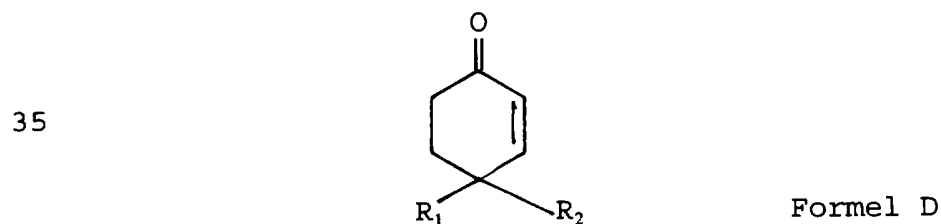
varvid en förening enligt formel B uppstår



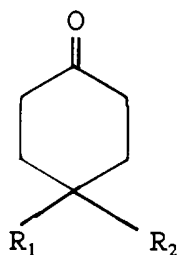
- 20 ii) den i steg i) framställda föreningen enligt formel B behandlas med Lewis syra och ett inert lösningsmedel (företrädesvis BF_3OEt_2 eller bensen), varvid en motsvarande förening enligt formel C uppstår:



- 30 iii) den i steg ii) framställda föreningen enligt formel C behandlas med metylvinylketon och en katalytisk mängd koncentrerad svavelsyra, varvid en motsvarande förening enligt formel D uppstår:

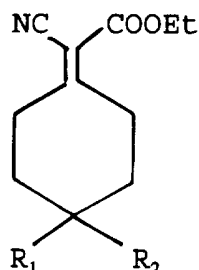


iv) den i steg iii) framställda föreningen enligt formel D behandlas med H_2 , en hydrateringskatalysator (företrädesvis 5-10 % palladiumkol) och ett inert lösningsmedel (företrädesvis etylacetat), varvid motsvarande förening enligt formel E uppstår:



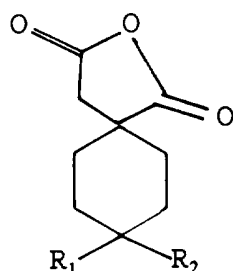
Formel E

v) den i steg (iv) framställda föreningen enligt formel E behandlas med alkylcyanacetat (företrädesvis metyl- eller etylcyanacetat) och i syrakatalys (företrädesvis ättikssyra/natriumacetat) eller baskatalys (företrädesvis piperidin) och ett lösningsmedel för att avlägsna vatten azeotropiskt (företrädesvis bensen eller toluen), varvid motsvarande förening enligt formel F uppstår:



Formel F

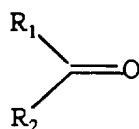
vi) den i steg v) framställda föreningen enligt formel F behandlas successivt med a) natrium- eller kaliumcyanid, vatten och alkohol (företrädesvis metanol eller etanol) vid en temperatur på $95^{\circ}C$, b) med basisk vattenhaltig hydrolys och värme (företrädesvis kaliumhydroxid, vatten, etylenglykol vid $120^{\circ}C$) eller i sur hydrolys (företrädesvis koncentrerat HCl , ättikssyra, vatten och återloppskylning), eller c) med ett vattenavlägsnande medel (företrädesvis med acetanhydrid vid $100^{\circ}C$), varvid en motsvarande förening enligt formel G uppstår



Formel G

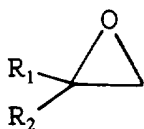
vii) den i steg (vi) framställda föreningen enligt formel G
 behandlas successivt a) med ett $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_n\text{NR}_3\text{R}_4$ -lösningsmedel för
 att avlägsna vatten azeotropiskt (företrädesvis med toluen),
 b) ett koncentrerat reduktionsmedel (företrädesvis litiumalu-
 miniumhydrid), och c) klorvätegas och ett inert lösningsmedel
 (företrädesvis etanol), varvid motsvarande förening enligt
 formel (IA) uppstår; och B) då m är 1 och R_3 och R_4 är väten,
 omfattar ett dylikt förfarande det att

i) $((\text{CH}_3)_3\text{S}^+\text{O})\text{I}^-$, bas (företrädesvis NaH/DMSO i DMSO) eller bas
 i ett inert lösningsmedel och en lämplig förening enligt
 formel A behandlas



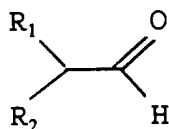
Formel A

varvid en förening enligt formel B uppstår



Formel B

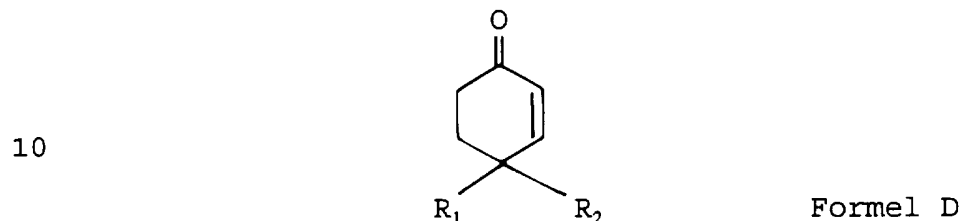
ii) den i steg i) framställda föreningen enligt formel B
 behandlas med Lewis syra och ett inert lösningsmedel (före-
 trädesvis BF_3OEt_2 eller bensen), varvid en motsvarande för-
 ening enligt formel C uppstår:



Formel C

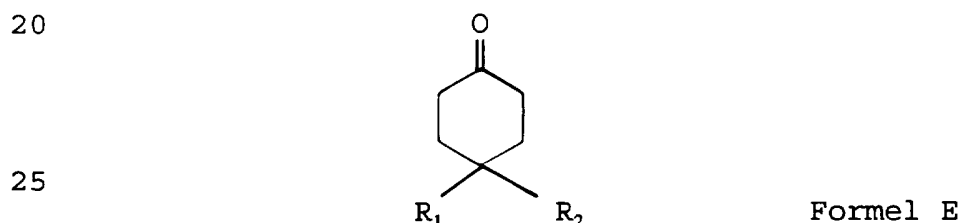
iii) den i steg ii) framställda föreningen enligt formel C behandlas med metylvinylketon och en katalytisk mängd koncentrerad svavelsyra, varvid en motsvarande förening enligt formel D uppstår:

5



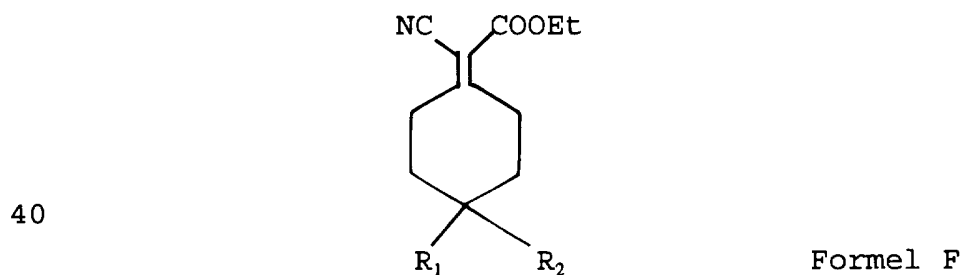
iv) den i steg iii) framställda föreningen enligt formel D behandlas med H₂, en hydrateringskatalysator (företrädesvis 5-10 % palladiumkol) och ett inert lösningsmedel (företrädesvis etylacetat), varvid motsvarande förening enligt formel E uppstår:

20



v) den i steg (iv) framställda föreningen enligt formel E behandlas med alkylcyanacetat (företrädesvis metyl- eller etylcyanacetat) och syrakatalys (företrädesvis ättikssyra/natriumacetat) eller baskatalys (företrädesvis piperidin) och ett lösningsmedel för att avlägsna vatten azeotropiskt (företrädesvis bensen eller toluen), varvid motsvarande förening enligt formel F uppstår:

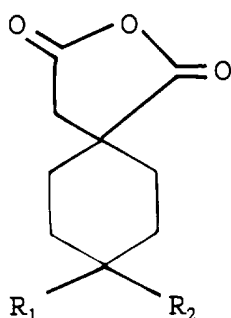
35



vi) den i steg v) framställda föreningen enligt formel F behandlas successivt med a) natrium- eller kaliumcyanid, vatten och alkohol (företrädesvis metanol eller etanol) vid en temperatur på 95°C, b) med basisk vattenhaltig hydrolys och
 5 värme (företrädesvis kaliumhydroxid, vatten, etylenglykol vid 120°C) eller i sur hydrolys (företrädesvis koncentrerat HCl, ättikssyra, vatten och återloppskylning), eller c) med ett vattenavlägsnande medel (företrädesvis med acetanhydrid vid 100°C), varvid en motsvarande förening enligt formel G uppstår

10

15



Formel G

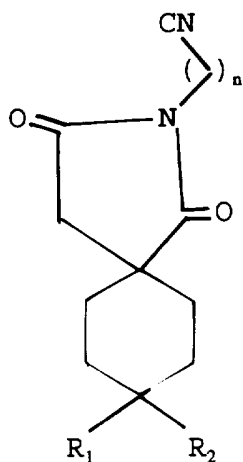
vii) den i steg (vi) framställda föreningen enligt formel G behandlas successivt med ett $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_n\text{NR}_3\text{R}_4$ -lösningsmedel för
 20 att avlägsna vatten azeotropiskt (företrädesvis med toluen), varvid en motsvarande förening enligt formel L uppstår

25

∴

30

∴



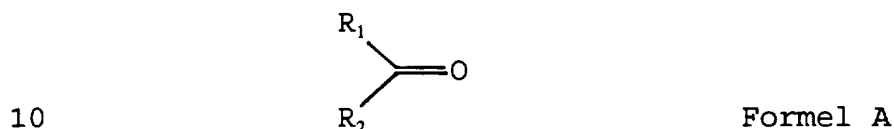
Formel L

35

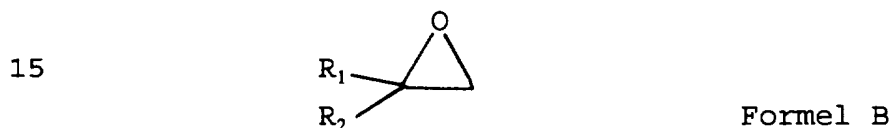
viii) den i steg vii) framställda föreningen enligt formel L behandlas a) med ett koncentrerat reduktionsmedel (företrädesvis litiumaluminiumhydrid), och b) klorvätegas och ett inert lösningsmedel (företrädesvis etanol), varvid motsvaran-

de förening enligt formel (IA) uppstår; och C) då m är 2 omfattar ett dylikt förfarande det att:

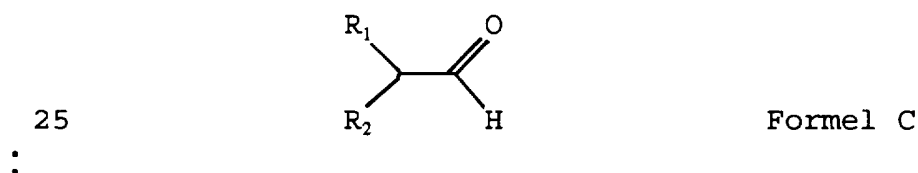
- 5 i) $((\text{CH}_3)_3\text{S}^+\text{O})\text{I}^-$, bas (företrädesvis NaH/DMSO i DMSO) eller bas i ett inert lösningsmedel och en lämplig förening enligt formel A behandlas



varvid en förening enligt formel B uppstår



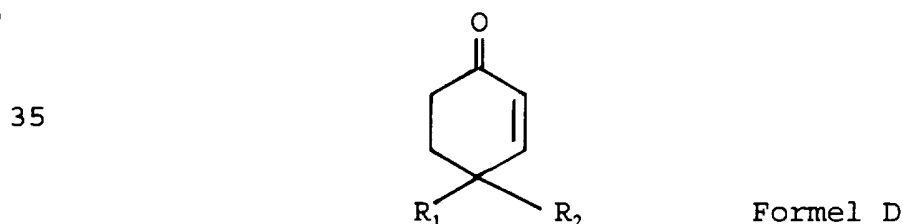
- ii) den i steg i) framställda föreningen enligt formel B behandlas med Lewis syra och ett inert lösningsmedel (företrädesvis BF_3OEt_2 eller bensen), varvid en motsvarande förening enligt formel C uppstår:



:

- iii) den i steg ii) framställda föreningen enligt formel C behandlas med metylvinylketon och en katalytisk mängd koncentrerad svavelsyra, varvid en motsvarande förening enligt formel D uppstår:

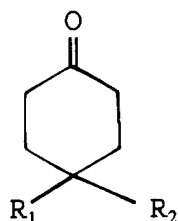
:



:

iv) den i steg iii) framställda föreningen enligt formel D behandlas med H_2 , en hydrateringskatalysator (företrädesvis 5-10 % palladiumkol) och ett inert lösningsmedel (företrädesvis etylacetat, varvid motsvarande förening enligt formel E uppstår:

10

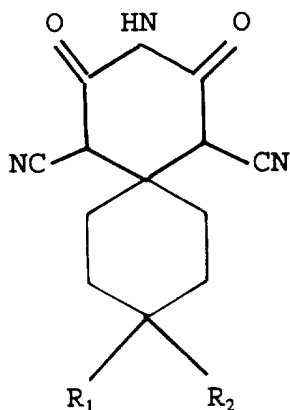


Formel E

15

v) den i steg (iv) framställda föreningen enligt formel E behandlas med alkylcyanacetat (företrädesvis metyl- eller etylcyanacetat), NH_3 och alkohol (företrädesvis etanol), varvid motsvarande förening enligt formel I uppstår:

20



25

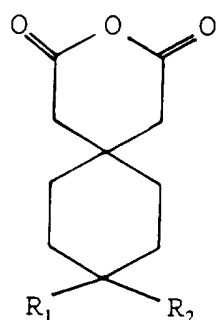
Formel I

30

vi) den i steg v) framställda föreningen enligt formel I behandlas successivt med a) med basisk vattenhaltig hydrolys och värme (företrädesvis kaliumhydroxid, vatten, etylenglykol vid $120^\circ C$) eller med sur hydrolys (företrädesvis koncentrerat HCl , ättikssyra, vatten och återloppskylning), eller b) med ett vattenavlägsnande medel (företrädesvis med acetanhydrid vid $100^\circ C$), varvid en motsvarande förening enligt formel J uppstår

35

5



Formel J

- 10 vii) den i steg (vi) framställda föreningen enligt formel J
 behandlas successivt med ett $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_n\text{NR}_3\text{R}_4$ -lösningsmedel för
 att avlägsna vatten azeotropiskt (företrädesvis med toluen),
 b) ett koncentrerat reduktionsmedel (företrädesvis litium-
 aluminiumhydrid), och c) klorvätegas och ett inert lösnings-
 15 medel (företrädesvis etanol), varvid motsvarande förening
 enligt formel (IA) uppstår.

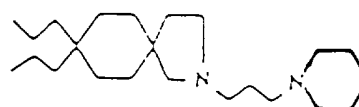
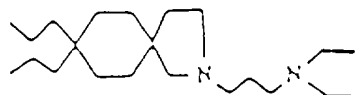
2. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t
 av att föreningen är:

20



- 25 3. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t
 av att föreningen är:

30



eller

4. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t
 av att föreningen är:

35

