

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

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

(10) **FI 934366 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **934366**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -  
International patent classification  
**C07H 19/20**  
**C07F 9/6561**

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **02.04.1992**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **05.10.1993**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **05.10.1993**

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

(86) Kansainvälinen hakemus - **02.04.1992** PCT/GB1992/000590  
Internationell ansökan - International  
application

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority  
06.04.1991 GB 9107236 07.11.1991 GB 9123671

(71) Hakija - Sökande - Applicant

**1 • Astra Pharmaceuticals Limited**, Home Park, Kings Langley Hertfordshire WD4 8DH, United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

**1 • Ingall, Anthony Howard**, Loughborough, Leicestershire LE11 3NW, ISO-BRITANNIA, (GB)  
**2 • Cage, Peter Alan**, Shepshed, Leicestershire LE12 9BZ, ISO-BRITANNIA, (GB)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

**Leitzinger Oy**, High Tech Center, Tammasaarenkatu 1, 00180 Helsinki

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

**ATP-analogit**  
**ATP-analoger**

ATP-analogit. - ATP-analoger.

Tämän keksinnön kohteena ovat farmaseuttisesti hyödylliset yhdisteet, ja menetelmät niiden valmistamiseksi.

Adenosiinitrifosfaatilla (ATP) on tehokkaita farmakologisia vaikutuksia moniin kudoksiin, ATP:n aktiivisuus ja muut solunulkoiset adenosiininukleotidit, adenosiinidifosfaatti (ADP) ja adenosiinimonofosfaatti (AMP) välittyvät  $P_2$ -purinoseptoreilla. Kuitenkin ATP:n tehokkuus joissakin kudoksissa, esim. rakossa, voi pelkistyä nopean defosforylaatin vuoksi, AMP:ksi ja adenosiiniksi, kudoksissa olevien ektonukleotidaasien vaikutuksesta.

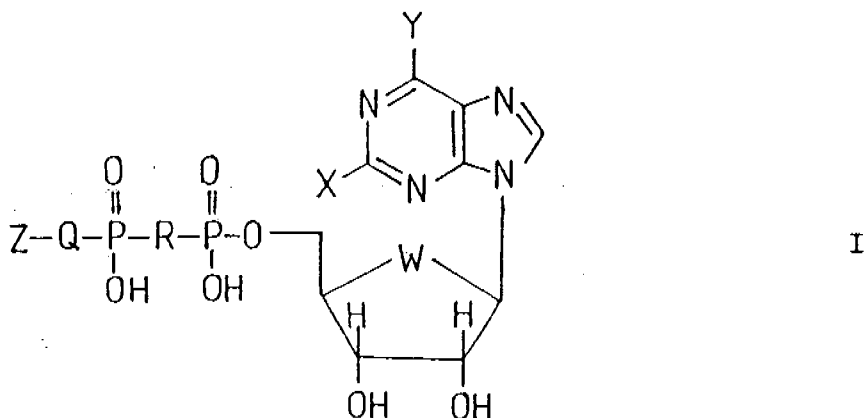
Viimeaikaisissa tutkimuksissa ATP-analogeja, jotka ovat vastustuskykyisiä defosforylaatiota kohtaan, on käytetty biologisina koettimina tutkittaessa monissa kudoksissa läsnäolevia  $P_2$ -purinoseptoreita.

Cusack et al, Br. J. Pharmacol., 1987, 90, 791-795, kuvaavat seuraavien aktiivisuutta: 2-metyylitio-5'-adenyylihapon monoanhydridi metyleenibisfosfonihapon kanssa, 2-metyylitio-5'-adenyylihapon monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa ja 2-metyylitio-5'-adenyylihapon monoanhydridi difluorimetyleenibisfosfonihapon kanssa, marsun taenia coliin ja virtsarakkoon. Stone ja Cusack, Br. J. Pharmacol., 1989, 97, 631-635, kuvaavat muun muassa 2-metyylitio-5'-adenyylihapon monoanhydridin difluorimetyleenibisfosfonihapon kanssa, käyttöä  $P_2$ -purinoseptorien tutkimuksessa rotan hippokampusessa. Maguire ja Satchell, julkaisussa "Physiological and Regulatory Functions of Adenosine and Adenine Nucleotides", toim. H.P Baer ja G.I. Drummond, Raven Press, New York, 1979, ss.33-43, tuovat esiin marsun taenia colin estämisen yhdisteellä 2-kloori-5'-adenyylihapon monoanhydridi metyleenibisfosfonihapon kanssa.

Cusack ja Hourani, *Nucleosides & Nucleotides*, 1991, 10(5), 1019-1028, ovat myös raportoineet, että 2-metyylitio-5'-adenyylihapon monoanhydridi metyleenibisfosfonihapon kanssa estää ADP- $\alpha$ -S:n aiheuttamaa verihiutaleiden aggregaatiota.

Olemme nyt keksineet ryhmän uusia 2-substituoituja ATP-johdannaisia, jotka ovat farmakologisesti aktiivisia.

Kyseisen keksinnön ensimmäisen näkökohdan mukaisesti, on kyseessä kaavan I yhdiste,



jossa Q on  $CR^1R^2$ ,

R on O tai  $CR^3R^4$ ,

W on O tai  $CH_2$ ,

$R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  ja  $R^4$  ovat riippumattomasti vety tai halogeeni,

X on  $S(O)_nR^5$ , alkyyli  $C_{1-6}$ , alkoksi  $C_{1-6}$ , asyyliamino  $C_{1-6}$ ,

$CONR^6R^7$ ,  $NR^8R^9$ , halogeeni, 5- tai 6-osainen S, jossa on heterosyklinen rengas, tai fenyyli, joka on valinnaisesti substituoitu alkyylillä  $C_{1-6}$ ,

n on 0, 1 tai 2,

$R^5$  on aryyli tai alkyyli  $C_{1-6}$ , joka on valinnaisesti substituoitu yhdellä tai useammalla seuraavalla substituentilla: hydroksi, alkoksi  $C_{1-6}$ , halogeeni ja aryyli;

$R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$  ja  $R^9$  ovat riippumattomasti vety tai alkyyli  $C_{1-6}$ ,

Y on  $NH_2$  tai alkoksi  $C_{1-6}$ , ja

Z on happo-osa,

lisäksi, kun R on  $CR^3R^4$ , niin  $-Q-Z$  voi olla myös hydroksi tai  $-OP(O)(OH)_2$ ,

edellyttäen että:

i) kun R on O, W on O, X on Cl, Y on  $NH_2$  ja Z on  $-P(O)(OH)_2$ , niin  $CR^1R^2$  ei ole  $CH_2$ ;

ii) kun R on O, W on O, X on  $SCH_3$ , Y on  $NH_2$  ja Z on  $-P(O)(OH)_2$ , niin  $CR^1R^2$  ei ole (a)  $CH_2$ , (b)  $CF_2$  tai (c)  $CCl_2$ ;

iii) kun R on  $CH_2$ , W on O, X on Cl ja Y on  $NH_2$ , niin  $-Q-Z$  ei ole hydroksi; ja

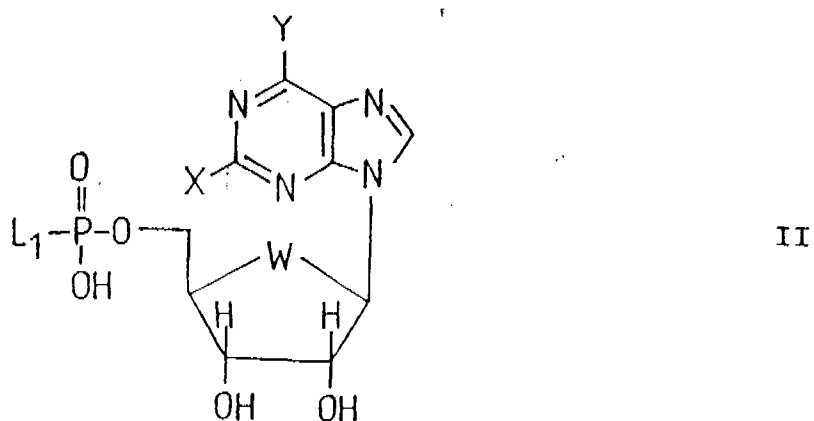
iv) kun R on O, W on O, X on Cl ja X ja Y ovat molemmat  $NH_2$  ja Z on  $-P(O)(OH)_2$ , niin  $CR^1R^2$  ei ole  $CH_2$ , CHF,  $CF_2$ , CHCl tai  $CCl_2$ ;

ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat.

Kaavan I yhdisteet voivat olla tautomeerisissä, enatiomeerisissä tai diastereomeerisissä muodoissa, jotka kaikki sisältyvät keksintöön.

Keksinnön mukaisesti on lisäksi kyseessä menetelmä kaavan I yhdisteiden ja niiden suolojen valmistamiseksi, joka käsittää:

a) kaavan I yhdisteen, jossa R on O, tai sen suolan, valmistamisen saattamalla kaavan II, tai sen suola,

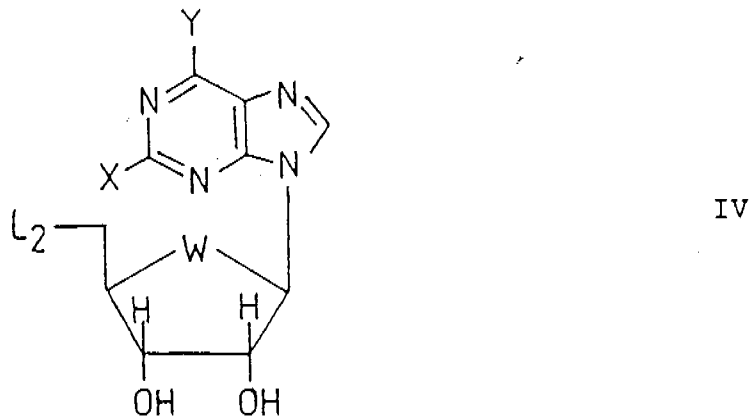


jossa W, X ja Y ovat edellä määritellyt ja  $L_1$  on lähtevä ryhmä, reagoimaan kaavan III, tai sen suolan, kanssa

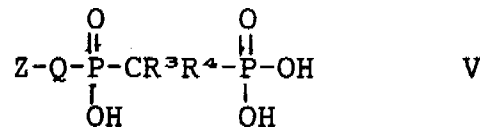


jossa Z ja Q ovat edellä määritellyt,

b) kaavan I yhdisteen, jossa R on  $\text{CR}^3\text{R}^4$ , tai sen suolan, valmistamisen saattamalla kaavan IV yhdiste, tai sen suola,



jossa W, X ja Y ovat edellä määritellyt ja  $\text{L}_2$  on lähtevä ryhmä, reagoimaan kaavan V yhdisteen, tai sen suolan, kanssa



jossa Z, Q,  $\text{R}^3$  ja  $\text{R}^4$  ovat edellä määritellyt,

c) kaavan I yhdisteen, jossa R on  $\text{CR}^3\text{R}^4$  ja  $-\text{Q-Z}$  on  $-\text{OP}(\text{O})(\text{OH})_2$ , tai sen suolan, valmistamisen saattamalla vastaava kaavan I yhdiste, jossa  $-\text{Q-Z}$  on hydroksi, reagoimaan kaavan VI yhdisteen, tai sen suolan, kanssa



jossa  $L_3$  on lähtevä ryhmä,

d) suojaava ryhmän poistamisen vastaavasta kaavan I suojatusta yhdisteestä, jossa yksi tai useampi funktionaalinen ryhmä on suojattu,

ja haluttaessa tai tarvittaessa saadun kaavan I yhdisteen, tai sen toisen suolan, muuttamisen sen farmaseuttisesti hyväksyttäväksi suolaksi tai päin vastoin.

Menetelmissä a) ja c) lähtevät ryhmät, joita  $L_1$  ja  $L_3$  voivat olla, ovat amineja, esimerkiksi dialkyyliamineja tai tyydyttyneitä tai tyydyttymättömiä syklisiä amineja; erityisiä lähteviä ryhmiä, jotka voidaan mainita, ovat morfolinyyli, imidatsolyyli ja triatsolyyli.

Menetelmässä b) lähtevät ryhmät, joita  $L_2$  voi olla, ovat alkyyli- tai aryyli-sulfonyylioksi-ryhmiä kuten metaanisulfonyylioksi, trifluorimetaanisulfonoksi tai p-tolueenisulfonyylioksi; tai trifluoriasetoksi.

Menetelmissä a), b) ja c) käytetty liuotin on edullisesti dipolaarinen aproottinen liuotin, esimerkiksi, pyridiini, dimetyyliformamidi, asetonitriili, heksametyylifosforitriamidi, N,N'-dimetyylipropyleeniurea tai 1-metyyli-2-pyrrolidinoni. Reaktio voidaan toteuttaa lämpötilassa  $-20 - 100$  °C, esim.  $10 - 30$  °C.

Kaavojen II - V yhdisteet ovat joko tunnettuja tai valmistettavissa käyttäen menetelmiä, jotka ovat alan ammattitaitoisten tuntemia, tai menetelmillä, jotka ovat analogisia esimerkeissä kuvattujen kanssa. Esimerkiksi, kaavan II yhdisteet, joissa  $L_1$  on morfolinyyli, voidaan valmistaa vastaavista 5'-monofosfaateista käsittelemällä morfoliinilla kondensoivan aineen kuten disykloheksyylikarbodiimidin läsnäollessa, edullisesti proottisen liuottimen tai liuottimien seoksen kuten  $t$ -butanolin ja veden läsnäollessa.

Yhdisteille, joissa W on O, nukleosidi-5'-monofosfaatit ja nukleosidit, joita käytetään kaavojen II ja IV yhdisteiden valmistamisessa, ovat joko tunnettuja tai valmistettavissa tunnetuista yhdisteistä tunnettuja menetelmiä käyttäen, katso, esimerkiksi "Chemistry of Nucleosides and Nucleotides" Vol.2 , toim. Leroy B. Townsend, Plenum Press 1991.

Edellä kuvatuissa menetelmissä voi olla tarpeellista suojata lähtöaineessa olevia funktionaalisia ryhmiä, esim. hydroksitai aminoryhmiä, siten menetelmä d) voi sisältää yhden tai useamman suojaavan ryhmän poistamisen.

Sopivia suojaavia ryhmiä ja menetelmiä niiden poistamiseksi ovat, esimerkiksi, julkaisussa "Protective Groups in Organic Chemistry", Theodora Greene, John Wiley and Sons Inc., 1981. Hydroksiryhmät voidaan esimerkiksi suojata aryyylimetyyliryhmillä kuten fenyyylimetyylillä, difenyyylimetyylillä tai trifenyylimetyylillä, tai tetrahydropyranyylijohdannaisilla. Sopivia amina suojaavia ryhmiä ovat aryyylimetyyliryhmät kuten bentsyyli, (R,S)- $\alpha$ -fenyylietyyli, difenyyylimetyyli tai trifenyylimetyyli, ja asyyli-ryhmät kuten asetyyli, triklooriasetyyli tai trifluoriasetyyli. Suojauksen poistamiseksi voidaan käyttää tavallisia menetelmiä kuten hydrogenolyysiä, happo- tai emäs-hydrolyysiä, tai fotolyysiä. Aryylimetyyliryhmät voidaan esimerkiksi poistaa hydrogenolyysillä metallikatalyytin esim. palladiumin tai hiilen läsnäollessa. Tetrahydropyranyyliryhmät voidaan poistaa hydrolyysillä happamissa olosuhteissa. Asyyli-ryhmät voidaan poistaa hydrolyysillä emäksen kuten natriumhydroksidin tai kaliumkarbonaatin kanssa, tai ryhmä kuten triklooriasetyyli voidaan poistaa pelkistämällä esimerkiksi sinkillä ja etikkahapolla.

Kaavan I yhdisteen suolat voidaan muodostaa saattamalla vapaa happo, tai sen suola, tai vapaa emäs, tai sen suola tai johdannainen, reagoimaan yhden tai useamman sopivan emäksen tai hapon

ekvivalentin kanssa. Reaktio voidaan toteuttaa liuottimessa tai aineessa, johon suola ei liukene tai liuottimessa, johon suola liukenee, esim. etanolissa, tetrahydrofuraanissa tai dietyyli-eetterissä, joka voidaan poistaa vakuuissa tai pakastekui-vauksella. Reaktio voi olla myös metateettinen (metathetical) menetelmä tai se voidaan toteuttaa ioninvaihtohartsilla.

Kaavan I yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja ovat alkalimetallisuolat, esim. natrium- ja kaliumsuolat; maa-alkalimetallisuolat, esim. kalsium- ja magnesiumsuolat; ryhmän III alkuaineiden suolat, esim. alumiinisulat; ja ammoniumsuolat. Suolat sopivien orgaanisten happojen kanssa, esim. suolat hydroksyyliamiinin kanssa; alhaisten alkyyliamiinien, esim. metyyliamiinien tai etyyliamiinien kanssa; substituoitujen alhaisten alkyyliamiinien, esim. hydroksisubstituoitujen alkyyliamiinien kanssa; tai monosyklisen typen heterosyklisiä yhdisteitä, esim. piperidiini tai morfoliini; ja suolat aminohappojen, esim. arginiinin, lysiinin jne. kanssa, tai niiden N-alkyylijohdannaisen kanssa; tai aminosokerin, esim. N-metyyli-D-glukamiinin tai glukosamiinin kanssa. Myrkyttömät fysiologisesti hyväksyttävät suolat ovat edullisia, vaikka myös muut suolat ovat hyödyllisiä, esim. eristettäessä tai puhdistettaessa tuotetta.

Alkyyliryhmiä ovat suorat, haaroittuneet tai sykliset, tyydyttyneet tai tyydyttymättömät alkyyliryhmät.

Aryyliryhmiä ovat sekä karbosykliset että heterosykliset ryhmät. Ryhmissä voi olla eri määriä C-atomeja sisältäviä renkaita ja ryhmät voivat olla yhdistettyjä rengasrakenteita. Tiettyjä karbosyklisiä aryyliryhmiä, jotka voidaan mainita, ovat fenyyli ja naftyyli. Heteroaryyliryhmiä ovat typen, hapen tai rikin sykliset renkaat ja niissä voi olla yksi tai useampi heteroatomi. Esimerkkejä heterosyklisistä renkaista, joissa on vain yksi heteroatomi, ovat pyrroli, furaani, tiofeeni ja pyridiini.

Ryhmiä, joissa on enemmän kuin yksi heteroatomi, ovat pyratoli, oksatsoli, tiatsoli, triatsoli, oksadiatsoli, tiadiatsoli jne.

Halogeeneja, joita X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> tai R<sup>4</sup> voivat olla, ovat F, Cl, Br ja I.

Kun Q on CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, R<sup>1</sup> ja R<sup>2</sup> ovat edullisesti samoja, erityisen edullisia ovat yhdisteet, joissa R<sup>1</sup> ja R<sup>2</sup> ovat molemmat Cl.

Kun R on CR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, R<sup>3</sup> ja R<sup>4</sup> ovat edullisesti samoja, erityisen edullisia ovat yhdisteet, joissa R<sup>3</sup> ja R<sup>4</sup> ovat molemmat vety tai Cl.

Yhdisteet, joissa Q on CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, ovat edullisia. Yhdisteet, joissa R on O, ovat edullisia. Kaavan I yhdisteet, joissa Q on CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> ja R on O, ovat erityisen edullisia. Yhdisteet, joissa W on O, ovat edullisia.

S:ä sisältäviä heterosyklisiä renkaita, joita X voi merkitä, ovat sekä tyydyttyneet että tyydyttymättömät heterosykliset renkaat, joissa on 1 tai 2 S-atomia. Tietty heterosyklinen ryhmä, joka voidaan mainita, on tienyyli, erityisesti 2-tienyyli. Kaavan I yhdisteet, joissa X on S(O)<sub>n</sub>R<sup>5</sup>, erityisesti ne yhdisteet, joissa n on 0, ovat edullisia. Kaavan I yhdisteet, joissa R<sup>5</sup> on alkyyli C<sub>1-6</sub>, ovat edullisia, tiettyjä alkyyliryhmiä, jotka voidaan mainita ovat etyyli, butyyli ja propyyli, erityisesti n-propyyli.

Yhdisteet, joissa Y on NH<sub>2</sub>, ovat edullisia.

Happo-osia, joita Z voi merkitä, ovat Bronsted-Lowry-hapot, eli osat, jotka toimivat protonin donoreina. Happo-osa voi olla mono- tai polyhappo. Erityisiä happo-osia, jotka voidaan mainita, ovat -P(O)(OH)<sub>2</sub>, -SO<sub>3</sub>H ja -CO<sub>2</sub>H.

Kaavan I yhdisteet, joissa Z on  $-P(O)(OH)_2$ , ovat edullisia.

Kaavan I yhdisteet ovat hyödyllisiä, koska ne ovat farmakologisesti aktiivisia nisäkkäissä. Erityisesti, ne osoittavat aktiivisuutta verihiutaleiden aggregaation estämisessä.

Kaavan I yhdisteiden tehokkuus verihiutaleiden aggregaation inhibiittoreina voidaan määrittää niiden kyvystä toimia P2T-reseptoriantagonistina, katso esimerkki X.

Yhdisteitä voidaan käyttää missä tahansa tilassa, johon liittyy verihiutaleiden aggregaatio tai disaggregaatio. Yhdisteet voivat siten toimia antitromboottisina aineina ja niitä tarvitaan epävakaan anginan, tromboembolisen kohtauksen ja perifeerisen vaskulaarisen sairauden hoidossa tai ennaltaehkäisyssä. Niitä tarvitaan myös angioplastiasta, trombolyysistä, endarterektomiasta, koronaarisesta ja vaskulaarisesta kudoksensiiirrosta, munuaisdialyysistä ja kardiopulmonaaliseen ohituksesta johtuvien tromboottisten komplikaatioiden jälkitilan hoidossa ja ennaltaehkäisyssä. Lisäksi niitä tarvitaan disseminoituneen intravaskulaarisen koagulaation, syvän laskimotromboosin, pre-eklampsian/eklampsian, kirurgista tai satunnaista vauriota seuraavan kudoksenoton (tissue salvage), vaskuliitin, arteriitin, trombosyttemian, iskemian ja migreenin hoidossa ja ennaltaehkäisyssä.

Keksinnön erään näkökohdan mukaisesti, esitämme kaavan I yhdisteitä, jotka ovat kuten edellä määriteltä, mutta ilman ehtoa iv), lääkkeiksi.

Annettava annos vaihtelee laajasti, riippuen, muiden tekiöiden ohella, käytetystä tietystä kaavan I yhdisteestä, tietystä tilasta, jota hoidetaan, ja sen vakavuudesta. Kuitenkin, yleensä päivittäinen kokonaisannos 1 g voi olla sopiva, joka voidaan antaa jaettuina annoksina aina 6 kertaan päivässä saakka.

Yhdisteet annetaan yleensä farmaseuttisen seoksen muodossa.

Siten, keksinnön erään näkökohdan mukaisesti esitetään farmaseuttista seosta, jossa on edullisesti alle 80 p-%, edullisemmin alle 50 p-%, esim. 0,1 - 20 %, kaavan I yhdistettä, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa, joka on kuten edellä määritelty, mutta ilman ehtoa iv), sekoitettuna farmaseuttisesti hyväksyttävän lisäaineen, laimennusaineen tai kantaja-aineen kanssa.

Seuraavana on esimerkkejä farmaseuttisista tuotteista, joita voidaan käyttää, ja sopivista lisäaineista, laimennusaineista tai kantaja-aineista:

intravenoosiseen injektioon tai infuusioon - puhdistettua vettä tai suolaliuosta;

inhalaatioseoksiin - karkeaa laktoosia;

tabletteihin, kapselisiin ja rakeisiin - mikrokiteistä selluloosaa, kalsiumfosfaattia, piimaata, sokeria kuten laktoosia, dekstroosia tai mannitolia, talkkia, steariinihappoa, tärkkelystä, natriumbikarbonaattia ja/tai gelatiinia;

peräpuikkoihin - luonnollisia tai kovetettuja öljyjä tai vahoja.

Kun yhdistettä käytetään vesiliuoksina, esim. infuusiota varten, voi olla tarpeellista sekoittaa siihen muita täyteaineita. Erityisesti tässä voidaan mainita kelatoivia tai eristäviä aineita, antioksidantteja, toonisuutta säättäviä aineita ja puskuriaineita.

Liuokset, jotka sisältävät kaavan I yhdistettä voidaan haluttaessa kuivata, esim. pakastekuivauksella tai spray-kuivauksella, jolloin saadaan kiinteä tuote, joka voidaan sekoittaa veteen ennen käyttöä.

Kun kaavan I yhdiste ei ole liuoksena, se on edullisesti muodossa, jonka keskihalkaisija on 0,01 - 10  $\mu\text{m}$ . Yhdiste voi sisältää myös sopivia säilöviä, stabiloivia ja kosteuttavia aineita, liuottavia aineita (solubiliser), esim. vesiliukoista selluloosapolymeeriä kuten hydroksipropyylimetyyliselluloosa, tai vesiliukoista glykolia kuten propyleeniglykolia, makeutus- ja väriaineita ja makuaineita. Tarkoituksenmukaisesti seokset voidaan valmistaa hitaasti vaikuttavaan muotoon.

Keksinnön erään näkökohdan mukaisesti esitämme siksi kaavan I yhdisteen, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan, mutta ilman ehtoja i), ii)(b), ii)(c), iii) ja iv), käyttöä valmistaessa farmaseuttista seosta tilan, johon liittyy verihiutaleiden aggregaatiota tai disaggregaatiota, hoitoon.

Keksinnön erään toisen näkökohdan mukaisesti esitämme siksi tilan, johon liittyy verihiutaleiden aggregaatiota tai disaggregaatiota, hoitoon menetelmää, joka käsittää terapeuttisesti vaikuttavan määrän antamisen kaavan I yhdistettä, joka on kuten edellä määritelty, mutta ilman ehtoja i), ii)(b), ii)(c), iii) ja iv), potilaalle, joka kärsii tällaisesta tilasta.

Keksinnön yhdisteet ovat edullisia siinä, että edellä mainituilla terapeuttisilla alueilla aiemmin käytettyihin yhdisteisiin verrattuna ne ovat myrkyttömämpiä, tehokkaampia, pidempään vaikuttavia, niillä on laajempi vaikutusalue, ne ovat tehokkaampia, stabiilimpia, ne aiheuttavat vähemmän sivuvaikutuksia, ne imeytyvät helpommin, ne poistuvat helpommin kehosta tai niillä on muita hyödyllisiä farmakologisia ominaisuuksia.

Keksintöä selvitetään, mutta ei missään tapauksessa rajoiteta, seuraavilla esimerkeillä, joissa lämpötilat ilmoitetaan Celsius-asteina. Esimerkit on nimetty käyttäen Chemical Abstractsin nimistöä.

Esimerkki 12-Propyyllitio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuolai) 2-Propyyllitioadenosiini

Adenosiini-2-tionia (2,5 g) vedessä (15 ml), metanolia (45 ml) ja 1N natriumhydroksidiliuosta (8,36 ml) jäähdytettiin jäähauhteessa ja jodipropaania (5 ml) lisättiin. Neljän päivän kuluttua reaktioseos haihdutettiin ja jäännös kromatografoitiin (SiO<sub>2</sub>, etyyliasettaatti:metanoli, 9:1), jolloin saatiin alaotsikon yhdistettä kvantitatiivisella saannolla.

NMR  $\delta^1\text{H}$  (d<sup>6</sup>DMSO) 8,22 (s, 1H), 7,36 (brs, 2H), 5,80 (d, 1H, J=5,9Hz), 5,61 (t, 1H, J=5,5Hz), 5,13 (m, 1H), 3,90 (dd, 1H, J=4,0 ja 11,8Hz), 3,64 (dd, 1H, J=4,2 ja 11,8Hz), 3,52 (dd, 1H, J=4,4 ja 11,8Hz), 3,0-3,2 (m, 2H), 1,67 (hextet, 2H, J=7,3Hz), 0,99 (t, 3H, J=7,3Hz)

ii) 2-Propyyllitio-5'-adenyylihappo

Vaiheen i) tuotetta (1,0 g) lisättiin sekoitettuun seokseen, jossa oli fosforioksidikloridia (1,06 ml) ja trietyylifosfaattia (25 ml) -10°C:ssa. 3 tunnin kuluttua reaktioseos kaadettiin jäihin ja pH säädettiin arvoon 7 kiinteällä natriumbikarbonaatilla. Liuos pestiin eetterillä (3x150 ml) ja sitten lyofilisoitiin. Saatu kiinteä aine liuotettiin deionisoituun veteen ja saatettiin Dowex 50Wx8-pylvääseen (H<sup>+</sup>-muoto), joka pestiin vedellä kunnes eluaatin pH saavutti arvon 6, sitten eluoiitiin 1M ammoniumhydroksidilla. Lyofilisoimalla saatiin alaotsikon yhdistettä (0,4 g).

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  (D<sub>2</sub>O) 1,32 (s)

iii) 2-Propyyllitio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuola

Vaiheen ii) tuote (0,4 g) ja tri-n-butyylimiini (0,175 g) yhdistettiin pieneen tilavuuteen vettä ja liuos haihdutettiin kuiviin. Kuivattiin atseotrooppisesti pyridiinillä (3x15 ml), minkä jälkeen vedettömällä dimetyyliformamidilla (2x15 ml), jolloin saatiin jäännös, joka liuotettiin vedettömään dimetyyliformamidiin (10 ml). Lisättiin karbonyylidi-imidatsolia (0,77 g), ja reaktio jätettiin huoneenlämpötilaan neljäksi tunniksi ennen metanolin lisäämistä (0,24 g). 30 minuutin kuluttua lisättiin dibromimetyleenidifosfonihapon monotri-n-butyylimmoniumsuaa (6,5 mmol) vedettömässä dimetyyliformamidissa (30 ml), ja seosta sekoitettiin 18 tuntia. Suodattamalla ja haihduttamalla saatiin jäännös, joka puhdistettiin kromatografisesti (DEAE-Sepharose, eluenttina vesipitoinen ammoniumbikarbonaatti 0-0,4M). Lyofilisoimalla saatiin ammoniumsuaa, joka liuotettiin uudelleen veteen (200 ml) ja käsiteltiin trietyylimiinilla (10 ml). Haihduttamalla tyhjössä valmistettiin tetrakistrietyylimmoniumsuaa, joka muunnettiin tetranatriummuodoksi liuottamalla metanoliin (2 ml) ja lisäämällä natriumjodidiliuosta (1M asetonissa, 30 ml). Sakka otettiin talteen sentrifugoimalla, pestiin toistuvasti suspensiolla asetonissa (4x40 ml) ja sentrifugoitiin uudelleen. Lopuksi kiinteä aine liuotettiin veteen ja lyofilisoitiin, jolloin saatiin otsikkosuaa valkoisena jauheena (0,42 g).  
NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 8,95 (d,  $J=36\text{Hz}$ ), 1,35 (dd,  $J=36$  ja  $69\text{Hz}$ ), -9,15 (d,  $J=69\text{Hz}$ )

## Esimerkki 2

Seuraavat yhdisteet valmistettiin esimerkin 1 mukaisella menetelmällä:

a) 2-Propyyliitio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi difluorimetyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsua

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 3,94 (dt,  $J=145,8$  ja  $196\text{Hz}$ ), 3,11 - -4,92 (m),  
-10,15 (d,  $J=75\text{Hz}$ )

b) 2-Propyyllitio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dikloori-  
metyleenibisfosfonihappo, tetranatriumsuola

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 9,4 (d,  $J=46\text{Hz}$ ), 2,3 (dd,  $J=46$  ja  $73,1\text{Hz}$ ), -9,15  
(d,  $J=73,1\text{Hz}$ )

c) 2-Pentyyllitio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dikloori-  
metyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuola

i) 2-Pentyyllitioadenosiini

NMR  $\delta^1\text{H}$  ( $\text{d}^6\text{DMSO}$ ) 8,22 (s, 1H), 7,35 (brs, 1H), 5,80 (d,  
1H,  $J=5,9\text{Hz}$ ), 5,42 (d, 1H,  $J=6,16\text{Hz}$ ), 5,16 (d, 1H,  
 $J=4,86\text{Hz}$ ), 5,02 (t, 1H,  $J=5,6\text{Hz}$ ), 4,61 (q, 1H,  $J=5,76\text{Hz}$ ),  
4,07-4,15 (m, 1H), 3,85-3,95 (m, 1H), 3,6-3,7 (m, 1H),  
3,48-3,6 (m, 1H), 3,0-3,15 (m, 2H), 1,6-1,7 (m, 2H), 1,3-  
1,45 (m, 4H), 0,88 (t, 3H,  $J=7,02\text{Hz}$ )

ii) 2-Pentyyllitio-5'-adenyylihappo

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 1,2 (s)

iii) 2-Pentyyllitio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dikloori-  
rimetyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuola

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 8,55 (d,  $J=46,2\text{Hz}$ ), 2,5-3,5 (m), -9,12 (d,  
 $J=70,34\text{Hz}$ )

d) 2-Pentyyllitio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dibromi-  
metyleenibisfosfonihapon kanssa, monoammoniumsuola

Puhdistamalla raakatuote kromatografisesti (DEAE-Sepharose, eluenttina ammoniumbikarbonaatti 0-0,4M) saatiin otsikkosuolaa.  
NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 7-8 (brs), 2,5-3,5 (m), -9,07 (d,  $J=83,5\text{Hz}$ )

e) 2-Etyylitio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuola

i) 2-Etyylitio-5'-adenyylihappo, dinatriumsuola

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 5,01 (s).

ii) 2-Etyylitio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuola

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 8,25 (d,  $J=17,04\text{Hz}$ ), 3,28 (dd,  $J=18,9$  ja  $28,22$ ), -9,22 (d,  $J=28,22\text{Hz}$ )

f) 2-Etyylitio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihappo, tetranatriumsuola

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 6,5-7,5 (m), 2,88 (dd,  $J=14,75$  ja  $27,33\text{Hz}$ ), -10,9 (d,  $J=28,22\text{Hz}$ )

g) 2-Butyylitio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa, monoammoniumsuola

i) 2-Butyylitio-5'-adenyylihappo

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 1,84 (s).

ii) 2-Butyylitio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa, monoammoniumsuola

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 8,05-8,25 (m), 3,66 (dd,  $J=18,48$  ja  $27,8\text{Hz}$ ), -9,03 (d,  $J=27,8\text{Hz}$ ).

h) 2-Propyyliitio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi metyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuola

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 15,8 (d,  $J=8,3\text{Hz}$ ), 10,7 (dd,  $J=8,4$  ja  $27\text{Hz}$ ), -9,44 (d,  $J=25,8\text{Hz}$ )

i) 2-Asetamido-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuola

i) 2-Asetamido-5'-adenyylihappo

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 4,16 (s).

ii) 2-Asetamido-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuola

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 8,99 (d,  $J=14,7\text{Hz}$ ), 1,42 (dd,  $J=14,8$  ja  $28,3\text{Hz}$ ), -9,16 (d,  $28,3\text{Hz}$ )

j) 2-Kloori-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuola

UV $\lambda_{\text{max}}$  ( $\text{H}_2\text{O}$ ) 210nm ( $\epsilon 20,900$ ), 265nm ( $\epsilon 12,700$ ).

k) 2-Jodi-5'-adenyylihappo, monoanhydridi difluorimetyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuola

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 4,72 (dt,  $J=57$  ja  $73\text{Hz}$ ), -1,89 (ddt,  $J=64, 88$  ja  $31\text{Hz}$ ), -9,86 (d,  $J=32\text{Hz}$ )

l) L-2-Metyyliitio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuola

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 8,12 (d,  $J=15\text{Hz}$ ), -0,03 (dd,  $J=15$  ja  $26\text{Hz}$ ), -9,88 (d,  $J=28\text{Hz}$ )

m) 2-Propyyliamino-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dikloori-  
metyleenibisfosfonihapon kanssa, trinatriumsuola

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 8,87 (d), 0,99 (dd), -9,3 (d).

n) 2-Propyylitio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi sulfonidifluo-  
rimetyleenifosfonihapon kanssa, trinatriumsuola

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) -8,8 (dt), -10,0 (d).

o) 2-Propyylitio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi fosfonoetikka-  
hapon kanssa, trinatriumsuola

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 11,4 (d), -9,57 (d).

p) 2-(2-Tienyyli)-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dibromi-  
metyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuola

i) 2-(2-Tienyyli)-5'-adenyylihappo

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 2,14 (s).

ii) 2-(2-Tienyyli)-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dibro-  
mimetyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuola

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 9,53 (d,  $J=14\text{Hz}$ ), 3,91 (dd,  $J=14$  ja  $30\text{Hz}$ ),  
-8,96 (d,  $J=30\text{Hz}$ )

q) 2-Fenyyli-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dibromimetyleeni-  
bisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuola

i) 2-Fenyyli-5'-adenyylihappo

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 0,22 (s).

ii) 2-Fenyyli-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuola

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 8,55 (d,  $J=14,1\text{Hz}$ ), 2,92 (dd,  $J=14,2$  ja  $29,6\text{Hz}$ ), -9,87 (d,  $J=29,8\text{Hz}$ ).

Esimerkki 3

2-Butyyli-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa, trinatriumsuola

i) 2-Butyyli-5'-adenyylihappo

Esimerkin 2p)i) tuotetta (1,4 g) kuumennettiin aktivoituneen Raney-nikkelin (1,5 g) kanssa vedessä (50 ml)  $70^\circ\text{C}$ :ssa kaksi tuntia. Kiinteä aine suodatettiin ja pestiin vedellä, minkä jälkeen haihuttamalla suodotettiin alaotsikon yhdistettä värittömänä kiinteänä aineena (0,56 g).

MS (FAB) 404 ( $\text{M}^++1$ ), 426 ( $\text{M}^++\text{Na}$ ), 192 (100%).

ii) 2-Butyyli-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa, trinatriumsuola

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 8,8 (d), 1,0 (dd), -9,4 (d).

Esimerkki 4

2-Propoksi-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuola

i) 2-Propoksiadenosiini

2-Klooriadenosiinia (3,5 g) lisättiin kuumaan liuokseen, jossa oli NaOH:a (3,2 g) n-propanolissa (80 ml), seosta kuumennettiin refluksoiden 3 tuntia. Haihtuvat aineet poistettiin tyhjiössä,

jäännös liuotettiin veteen (40 ml), jäädytettiin ja tehtiin happameksi 1M suolahapolla pH:n arvoon 7. 15 minuutin kuluttua suspensio suodatettiin ja suodos haihdutettiin. Jäännös liuotettiin etanoliin ja adsorboitiin silikaan, joka asetettiin kromatografiapylväaseen. Eluoimalla 9:1 ja sitten 4:1 CHCl<sub>3</sub>:lla saatiin alaotsikon yhdistettä (0,65 g).

MS (FAB) 326 (M<sup>+</sup>+H)

ii) 2-Propoksi-5'-adenyylihappo, monoammoniumsuola

Valmistettu esimerkin 1 menetelmällä.

NMR δ<sup>31</sup>P (D<sub>2</sub>O+NaOD) 3,17 (s).

iii) 2-Propoksi-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa, tetranatriumsuola

NMR δ<sup>31</sup>P (D<sub>2</sub>O) 9,4 (d, J=14,5Hz), 3,77 (dd, J=14,3 ja 29,2Hz), -9,0 (d, J=29,7Hz).

Esimerkki 5

2-(1-Metyylietyyli)tio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa, trinatriumsuola

i) 2',3',5'-Tri-O-asetyyli-6-kloori-2-(1-metyylietyyli)tio-adenosiini

9-(2',3',5'-Tri-O-asetyyli-β-D-ribofuranosyyli)-2-amino-6-klooripuriinia (6,6 g) liuotettiin kuivaan asetnonitriiliin (65 ml). Isopropyylidisulfidia (21 ml) ja isoamyylinitriittiä (12,1 ml) lisättiin ja saatu liuos puhdistettiin tyypellä 45 minuutin ajan, sitten kuumennettiin typen alla 60°C:ssa 16 tuntia. Haihtuvat aineet poistettiin tyhjössä ja jäännös kromatograoitiin, jolloin saatiin alaotsikon yhdistettä keltaisena öljynä (3,69 g).

NMR  $\delta^1\text{H}$  ( $d^6$ -DMSO) 8,70 (s, 1H), 6,29 (d, 1H), 6,02 (m, 1H), 5,61 (t, 1H), 4,39 (m, 2H), 4,20 (m, 1H), 4,00 (septet, 1H), 2,12, 2,07, 1,98 (3xs, 3x1), 1,41 (d, 6H).

ii) 2-(1-Metyylietyyli)tioadenosiini

Vaiheen i) tuote (3,6 g) etanolissa (400 ml) jäähdytettiin 0°C:een ja kyllästettiin ammoniakilla. Liuoksen annettiin lämmitä noin 15°C:een, sitten kuumennettiin 70°C:een autoklaavissa 24 tuntia, haihtuvat aineet poistettiin tyhjöissä ja jäännös kromatografoitiin, jolloin saatiin alaotsikon yhdistettä (1,95 g).

MS (FAB) 342 ( $M^+ + H$ ) (100 %)

iii) 2-(1-Metyylietyyli)tio-5'-adenyylihappo

Alaotsikon yhdistettä valmistettiin esimerkin 1 menetelmän mukaisesti.

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $D_2O$ ) 1,1 (s).

iv) 2-(1-Metyylietyyli)tio-5'-adenyylihappo, monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa, trinatriumsuola

Otsikkoyhdiste valmistettiin esimerkin 1 menetelmän mukaisesti.

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $D_2O$ ) 9,21 (d,  $J=21\text{Hz}$ ), 2,0 (dd,  $J=19$  ja  $30\text{Hz}$ ), -9,33 (d,  $J=32\text{Hz}$ ).

Esimerkki 6

2-Propyyli-tioadenosiini, 5'-P<sup>1</sup>-monoesteri bis[(dihydroksifosfinyyli)metyyli]fosfiinihapon kanssa, dinatriumsuola

i) 2',3'-O,O-(1-Metyylietylideeni)-2-propyyli-tioadenosiini

Suspensioon, jossa oli 2-propyyllitioadeonisiinia (2,6 g) AR-asetonissa (97 ml) 2,2-dimetoksipropaanissa (11,3 ml) lisättiin p-tolueenisulfonihappomonohydraattia (1,46 g) pieninä annoksina yli yhden tunnin ajan. Saatua liuosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa 18 tuntia, laimennettiin vedellä (300 ml) ja käsiteltiin trietyyliamiinilla kunnes pH oli 7. Tilavuus laskettiin puoleen tyhjössä, ja jäljelle jäänyt liuos uutettiin kloroformilla (3x100 ml). Uute kuivattiin (MgSO<sub>4</sub>), suodatettiin ja haihdutettiin. Jäännös puhdistettiin kromatografisesti (SiO<sub>2</sub>, etyyliasetatti), jolloin saatiin alaotsikon yhdistettä (1,8 g).

MS (FAB) 382 (M<sup>+</sup>+H) BP 210.

ii) 5'-4-Metyylibentseenisulfonyyli-2',3'-O-O-(1-metyyli-etylideeni)-5'-deoksi-2-propyyllitioadenosiini

Jäillä jäädytettyyn liuokseen, jossa oli vaiheen i) tuotetta (1,6 g) kuivassa dikloorimetaanissa (100 ml) lisättiin 4-dimetyyliaminopyridiiniä (1,33 g) ja sitten liuos, jossa oli p-tolueenisulfonyylikloridia (0,88 g) kuivassa dikloorimetaanissa (20 ml) yli 15 minuutin ajan. 18 tunnin kuluttua 0-4°C:ssa haihtuvat aineet poistettiin tyhjössä ja jäännös puhdistettiin kromatografisesti (SiO<sub>2</sub>, etyyliasebaatti), jolloin saatiin alaotsikon yhdistettä (1,9 g).

NMR δ<sup>31</sup>P (CDCl<sub>3</sub>) 7,7 (s, 1H), 7,6 (d, 2H), 7,1 (d, 2H), 6,0 (d, 1H), 5,7 (s, 2H), 5,4 (d, 1H), 5,0 (m, 1H), 4,4 (m, 1H), 4,2 (m, 2H), 3,0 (m, 2H), 2,4 (s, 3H), 1,7 (q, 2H), 1,6 (s, 3H), 1,4 (s, 3H), 1,1 (t, 3H)

iii) 2-Propyyllitioadenosiini, 5'-P<sup>1</sup>-monoesteri bis[(dihydroksifosfinyyli)metyyli]fosfiinihapon kanssa, dinatriumsuola

Liuoksen, jossa oli bis[(dihydroksifosfinyyli)metyyli]fosfiinihappoa (0,66 g) vedessä (10 ml) pH säädettiin arvoon 8,7 lisäämällä 40 % w/v tetrabutyyliammoniumhydroksidiliuosta, sitten

lyofilisoitiin, jolloin saatiin kumia, joka edelleen kuivattiin liuottamalla toistuvasti asetonitriiliin ja haihduttamalla liuotin (3x50 ml). Jäännös liuotettiin kuivaan asetonitriiliin (10 ml) ja käsiteltiin vaiheen ii) tuotteella (0,81 g) ja seos väkevöitiin tyhjöissä paksuksi siirapiksi. Sekoitettiin yön yli ympäristön lämpötilassa, minkä jälkeen seos laimennettiin vedellä ja saatettiin DEAE-Sepharose-pylväeseen (nopea virtaus). Eluoimalla 0-0,6M trietyyliammoniumbikarbonaatilla saatiin lyofilisoimisen jälkeen jäännös, joka liuotettiin 80% v/v etikkahappoon ja kuumennettiin 80°C:ssa neljä tuntia. Haihdutettiin kuiviin, minkä jälkeen jäännös atseotropottiin vedellä (2x20 ml), liuotettiin metanoliin (5 ml) ja käsiteltiin muutamalla tipalla trietyyliamiinia. Tähän liuokseen lisättiin 1M natriumjodidia asetonissa, jolloin natriumsuola saostui, joka otettiin talteen sentrifugoimalla ja pestiin useita kertoja asetonilla. Kiinteä aine liuotettiin veteen ja pakastekuivatettiin, jolloin saatiin otsikkosuolaa värittömänä kiinteänä aineena (96 mg).

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 28,17 (d), 18,86 (dd), 16,39 (d).

### Esimerkki 7

2-Propyyliitioadenosiini, 5'-P<sup>1</sup>-monøsteri bis[(diklooridihydroksifosfinyyli)metyyli]fosfiinihapon kanssa, tetranatriumsuola

i) Bis[(diklooridihydroksifosfinyyli)metyyli]fosfiinihappo, pentaetyyliesteri

Liuosta, jossa oli bis[(dihydroksifosfinyyli)metyyli]fosfiinihappopentaetyyliesteriä (3,94 g) kloroformissa (100 ml) sekoitettiin voimakkaasti kaupallisella natriumhypokloriittiliuoksella (5,25% saatavilla olevaa klooria, 400 ml) ympäristön lämpötilassa 24 tuntia. Orgaaninen faasi erotettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin alaotsikon yhdistettä (4,7 g).

MS (FAB) 531/533/535/537 ( $\text{M}^{++}\text{H}$ ), BP 533.

ii) Bis[(diklooridihydroksifosfinyyli)metyyli]fosfiinihappo

Vaiheen i) tuotetta (0,532 g) kuivassa metyleenikloridissa (10 ml) käsiteltiin trimetyylisilylibromidilla (0,912 g) ympäristön lämpötilassa 18 tuntia. Haihtuvat aineet poistettiin tyhjössä, ja jäännös liuotettiin metanoliin (5 ml), joka haihdutettiin kahden tunnin kuluttua, saatu öljy liuotettiin deionisoituun veteen (10 ml) ja uutettiin hyvin eetterillä. Sykloheksyyliamiinia lisättiin kunnes pH oli noin 10, sitten lisättiin metanolia kunnes sameus jäi pysyväksi. Jäähdyttäessä saostunut kiinteä aine otettiin talteen ja kuivattiin, sitten liuotettiin veteen (10 ml) ja saatettiin Dowex 50Wx8-pylvääseen (H<sup>+</sup>). Eluoimalla tislattulla vedellä ja lyofilisoimalla saatiin alaotsikon yhdistettä (0,15 g)

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  (D<sub>2</sub>O) 9,2 (d, J=20,4Hz), 17,9 (t, J=18,7Hz)

iii) 2-Propyyllitioadenosiini, 5'-P<sup>1</sup>-monoesteri bis[(diklooridihydroksifosfinyyli)metyyli]fosfiinihapon kanssa, tetranatrium-suola

Otsikkoyhdistettä valmistettiin vaiheen ii) tuotteesta esimerkiksi 6 menetelmän mukaisesti (0,35 g).

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  (D<sub>2</sub>O) 20,81 (t, J=14,1Hz), 11,18 (d, J=12,1Hz), 9,9 (d, J=12,3Hz)

Esimerkki 8

2-Propyyllitioadenosiini, 5'-P<sup>1</sup>-monoesteri metyleenibisfosfonihapon kanssa, P<sup>2</sup>-monoanhydridi fosforihapon kanssa, tetranatriumsuola

i) 2-Propyyllitioadenosiini, 5'-P<sup>1</sup>-monoesteri metyleenibisfosfonihapon kanssa, dinatriumsuola

Alaotsikon yhdistettä valmistettiin esimerkin 6iii) menetelmällä.

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 20,97 (d,  $J=8,56\text{Hz}$ ), 15,3 (d,  $J=8,57\text{Hz}$ )

ii) 2-Propyyliitioadenosiini, 5'-P<sup>1</sup>-monoesteri metyleenibisfosfonihapon kanssa, P<sup>2</sup>-monoanhydridi 1-(2-nitrofenyyli)etyyli-fosfaatin kanssa, monotrietyyliammoniumsuola

Vaiheen i) tuote eluoiitiin Dowex 50Wx8-pylvään ( $n\text{-Bu}_4\text{N}^+$ -muoto) läpi deionisoidulla vedellä ja effluentti lyofilisoitiin, jolloin saatiin bisfosfonaattiaineksen tetra-*n*-butyyliammoniumsuolaa. Tätä suolaa (0,73 mmol) ja 1-(2-nitrofenyyli)etyylifosforomorfolidaattia, *N,N'*-disykloheksyyli-morfoliini-1-karboksamidiniumsuolaa (1,09 mmol) sekoitettiin kuivassa pyridiinissä (5 ml) 48 tuntia ympäristön lämpötilassa. Liuotin haihdutettiin ja jäännös liuotettiin veteen (100 ml) ja pestiin kloroformilla (2x50 ml). Vesifaasin tilavuus laskettiin 10 ml:aan 30°C:ssa ja saatettiin DEAE-Sepharose-pylvääseen, joka eluoiitiin 0-0,4M trietyyliammoniumbikarbonaattiliuoksella. Sopivat jakeet yhdistettiin ja lyofilisoitiin, jolloin saatiin alaotsikon yhdistettä (0,3 g).

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 18,43 (d,  $J=11,31\text{Hz}$ ), 7,8 (dd), -10,96 (d,  $J=26,3\text{Hz}$ )

iii) 2-Propyyliitioadenosiini, 5'-P<sup>1</sup>-monoesteri metyleenibisfosfonihapon kanssa, P<sup>2</sup>-monoanhydridi fosforihapon kanssa, tetra-natriumsuola

Vaiheen ii) tuotetta (0,3 g) 0,4M trietyyliammoniumbikarbonaattiliuoksessa (100 ml), joka sisälsi semikarbatsidihydrokloridia (0,3 g) 10°C:ssa säteilytettiin suurpaine-UV-lampulla kaksi tuntia. Liuotin poistettiin tyhjässä 30°C:ssa ja jäännös puhdistettiin kromatografisesti DEAE-Sepharosella eluoiden 0-0,6M trietyyliammoniumbikarbonaattipuskurilla. Relevantit jakeet yhdistettiin ja lyofilisoitiin ja jäännös muunnettiin tetra-

natriumsuolaksi esimerkin 6iii) menetelmällä (1,13 g).  
 NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 19,34 (d,  $J=8,56\text{Hz}$ ), 6,7 (dd), -6,6 (d,  
 $J=20,96\text{Hz}$ )

### Esimerkki 9

3-(6-Amino-2-propyyli-9H-purin-9-yyli)-5-(hydroksimetyyli)-1,2-syklopentaanidioli-5-vetyfosfaatti, monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa, trinatriumsuola

#### i) 2-Propyyliopyrimidiini-4,6-dioli

Liuokseen, jossa oli 4,6-dihydroksi-2-merkaptopyrimidiiniä (100 g) kaliumhydroksidissa (2,5N, 571 ml) lisättiin propyylijodidia (76,8 ml) ja tätä sekoitettiin neljä päivää. Liuos tehtiin happameksi pH:n arvoon 2-3 ja suodatettiin, jolloin saatiin alaotsikon yhdistettä (15 g).

MS 330  $\text{M}^+$  (di-TMS), BP 315

#### ii) 5-Nitro-2-propyyliopyrimidiini-4,6-dioli

Vaiheen i) tuotetta (2 g) lisättiin jäällä jäähdytettyyn savuaan typpihappoon (10 ml) yli yhden tunnin ja sekoitettiin  $0^\circ\text{C}$ :ssa edelleen yksi tunti. Kaatamalla jäihin, minkä jälkeen kuivaamalla saatiin alaotsikon yhdistettä beigenä kiinteänä aineena (1,7 g).

MS 375  $\text{M}^+$  (di-TMS), BP 360.

#### iii) 4,6-Dikloori-5-nitro-2-propyyliopyrimidiini

Vaiheen ii) tuotetta (1,7 g), fosforyylikloridia (10 ml) ja N,N-dietyylaniliinia (3 ml) kuumennettiin refluksoiden yksi tunti, sitten väkevöitiin puoleen tilavuuteen ja kaadettiin jäihin, jolloin saatiin mustaa tervaa. Uuttamalla terva eetterillä saatiin liuos, joka kuivattiin ( $\text{MgSO}_4$ ) ja sitten haihdu-

tettiin. Jäännös kromatografoitiin ( $\text{SiO}_2$ , kevyt petroli), jolloin saatiin alaotsikon yhdistettä (0,8 g).  
MS 267/269/271  $\text{M}^+$ , BP 41.

iv) 4,6-Dikloori-2-propyyliotiopyrimidiini-5-amiini

Liuokseen, jossa oli vaiheen iii) tuotetta (1 g) jäätikassa (10 ml) lisättiin pelkistettyä rautajauhetta (1,1 g). Lämpötila laskettiin  $60^\circ\text{C}$ :een jäädyttämällä ja sitten kuumennettiin  $60^\circ\text{C}$ :ssa 15 minuuttia. Reaktio haihdutettiin kuiviin ja jäännös uuttettiin eetteriin (100 ml), pestiin laimealla natriumhydroksidiliuoksella ja kuivattiin. Haihduttamalla saatiin alaotsikon yhdistettä tummana öljynä (0,8 g).

NMR  $\delta^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 4,2 (brs, 2H), 3,1 (t, 2H), 1,71 (q, 2H), 1,05 (t, 3H).

v) 3-(5-Amino-6-kloori-2-propyyliotiopyrimidin-4-yyliamino)-5-(hydroksimetyyli)-syklopentaani-1,2-dioli

Vaiheen iv) tuotetta (4,6 g) lisättiin liuokseen, jossa oli 3-amino-5-(hydroksimetyyli)syklopentaani-1,2-diolia (1,41 g) butan-1-olissa (200 ml), joka sisälsi trietyyliamiinia (10 ml) ja tätä kuumennettiin refluksoiden 48 tuntia. Haihduttamalla saatiin tumma jäännös, joka kromatografoitiin ( $\text{SiO}_2$ , 10 % etanoli/dikloorimetaani), jolloin saatiin alaotsikon yhdistettä (2,8 g).

MS 349/350 ( $\text{M}^+\text{+H}$ ), BP 349.

vi) 3-(6-Amino-2-propyyliotiopyrimidin-9-yyli)-5-(hydroksimetyyli)-1,2-syklopentaanidioli-5-divetyfosfaatti

Vaiheen v) tuotetta (0,2 g) ja dietoksimetyyliasettaattia (10 ml) sekoitettiin ympäristön lämpötilassa typen alla yksi tunti, sitten  $80^\circ\text{C}$ :ssa 24 tuntia. Haihduttamalla saatiin jäännös, jota käsiteltiin nesteytettyllä ammoniakilla (15 ml) auto-

klaavissa 60°C:ssa 16 tuntia. Ammoniakin annettiin haihtua ja jäännös liuotettiin 0,5M suolahappoon (10 ml) 60°C:ssa 45 minuuttia. Haihtuvat aineet poistettiin tyhjöissä ja jäljelle jäänyt aines liuotettiin veteen (10 ml). Neutraloimalla väkevöidyllä ammoniakilla alaotsikon yhdiste kiteytyi, se otettiin talteen ja kuivattiin (0,15 g).

MS (FAB) 340 (M<sup>+</sup>+H), BP 340.

vii) 3-(6-Amino-2-propyyli-9H-purin-9-yyli)-5-hydroksimetyyli)-1,2-syklopentaanidioli-5-divetyfosfaatti

Vaiheen vi) tuote muunnettiin alaotsikon yhdisteeksi esimerkin 1 menetelmällä.

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  (D<sub>2</sub>O) 2,85 (s).

viii) 3-(6-Amino-2-propyyli-9H-purin-9-yyli)-5-hydroksimetyyli)-1,2-syklopentaanidioli-5-divetyfosfaatti, monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa, trinatriumsuola

Vaiheen vii) tuote muunnettiin otsikkosuolaksi esimerkin 1 menetelmällä.

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  (D<sub>2</sub>O) 8,54 (d, J=18,73Hz), 0,84 (dd), -9,5 (d, J=19,61Hz).

#### Esimerkki 10

1-(6-Metoksi-2-propyyliopurin-9-yyli)ribofuranos-5'-yyli-fosfaatti, monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa, trinatriumsuola

i) 2',3',5'-Tri-O-asetyyli-6-kloori-2-propyyliadenosiini

Alaotsikon yhdiste valmistettiin esimerkin 5i) menetelmän mukaisesti käyttäen di-n-propyylidisulfidia.

NMR  $\delta^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 8,13 (s, 1H), 6,14 (d, 1H), 5,93 (t, 1H), 5,60 (t, 1H), 4,3-4,5 (m, 3H), 3,21 (t, 2H), 2,15, 2,13, 2,11 (3xs, 3x3H), 1,8 (m, 2H), 1,07 (t, 3H).

ii) 6-Metoksi-2-propyyli-9-ribofuranosyyli-puriini

Vaiheen i) yhdiste (5,2 g) liuotettiin 1M natriummetoksidiin metanoliliuoksessa (53 ml) ja kuumennettiin refluksoiden yksi tunti typhen alla. Laimentamalla vedellä (100 ml), neutraloimalla laimealla suolahapolla ja haihduttamalla metanoli saatiin öljyä. Hiertämällä vedellä ja sitten dikloorimetaanilla saatiin alaotsikon yhdistettä värittömänä kiinteänä aineena (1,35 g). MS (FAB) 357 ( $\text{M}^+\text{H}$ ), BP 225.

iii) 1-(6-Metoksi-2-propyyli-9-purin-9-yyli)ribofuranos-5'-yylifosfaatti

Alaotsikon yhdiste valmistettiin esimerkin 1 menetelmän mukaisesti.

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 1,69 (s).

iv) 1-(6-Metoksi-2-propyyli-9-purin-9-yyli)ribofuranos-5'-yylifosfaatti, monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa, trinatriumsuola

Otsikkosuola valmistettiin esimerkin 1 menetelmän mukaisesti.

NMR  $\delta^{31}\text{P}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) 8,59 (d,  $J=18\text{Hz}$ ), 1,73 (dd,  $J=18$  ja  $29\text{Hz}$ ), -9,94 (d,  $J=29\text{Hz}$ ).

Esimerkki X:

$\text{P}_{2\text{T}}$ -reseptori-agonisti/antagonisti-aktiivisuuden määrittäminen pestyissä ihmisen verisoluissa:

## Valmistaminen:

Ihmisen laskimoveri (100 ml) jaettiin tasan kolmeen putkeen, joista jokainen sisälsi 3,2 % trinatriumsitraattia (4 ml) antikoagulanttina. Putkia sentrifugoitiin 15 min 240G:ssa, jotta saataisiin plasma, jossa on runsaasti verihiutaleita (PRP), johon lisättiin 300 ng/ml prostasykliiniä ( $\text{PGI}_2$ , 3  $\mu\text{l}/\text{ml}$  PRP of 1/10 diln. in saline from stock 1 mg/ml in ethanol) stabiloimaan verihiutaleita pesun aikana. Punasoluton PRP saatiin sentrifugoimalla ensin 10 min 125G:ssa, ja sitten 15 min 640G:ssa. Sakan yläpuolinen neste poistettiin ja verihiutalepalo uudestaan suspendoitiin modifioituun kalsiumittomaan, Tyrode-liuokseen ((10 ml) CFT, koostumus: NaCl 137 mM (8 g/l),  $\text{NaHCO}_3$  11,9 mM (1 g/l),  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0,38 mM (0,6 g/l), KCl 2,86 mM (1 ml of 20 % soln./1),  $\text{MgCl}_2$  1,05 mM (1 ml of soln./1), dekstroosia 5,55 mM (1 g/l), kaasutettu 95 %  $\text{O}_2$ /5 %  $\text{CO}_2$ :lla ja pidetty 37 °:ssa. Sen jälkeen kun oli lisätty vielä 300 ng/ml  $\text{PGI}_2$ , pakkaantunut suspensio sentrifugoitiin vielä kerran 15 min 640G:ssa. Sakan yläpuolinen neste poistettiin ja verihiutaleet uudestaan suspendoitiin ensin 10 ml:aan CFT:a, ja sitten lisäämällä CFT:a säädettiin lopullinen verihiutaleiden määrä  $2 \times 10^5/\mu\text{l}$ :ksi. Tämä lopullinen suspensio varastoitiin 60 ml:n ruiskuun 3°:ssa ilman ilmaa.

Jotta sallittaisiin palautuminen normaalin toiminnan  $\text{PGI}_2$ -inhibiitiosta, verihiutaleita ei käytetty aggregaatiotutkimuksissa ennen kuin 2 tuntia viimeisen uudestaansuspendoimisen jälkeen. Kaikissa tutkimuksissa 430  $\mu\text{l}$  verihiutalesuspensiota lisättiin silikonoituihin aggregaatiokuvetteihin, joissa oli  $\text{CaCl}_2$ -liuosta (10  $\mu\text{l}$  of 45 mM soln., lopullinen konsentraatio 1 mM), ja sekoitettiin 900 rpm PAP4-aggregometrissä (Biodata). Lisättiin ihmisen fibrinogeeniä (Sigma, F 4883) ja 8-sulfofeenyylliteofylliiniä (8-SPT, estämään yhdisteiden  $\text{P}_1$ -agonistiaktiivisuus) kunnes saatiin lopulliset konsentraatiot 0,2 mg/ml (10  $\mu\text{l}$  hyytyvän proteiinin 10 mg/ml-liuosta suolaliuoksessa) ja

$3 \times 10^{-4}$  M (10  $\mu$ l 5,6 mg/ml-liuosta 6 % glukoosissa), vastavasti. Sitten aloitettiin aggregaation rekisteröiminen.

a) Submaksimaalisen ADP:n konsentraation valinta

ADP:n konsentraatio, joka saa aikaan juuri submaksimaalisen vaikutuksen, valittiin muodostamalla konsentraatio/vaikutuskäyrä alueella 10-300  $\mu$ M. Sopivaa ADP-liuosta lisättiin aggregaatiokuvettiin 10  $\mu$ l, 20 min aggregaation tutkimisen aloittamisen jälkeen. Aggregaatiovaikutukset mitattiin käyttäen maksimaalista vaihtumisnopeutta valon läpäisyssä, indeksi, joka saadaan PAP4 slope-readeristä. ADP:n submaksimaalista konsentraatiota, joka valittiin tässä vaiheessa tutkimusta, käytettiin seuraavissa arvioinneissa yhdisteiden antagonistitehokkuudesta. Kaikki mittaukset tehtiin kahtena jokaisen donorin verihiu-taleissa.

b) Agonisti/antagonisti-tehokkuuden arviointi

5 min aggregaation tutkimisen aloittamisen jälkeen, suola-liuosta tai sopivaa koeyhdisteen liuosta lisättiin aggregaatiokuvettiin 30  $\mu$ l, niin että saatiin lopulliset konsentraatiot 0, 10, 100 tai 1000  $\mu$ M. Tässä vaiheessa aggregaatio viittasi agonisti-aktiivisuuteen ja, jos sitä ilmeni, agonisti-tehokkuus arvioitiin vertaamalla vertailu-ADP:n vaikutuksiin, jotka saatiin a):ssa. Jos aggregaatiota ei ilmennyt, lisättiin 10  $\mu$ l edellä valitun submaksimaalisen konsentraation ADP:a, 15 min koeyhdisteen jälkeen. Antagonistinen tehokkuus arvioitiin vertailu-ADP:n vaikutuksen %-inhibiitiona, jotta saatiin arvioitu  $IC_{50}$ . Yhdisteet, jotka estivät kokonaan ADP:n vaikutuksen alkukonsentraatioilla testattiin uudestaan matalammalla konsentraatioalueella. Yhdisteet, joilla oli  $IC_{50} < 10^{-6}$  M testattiin myös uudestaan 8-SPT:n poissaollessa, jotta varmistettaisiin  $P_1$ -agonisti-aktiivisuuden puuttuminen, ja 2 min:n inkubaatiolla

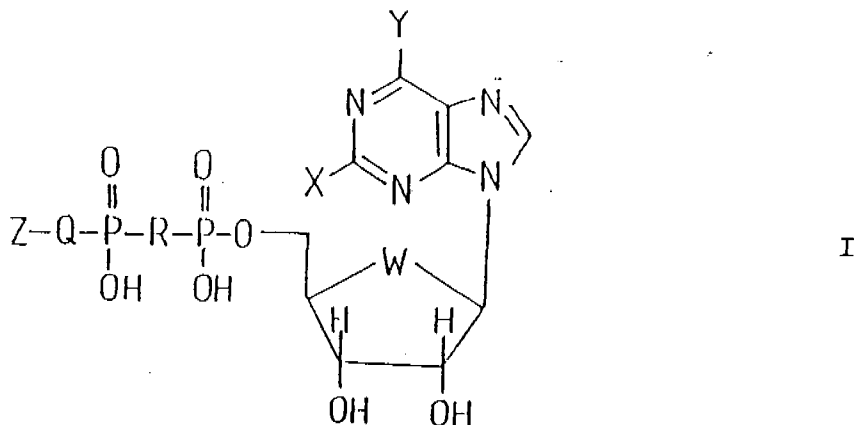
15 min:n sijasta, jotta tarkistettaisiin, onko inhibiitio ajasta riippuvainen.

#### Tulokset:

Tulokset ilmoitetaan antagonistitehokkuuden ( $pIC_{50}$ ) negatiivisena logaritmina, joka saadaan kaksinkertaisessa muodossa jokaisesta 4 donorista. Yhdisteille, joilla  $pIC_{50} > 8$ , annetaan kommentti "puhdas", jos niissä ei ole mitään todisteita  $P_1$ -agonisti-aktiivisuudesta.  $IC_{50} < 3$  määritetään "epäaktiiviseksi".

Patenttivaatimukset

## 1. Kaavan I yhdisteet,



t u n n e t t u siitä, että Q on  $CR^1R^2$ ,

R on O tai  $CR^3R^4$ ,

W on O tai  $CH_2$ ,

$R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  ja  $R^4$  ovat riippumattomasti vety tai halogeeni,

X on  $S(O)_nR^5$ , alkyyli C<sub>1-6</sub>, alkoksi C<sub>1-6</sub>, asyyliamino C<sub>1-6</sub>,  $CONR^6R^7$ ,  $NR^8R^9$ , halogeeni, 5- tai 6-osainen S, jossa on heterosyklinen rengas, tai fenyyli, joka on valinnaisesti substituoitu alkyyliillä C<sub>1-6</sub>,

n on 0, 1 tai 2,

$R^5$  on aryyli tai alkyyli C<sub>1-6</sub>, joka on valinnaisesti substituoitu yhdellä tai useammalla seuraavalla substituentilla: hydroksi, alkoksi C<sub>1-6</sub>, halogeeni ja aryyli;

$R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$  ja  $R^9$  ovat riippumattomasti vety tai alkyyli C<sub>1-6</sub>,

Y on  $NH_2$  tai alkoksi C<sub>1-6</sub>, ja

Z on happo-osa,

lisäksi, kun R on  $CR^3R^4$ , niin -Q-Z voi olla myös hydroksi tai  $-OP(O)(OH)_2$ ,

edellyttäen että:

i) kun R on O, W on O, X on Cl, Y on  $NH_2$  ja Z on  $-P(O)(OH)_2$ , niin  $CR^1R^2$  ei ole  $CH_2$ ;

ii) kun R on O, W on O, X on  $SCH_3$ , Y on  $NH_2$  ja Z on  $-P(O)(OH)_2$ , niin  $CR^1R^2$  ei ole (a)  $CH_2$ , (b)  $CF_2$  tai (c)  $CCl_2$ ;

iii) kun R on CH<sub>2</sub>, W on O, X on Cl ja Y on NH<sub>2</sub>, niin -Q-Z ei ole hydroksi; ja

iv) kun R on O, W on O, X on Cl ja X ja Y ovat molemmat NH<sub>2</sub> ja Z on -P(O)(OH)<sub>2</sub>, niin CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> ei ole CH<sub>2</sub>, CHF, CF<sub>2</sub>, CHCl tai CCl<sub>2</sub>;

ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen kaavan I yhdiste tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola, t u n n e t t u siitä, että Z on -P(O)(OH)<sub>2</sub>.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen kaavan I yhdiste tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola, t u n n e t t u siitä, että Q on CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> ja R on O.

4. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen mukainen kaavan I yhdiste tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola, t u n n e t t u siitä, että W on O.

5. Jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen mukainen kaavan I yhdiste tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola, t u n n e t t u siitä, että X on S(O)<sub>n</sub>-alkyyli.

6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen kaavan I yhdiste tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola, t u n n e t t u siitä, että n on 0.

7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen kaavan I yhdiste tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola, t u n n e t t u siitä, että se on 2-propyyliitio-5'-adenyylihapon monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

8. Patenttivaatimuksen 1 mukainen kaavan I yhdiste, t u n n e t t u siitä, että se on 2-propyyliitio-5'-adenyylihapon

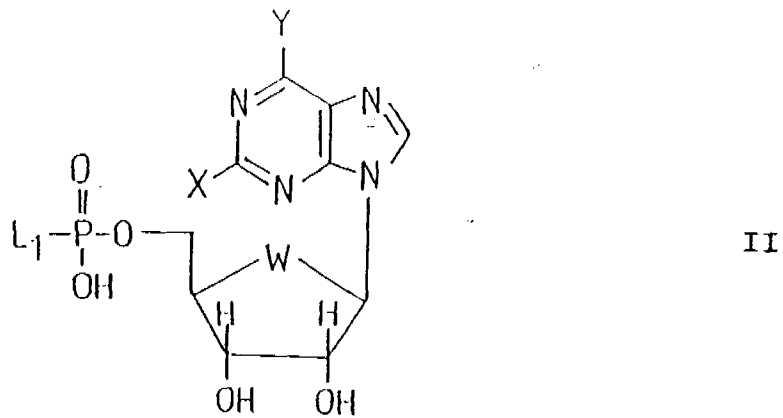
monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
2-propyyllitio-5'-adenyylihapon monoanhydridi difluorimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
2-pentyyllitio-5'-adenyylihapon monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
2-pentyyllitio-5'-adenyylihapon monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
2-etyyllitio-5'-adenyylihapon monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
2-etyyllitio-5'-adenyylihapon monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
2-butyylitio-5'-adenyylihapon monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
2-propyyllitio-5'-adenyylihapon monoanhydridi metyleenibisfosfonihapon kanssa,  
2-asetamido-5'-adenyylihapon monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
2-kloori-5'-adenyylihapon monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
2-jodi-5'-adenyylihapon monoanhydridi difluorimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
L-2-metyyllitio-5'-adenyylihapon monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
2-propyyliamino-5'-adenyylihapon monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
2-propyyllitio-5'-adenyylihapon monoanhydridi sulfodifluorimetyylifosfonihapon kanssa,  
2-propyyllitio-5'-adenyylihapon monoanhydridi fosfonoetikkahapon kanssa,  
2-(2-tienyyli)-5'-adenyylihapon monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
2-fenyyli-5'-adenyylihapon monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
2-butyylitio-5'-adenyylihapon monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa,

2-propoksi-5'-adenyylihapon monoanhydridi dibromimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
 2-(1-metyylietyyli)tio-5'-adenyylihapon monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
 2-propyyliitioadenosiinin 5'-P<sup>1</sup>-monoestteri bis[(dihydroksifosfinyyli)metyyli]fosfiinihapon kanssa,  
 2-propyyliitioadenosiinin 5'-P<sup>1</sup>-monoestteri bis[(diklooridihydroksifosfinyyli)metyyli]fosfiinihapon kanssa,  
 2-propyyliitioadenosiinin 5'-P<sup>1</sup>-monoestteri metyleenibisfosfonihapon kanssa, P<sup>2</sup>-monoanhydridi fosforihapon kanssa,  
 2-propyyliitioadenosiinin 5'-P<sup>1</sup>-monoestteri metyleenibisfosfonihapon kanssa,  
 3-(6-amino-2-propyyliitio-9H-purin-9-yyli)-5-(hydroksimetyyli)-1,2-syklopentaanidioli-5-divetyfosfaatin monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
 1-(6-metoksi-2-propyyliitio-purin-9-yyli)-ribofuranos-5'-yyli-fosfaatin monoanhydridi dikloorimetyleenibisfosfonihapon kanssa,  
 tai jonkin näistä farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

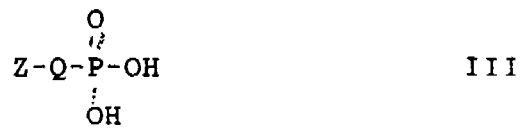
9. Farmaseuttinen seos, t u n n e t t u siitä, että se sisältää jonkin edellä olevan patenttivaatimuksen mukaisen kaavan I yhdisteen, mutta ilman ehto iv), tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan, sekoitettuna farmaseuttisesti hyväksyttävän kantaja-aineen, laimennusaineen tai lisäaineen kanssa.

10. Menetelmä jonkin patenttivaatimuksen 1 - 8 mukaisen kaavan I yhdisteen tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että

a) kaavan I yhdisteen, jossa R on O, tai sen suola valmistetaan saattamalla kaavan II, tai sen suola,

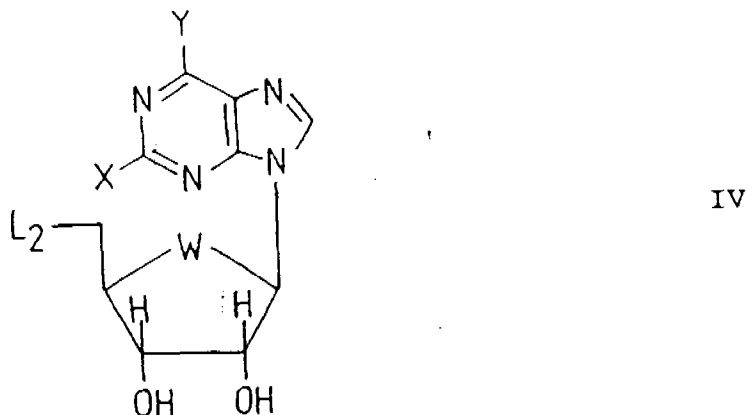


jossa W, X ja Y ovat patenttivaatimuksessa 1 määritellyt ja L<sub>1</sub> on lähtevä ryhmä, reagoimaan kaavan III, tai sen suolan, kanssa



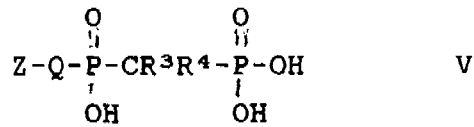
jossa Z ja Q ovat patenttivaatimuksessa 1 määritellyt,

b) kaavan I yhdiste, jossa R on CR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, tai sen suola, valmistetaan saattamalla kaavan IV yhdiste, tai sen suola,



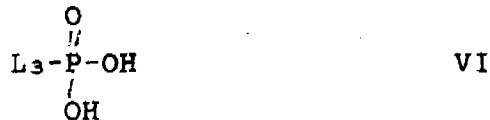
jossa W, X ja Y ovat patenttivaatimuksessa 1 määritellyt ja L<sub>2</sub> on lähtevä ryhmä, reagoimaan kaavan V yhdisteen, tai sen

suolan, kanssa



jossa Z, Q, R<sup>3</sup> ja R<sup>4</sup> ovat patenttivaatimuksessa 1 määritellyt,

c) kaavan I yhdiste, jossa R on CR<sup>3</sup>R<sup>4</sup> ja -Q-Z on -OP(O)(OH)<sub>2</sub>, tai sen suolan, valmistetaan saattamalla vastaava kaavan I yhdiste, jossa -Q-Z on hydroksi, reagoimaan kaavan VI yhdisteen, tai sen suolan, kanssa



jossa L<sub>3</sub> on lähtevä ryhmä,

d) suojaava ryhmä poistetaan vastaavasta kaavan I suojatusta yhdisteestä, jossa yksi tai useampi funktionaalinen ryhmä on suojattu, ja haluttaessa tai tarvittaessa saadun kaavan I yhdisteen, tai sen toisen suolan, muuttamisen sen farmaseuttisesti hyväksyttäväksi suolaksi tai päin vastoin.