



SUOMI – FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN



FI000119690B

(12) PATENTTIJULKAISU
PATENTSKRIFT

(10) FI 119690 B

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats

13.02.2009

(51) Kv.lk. - Int.kl.

C07D 207/40 (2006.01)

C07D 207/44 (2006.01)

C07D 209/48 (2006.01)

A61K 31/40 (2006.01)

(21) Patentihakemus - Patentansökning

980776

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag

03.04.1998

(24) Alkuperäisyys - Löpdag

04.10.1996

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig

05.06.1998

(86) Kv. hakemus - Int. ansökan

PCT/US96/15864

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

06.10.1995 US 539879 P

(73) Haltija - Innehavare

1 • Celgene Corporation, 7 Powder Horn Drive, Warren, NJ 07059, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1 • Muller, George W., 250 Windmill Court, Bridgewater, NJ 08807, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

2 • Shire, Mary, 8 Stone Street, North Plainfield, NJ 07060, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud

Papula Oy, Mechelininkatu 1 a, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Sukkinimidi ja maleimidi sytokiini-inhibiittoreita

Succinimid och maleinimid cytokin inhibitorer

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksintö koskee uusia sukkiini- ja maleiini-imidejä, jotka ovat tuumorinekroositekijän α :n ja fosfodiesteriaanin estäjiä, ja joita voidaan käyttää taisteluun kakeksiaa, endotoksista sokkia, retrovirus replikaatiota, astmaa ja tulehduksellisia tiloja vastaan. Tyypillinen keksinnön mukainen yhdiste on metyyli-3-(3',4',5',6'-tetrahydroftalimido)-3-(3'',4''-dimetoksifenyyli)propionaatti.

Uppfinningen avser nya succin- och maleinimider, vilka är inhibitorer för tumornekrosfaktorn α och fosfodiesterasen, och vilka kan användas i kampen mot cachexi, endotoxisk shock, retrovirus replikation, astma och inflammatoriska tillstånd. En typisk förening enligt uppfinningen är metyl-3-(3',4',5',6'-tetrahydroftalimido)-3-(3'',4''-dimetoxifenyl)propionat.

SUKKINIMIDI JA MALEIMIDI SYTOKIINI-INHIBIITTOREITA -
SUCCINIMID OCH MALEINIMID CYTOKIN INHIBITORER

Esillä oleva keksintö koskee menetelmässä TNF α -tasojen pienentämiseksi ja fosfodiesteriäasin estämiseksi nisäkkäissä käyttökelpoisia yhdisteitä ja koostumuksia.

TNF α , tai tuumorinekroositekijä α , on sytokiini, jota mononukleaariset fagosyytit ensisijaisesti vapauttavat vastavaikutuksena erilaisille immunostimulaattoreille. Annettuna eläimille tai ihmisille se aiheuttaa tulehduksia, kuumetta, sydän ja verisuoniin liittyviä vaikutuksia, verenvuotoa, hyytymistä ja äkillisiä vastavaikutusvaiheita, jotka ovat samantapaisia kuin voidaan nähdä äkillisten infekti- ja sokkitilojen aikana.

Liiallinen tai säännöstelemätön TNF α -tuotanto tuottaa seurauksena suuren määrän sairaustiloja. Näihin kuuluvat sisämyrkyverisyys ja/tai toksinen sokkioireyhtymä (Tracy et al., Nature 330, 662-664 (1987) ja Hinshaw et al., Circ. Shock 30, 279-292 (1990)); kakeksia (Dezube et al., Lancet, 335(8690), 662 (1990)); ja aikuisen hengitysvaikeusoireyhtymä, joissa on havaittu TNF α -pitoisuuksia, jotka ovat yli 12,000 pg/ml ARDS potilaiden keuhkoaspiraatiassa (Millar et al., Lancet 2(8665), 712-714 (1989)). Rekombinantti TNF α :n systeeminen infuusio saa myös aikaan muutoksia, joita tyypillisesti havaitaan ARDS:ssa (Ferrai-Baliviera et al., Arch. Surg. 124(12), 1400-1405 (1989)).

TNF α vaikuttaa olevan osallisena luun imeytymissairauksissa, mukaan lukien artriitti, jossa on määritetty, että aktivoituna, leukosyytit tuottavat luuta absorboivan vaikutuksen, ja tiedot viittaavat siihen, että TNF α myötävaikuttaa tähän vaikutukseen (Bertolini et al., Nature 319, 516-518 (1986) ja Johnson et al., Endocrinology 124(3), 1424-1427 (1898)). On määritetty, että TNF α kiihottaa luun imeytymistä ja estää luun muodostumisen *in vitro* ja *in vivo* stimuloi-

malla osteoklastimuodostusta ja -aktivoitumista yhdistettynä osteoblastitoiminnan estämisen kanssa. Vaikka TNF α saattaa olla osallisena monessa luun imeytymissairaudessa, mukaan lukien artriitti, kaikkein mielenkiintoisin yhteys sairauden kanssa on yhteys kasvaimen tai isäntäkudoksen TNF α :n tuotannon ja pahanlaatuisuuteen liittyvän hyperkalsemian välillä (Calci. Tissue Int. (US) 46(Suppl.), S3-10 (1990)). Käänteishyljintäsairaudessa seerumin liisääntyneet TNF α -tasot on yhdistetty tärkeisiin komplikaatioihin, jotka ovat seurauksena äkillisistä allogenisista luuydin siirteistä (Holler et al., Blood. 75(4), 1011-1016 (1990)).

Serebraalinen malaria on tappava erittäin äkillinen neurologinen oireyhtymä, johon liittyy TNF α :n korkeita veritasoja, ja joka on vaikein malariapotilailla esiintyvä komplikaatio. TNF α :n seerumitasot ovat suoraan vastaavuussuhteessa sairauden vaikeuden ja potilaiden, joilla on äkillinen malaria kohtaus, ennusteen kanssa (Grau et al., N. Engl. J. Med. 320(24), 1586-1591 (1989)).

TNF α on myös osallisena kroonisten keuhkoihin liittyvien tulehdusta aiheuttavien sairauksien alalla. Piioksidihiukkasten saostuminen johtaa kivipölykeuhkoon, sairauteen, joka on fibroottisen reaktion aiheuttaman asteittain lisääntyvä hengityksen toimintahäiriö. Vasta-aineet TNF α :lle estävät täysin piioksidin aiheuttaman keuhkofibroosin hiirissä (Pignet et al., Nature, 344:245-247 (1990)). Korkeita TNF α tuotantotasoja, seerumissa ja eristetyissä makrofageissa, on osoitettu piioksidin ja asbestin aiheuttamassa fibroosissa eläinmalleissa (Bissonette et al., Inflammation 13(3), 329-339 (1989)). On myös havaittu, että alveolimakrofagit keuhkosarkoidoosipotilaista vapauttavat sponttaanisti suuria määriä TNF α :a verrattuna makrofageihin tavallisista luovuttajista (Baughman et al., J. Lab. Clin. Med. 115(1), 36-42 (1990)).

TNF α on myös osallisena tulehdusta aiheuttavassa vastavaikutuksessa, joka seuraa uudelleen perfuusiota, jota sanotaan uudelleen perfuusio vammaksi, ja joka on suuri syy kudoksen tuholle veren vuoto hukan jälkeen (Vedder et al., PNAS 87, 2643-2646 (1990)). TNF α myös muuttaa endoteelisolujen ominaisuuksia ja sillä on erilaisia pro-koagulantti vaikutuksia, kuten esim. saada aikaan lisäys kudoksen pro-koagulanttitekijän vaikutukseen ja antikoagulantti proteiini C:n tien suppressioon samoin kuin vähentää trombomoduliinin ekspressiota (Sherry et al., J. Cell Biol. 107, 1269-1277 (1988)). TNF α :lla on protulehduskellisia vaikutuksia, jotka yhdessä sen varhaisen tuotannon (tulehduksen aiheuttavan tapauksen alkuvaiheen aikana) tekee sen todennäköiseksi kudoksen vaurion välittäjäksi useissa merkittävässä sairauksissa mukaan lukien, mutta ei rajoittuen sydänlihakseen liittyvä infarkti, stroke ja verenkiertoon liittyvä sokki. Erityisen tärkeä voi olla TNF α indusoitu adheesiomolekyylien, kuten esim. intersellulaaristen (solujen välinen) adheesiomolekyylien (ICAM) tai endoteelileukosyyttien adheesiomolekyylien (ELAM), ekspressio endoteelisoluilla (Munro et al., Am. J. Path. 135(1), 121-132 (1989)).

Lisäksi on tunnettua, että TNF α on tehokas retroviiruksen, mukaan lukien HIV-1, replikaation aktivaattori. (Duh et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 86, 5974-5978 (1989); Poll et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 87, 782-785 (1990); Monto et al., Blood 79, 2670 (1990); Clouse et al., J. Immunol. 142, 431-438 (1989); Poll et al., AIDS Res. Hum. Retrovirus, 191-197 (1992)). AIDS on seuraus T lymfosyyttien infektoitumisesta HIV:illa (Human Immunodeficiency Virus). Ainakin kolme HIV-kantaa on tunnistettu, se on HIV-1, HIV-2 ja HIV-3. HIV infektion seurauksena T-solun välittämä immuniteetti heikentyy ja infektoituneet yksilöt osoittavat vaikeita opportunistisia infektoita ja/tai epätavallisia neoplasmeja. HIV:n pääsy T-lym-

fosyyttiin vaatii T-lymfosyytin aktivoitumisen. Muut virukset, kuten esim. HIV-1 ja HIV-2, infektoivat T-lymfosyytit T-solun aktivoinnin jälkeen ja tällainen virusproteiinin ekspressio ja/tai replikaatio välittyy tai ylläpidetään tällaisen T-soluaktivaation avulla. Kun aktivoitunut T-lymfosyytti kerran on infektoitunut HIV:llä, T-lymfosyyttiä tulee jatkuvasti ylläpitää aktivoituneessa tilassa, jotta se sallii HIV-geeniekspression ja/tai HIV-replikaation. Sytokiinit, erityisesti TNF α , sisältyvät aktivoituneen T-solun välitteiseen HIV-proteiiniekspressioon ja/tai virusreplikaatioon esittämällä osaa ylläpitäessään T-lymfosyytti-aktivaatiota. Siksi puuttuminen sytokiinin vaikutukseen, kuten esim. sytokiinituotannon, varsinkin TNF α :n, ehkäiseminen, säätö tai estäminen HIV-infektioituneessa yksilössä auttaa rajoittamaan HIV-infektion aikaansaamaa T-lymfosyytti-aktivaation ylläpitoa.

Monosyytit, makrofagit ja läheisesti yhteen kuuluvat solut, kuten esimerkiksi Kupferin- ja gliasolut, on myös vedetty mukaan HIV-infektioita ylläpitämään. Nämä solut, kuten T-solut, ovat kohteita viraaliselle replikaatiolle ja viraalisen replikaation taso on riippuvainen solujen aktivoinnin tilasta (Rosenberg et al., *The immunopathogenesis of HIV Infection, Advantages in Immunology*, 57 (1989)). Sytokiinin, kuten esim. TNF α , on osoitettu aktivoivan HIV-replikaatiota monosyyteissä ja/tai makrofageissa (Poliet et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87, 782-784 (1990)), siksi sytokiinituotannon tai vaikutuksen ennalta ehkäiseminen, säätö tai estäminen auttaa HIV:n etenemisen rajoittamisessa niin kuin on esitetty edellä T-soluja varten. Lisätutkimukset ovat identifioineet TNF α :n yleisenä tekijänä HIV:n aktivoinnissa *in vitro* ja on tuonut esiin selvän vaikutusmekanismin nukleaarisen säätelijäproteiinin, joka on löydetty solujen sytoplasmassa, kautta (Osborn et al., *PNAS* 86, 2336-2340). Tämä näyttö esittää, että TNF α -synteesin vähentämisellä voi ol-

la virusvastainen vaikutus HIV infektioidissa, vähentämällä transkriptiota ja siten viruksen tuotantoa.

Latentin HIV:n HIV virusreplikaatio T solussa ja makrofagilinjoissa voidaan saada aikaan TNF α :lla (Folks et al., PNAS 86,2365-2368 (1989)). Molekyyli-mekanismina virusta indusoivaa vaikutusta varten on ehdotettu TNF α :n kykyä aktivoida solun sytoplasmassa löydettyä geenisäätelijäproteinia (NF κ B), joka promotoi HIV replikaatiota sitoutumalla virussäätelijä-geenisekvenssiin (LTR)(Osborn et al., PNAS 86, 2336-2340 (1989)). TNF α AIDS:in liittyyvässä kakeksiassa on ehdotettu korotetulla seerumin TNF α :lla ja korkeilla spontaani TNF α tuotantotasolla potilaiden ääreisveren monosyyteissä (Wright et al. J. Immunol. 141(1), 99-104 (1988)).

TNF α :a on vedetty mukaan moneen eri osaan yhdessä muiden virusinfektioiden, kuten esim. sytomegalia viruksen (CMV), influenssaviruksen, adenoviruksen ja herpesperheen viruksien, kanssa samantapaisten edellä mainittujen syiden takia.

TNF α :n tuotannon tai vaikutuksen ennalta ehkäisy, säätely tai estäminen (esim. käsittelemällä tämän keksinnön mukaisilla aineilla) on siksi ennustettu olevan tehokas terapeuttilinen strategia monelle tulehdusta aiheuttavalle, tarttuvalle, immunologiselle tai pahanlaatuiselle sairaudelle. Näihin kuuluu, mutta eivät rajoitu, septinen sokki, sepsis, endotoksinen sokki, veren virtaukseen liittyvä sokki ja sepsiksen oireyhtymä, postiskeeminen uudelleenläpivalu sairaus, malaria, mykobakterisia infektiota, meningiitti, psoriasis, verentungosta aiheuttava sydänsairaus, fibriottinen sairaus, kakeksia, siirteen hyljintä, syöpä, autoimmuunisairaus opportunistiset infektiot AIDS:issa, reumatoidiartriitti(nivelreuma), reumatoidispondyliitti(nikamatulehdus), osteoartriitti, muut artriittiset tilat, Crohnin sairaus, haavaiseen paksusuolentulehduksen, multippeli skleroosi, systeeminen punoittava

lupus, ENL leprassa, säteilyvaurioita, astma ja hypermyrkyllinen alveoolisairaus. Yrityksiä joita on suunnattu TNF α :n vaikutusten nujertamiseen ulottuvat steroidien kuten esim. deksametasonin ja prednisolonin käytöstä ainaä polyklonaalisten että monoklonalisten vasta-aineiden käyttöön. (Beutler et al., Science 234, 470-474 (1985); WO 92/11383).

Nukleaaritekijä **KB** (NF**KB**) on pleiotrooppinen transkriptio aktivaattori (Leonardo, et al., Cell 1989, 58, 227-29). NF**KB** on vedetty mukaan transkriptioaktivaattorina suureen määrään erilaisia sairauksia ja tulehduksellisia tiloja ja sen ajatellaan säättävän sytokiinitasoja mukaan lukien mutta ei rajoittuen TNF α :an ja myös olevan aktivaattorina HIV transkriptiossa (Dbaibo. et al., J. Biol. Chem. 1993, 17762-66; Duh et al., Proc. Natl. Acad. Sci 1989, 86, 5974-78; Bachelerie et al., Nature 1991, 350, 709-12; Boswas, J. et al., Acquired Immune Deficiency Syndrome 1993, 6, 778-786; Suzuki et al., Biochem. And Biophys. Res. Comm. 1993, 193, 277-83; Suzuki et al., Biopchem And Biophys. Res. Comm. 1992, 189, 1709-15; Suzuki et al., Biochem. Mol. Bio. Int. 1993, 31(4), 693-700; Shakhov et al., 1990, 171, 35-47; ja Staal et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1990, 87, 9943-47). Siten NF**KB** sitoutumisen estäminen tai aktivoiminen voi säätää sytokiinigeenin(nien) transkriptiota ja tämän modulaation ja muiden mekanismien kautta olla käyttökelpoinen suuren joukon sairaustiloja estämisessä. Tässä patentissa esitetyt yhdisteet voivat estää NF**KB**:n vaikutus tumassa ja ovat siten käyttökelpoisia hoidettaessa suuria määriä sairauksia mukaan lukien, mutta ei rajoittuen, astma, reumatoidiartriitti, reumatoidispondyliitti, osteoartriitti, muut artriittiset tilat, sepsen sokki, sepsis, endotksinen sokki, käännteishyljintä, laihtuminen, Chronin sairaus, ulkeratiivinen koliitti, multippeli skleroosi, systeminen punoittava

lupus, ENL leprassa, HIV, AIDS ja oppurtuniset infektiot AIDS:issa.

TNF α ja NF κ B tasoihin vaikuttaa molemminpuolinen takaisinkytkentä silmukka. Kuten edellä on esitetty keksinnön mukaiset yhdisteet vaikuttavat sekä TNF α :n että NF κ B:n tasoihin. Tällä hetkellä ei kuitenkaan tiedetä kuinka keksinnön mukaiset yhdisteet säätelevät TNF α :n ja NF κ B:n tasoja tai kumpiakkin.

Moni sellulaarinen toiminto voi olla adeniini 3',5'-syklisen monofosfaatin (cAMP) välittämä. Tällainen sellulaarinen toiminto voi myötävaikuttaa tulehduksellisiin tiloihin ja sairauksiin, mukaan lukien astmaan, tulehdukseen ja muihin tiloihin (Love and Cheng, *Drugs of the Future* 17(9), 799 - 809). On esitetty että cAMP:n nostaminen tulehduksellisissa leukosyyteissä estää niiden aktivoinnin ja myöhemmän tulehdullisten välittäjien vapautumisen. Lisääntyneet cAMP tasot johtavat myös hengitystiehyeiden sileän lihaston relaksaatioon.

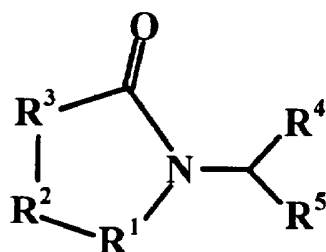
Ensisijainen sellulaarinen mekanismi cAMP:n aktivointia varten on cAMP:n hajoittaminen isoentsyymiperheellä, jonka katsotaan kuuluvan sykliisiin nukleotidifosfodiesteriaseihin (PDE) (Beavo and Reitsnyder, *Trends in Pharm.* 11, 150-155, 1990). Tunnetaan seitsemän PDE perheen jäsentä. Tiedetään esimerkiksi, että PDE tyyppi IV:n estäminen on erityisen tehokas sekä tulehdullisen välittäjän vapautumisen että hengitysteiden sileänlihaksiston relaksaation estämisessä (Verghese. et al., *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 272(3), 1313-1320, 1995). Siten erityisesti yhdisteiden, jotka estävät PDE IV:ä, tulee osoittaa toivottua tukehduksen ja hengitysteiden sileän lihaksiston relaksaation estoa minimi sivuvaikutuksilla, kuten esim. sydän-verisuoni tai antiverihiutale vaikutuksilla. Tällä hetkellä käytetyt PDE IV estäjät ovat vailla selektiivista vaikutusta hyväksyttävillä terapeuttisilla annoksilla.

Esillä olevan keksinnön mukaiset yhdisteet ovat käyttökelpoisia fosfodiesterasaasien, erityisesti PDE III ja PDE IV, estämisessä ja niiden välittämässä sairauksien hoidossa.

Esillä oleva keksintö perustuu siihen, että seuraavassa tarkemmin esitettävä ei-polypeptidi-imidi-luokka vaikuttaa estävän TNF α :n vaikutuksen.

Esillä oleva keksintö koskee yhdisteitä, joilla on yleinen kaava:

Yhdiste, jolla on kaava:



ja jolla on PDE:tä ja TNF α :a estävä vaikutus, jossa kaavassa:

R¹ on -CH₂-, -CH₂CO- tai -CO-;

R² ja R³ yhdessä ovat (i) etyleeni, joka on substituuton tai substituoitu alkyylillä, joissa on 1 - 10 hiiliatomia, tai fenyyllillä, (ii) vinyleeni, joka on substituoitu kahdella substituentilla, jotka kumpikin toisistaan riippumatta on valittu ryhmästä, jossa on alkyyli, jossa on 1 - 10 hiiliatomia, ja fenyyli, (iii) divalentti sykloalkyyli, jossa on 5 - 10 hiiliatomia, substituuton tai substituoitu yhdellä tai useimmilla substituentteilla, joista jokainen toisistaan riippumatta on valittu ryhmästä, jossa on nitro, syano, trifluorimetyyli, karbetoksi, karbometoksi, karbopropoksi, asetyyli, karbamoyyli substituuton tai substituoitu alkyylillä, jossa on 1 - 3 hiiliatomia, asetoksi, karboksi, hydroksi, amino, substituoitu amino, alkyyli, jossa on 1 - 10 hiiliatomia, alkoksi, jossa on 1 - 10 hiiliatomia, norbornyyli, fenyyli tai halo; tai (iv) sykloheksenyyli;

R^4 on fenyyli, joka on substituoitu yhdellä tai useimmilla substituenteilla, joista jokainen on toisistaan riippumatta valittu ryhmästä, jossa on alkoksi, jossa on 1 - 10 hiiliatomia, sykloalkoksi tai bisykloalkoksi, jossa on 3 - 10 hiiliatomia; ja

R^5 on $-COX$, $-CN$, $-CH_2COX$, alkyyli, jossa on 1 - 5 hiiliatomia, fenyyli, $-CH_2OR$, $-CH_2$ fenyyli tai $-CH_2OH$;

jossa X on NH_2 , OH, NHR, R tai OR^6 ,

jossa R on alkyyliryhmä, jossa on 1 - 6 hiiliatomia; ja

jossa R^6 on alkyyliryhmä, jossa on 1 - 18 hiiliatomia tai bentsyyli;

ja sillä ehdolla, että

(a) kun R^1 on $-CO-$ ja R^5 on alkyyli, niin R^2 ja R^3 yhdessä eivät ole vinyleeni; ja

(b) kun R^1 on $-CO-$ tai $-CH_2-$ ja R^5 on $-CH_2OR$ tai $-CH_2OH$, niin R^4 ei ole fenyyli, joka on substituoitu yhdellä tai useammalla alkoksiryhmällä, jossa on 1 - 10 hiiliatomia.

Termi alkyyli niin kuin sitä käytetään tässä julkaisussa tarkoittaa yksiarvoista tyydytettyä haaraunutta tai suoraa hiilivetyketjua. Jos ei toisinaan tällaiset ketjut sisältävät 1 - 18 hiiliatomia. Tällaisten alkyyliryhmien edustajia ovat metyyli, etyyli, propyyli, isopropyyli, butyyli, isobutyyli, sek-butyyli, tert-butyyli, pentyyli, isopentyyli, neopentyyli, tert-pentyyli, heksyyli, isoheksyyli, heptyyli, oktyyli, nonyyli, dekyyli, undekyyli, dodekyyli, tridekyyli, tetradekyyli, pentadekyyli, heksadekyyli, heptadekyyli, oktadekyyli ja sen tapaiset. Rajoitettuna sanalla "alempi" alkyyliryhmään kuuluu 1 - 6 hiiliatomia. Sama hiilipitoisuus koskee alkuperäistä termiä "alkaani" ja johdannaisten termejä kuten esim. "alkoksia".

Termi sykloalkyyli (tai syklinen alkyyli) niin kuin sitä käytetään tässä tarkoittaa yksiarvoista

tyydytettyä syklistä tai bisyklistä hiilivetyketjua. Jos ei toisin mainita, tällaiset ketjut voivat sisältää 1 - 18 hiiliatomia. Tällaisten sykloalkyyli-ryhmien edustajia ovat syklopropyyli, syklobutyyli, syklopen-tyyli, sykloheksyyli, sykloheptyyli, syklo-oktyyli, syklononyyli, syklodekyyli, sykloundekyyli, syklo-dodekyyli, syklotridekyyli, syklotetradekyyli, syklopenta-dekyyli, sykloheksadekyyli, sykloheptadekyyli, syklo-oktadekyyli, sykliiset terpeenit ja sen tapaiset. Ra-joitettuna sanalla "alempi", sykloalkyyli-ryhmään kuu-luu 3 - 6 hiiliatomia. Sama hiilipitoisuus koskee al-kuperäitä termiä "sykloolkaania" ja johdannaisten ter-mejä kuten esim. "sykloalkoksia".

Termi substituoitu amino niin kuin sitä tässä käytetään tarkoittaa yksiarvoista amiinia, jossa on yksi tai kaksi substituenttia, joista kumpikin toisis-taan riippumatta on valittu ryhmästä, jossa on nitro, syano, trifluorimetyyli, karbetoksi, karbometoksi, karbopropoksi, asetyyli, karbamoyyli, asetoksi, kar-boksi, hydroksi, amino, alkyyli, jossa on 1 - 10 hii-liatomia, alkoksi, jossa on 1 - 10 hiiliatomia, tai fenyli.

Tämän keksinnön tyypillisiin yhdisteisiin kuuluvat:

metyyli-3-sukkiini-imidyyli-(3,4-dimetoksife-nyyli)propionaatti,

metyyli-3-sukkiini-imidyyli-(3-etoksi-4-me-toksifenyyli)propionaatti,

metyyli-3-sukkiini-imidyyli-(3-syklopentoksi-4-metoksifenyyli)propionaatti,

etyyli-3-sukkiini-imidyyli-(3,4-dietoksife-nyyli)propionaatti,

metyyli-3-sukkiini-imidyyli-(4-metoksifenyy-li)propionaatti,

metyyli-3-(cis-1,2,5,6-tetrahydroftalimido)-3-(3,4-dimetoksifenyyli)propionaatti,

3-(cis-1,2,5,6-tetraftalimido)-3-(3,4-dime-
 toksifenyyli)propionamidi,
 metyyli-3-(cis-1,2,5,6-tetrahydroftalimido)-3-(3,4-
 etoksifenyyli)propionaatti,
 etyyli-3-(cis-heksahydroftalimido)-3-(3,4-
 etoksifenyyli)propionaatti,
 propyyli-3-(cis-heksahydroftalimido)-3-(3-
 syanofenyyli)propionaatti,
 etyyli-3-(4'-amino-cis-heksahydroftalimido)-3-(3,4-
 dimetoksifenyyli)propionaatti,
 3-(4'-amino-cis-heksahydroftalimido)-3-(3,4-
 dimetoksifenyyli)propionitriili,
 etyyli-3-maleiini-imido-3-(3,4-dietoksifenyyli)-
 propionaatti,
 3-maleiini-imido-3-(3,4-dietoksifenyyli)propioniamidi,
 metyyli-3-(4-amino-3,4,5,6-tetrahydroftalimido)-3-
 (3,4-dimetoksifenyyli)propionaatti,
 metyyli-3-(3-amino-3,4,5,6-tetrahydroftalimido)-3-
 (3,4-dietoksifenyyli)propionaatti,
 metyyli-3-(3,4,5,6-tetrahydroftalimido)-3-(4-
 metoksifenyyli)propionaatti,
 metyyli-3-(3-amino-3,4,5,6-tetrahydroftalimido)-3-
 (3,4-dihydroksifenyyli)propionaatti, ja
 3-(3-amino-3,4,5,6-tetrahydroftalimido)-3-(3-
 hydroksifenyyli)propionitriili.

Ensimmäinen edullinen alaluokka koskee yhdis-
 teitä, joissa R^4 on substituoitu fenyyli ja R^5 on
 $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$, CN tai CH_2CONH_2 .

Yhdisteitä voidaan käyttää, pätevien asian-
 tuntijoiden valvonnassa $\text{TNF}\alpha$:n ei toivottujen vaiku-
 tusten ehkäisemiseksi. Yhdisteet voidaan antaa oraali-
 sesti rektaalisesti tai parenteraalisesti, yksin tai
 yhdessä muiden terapeuttisesti vaikuttavien aineiden,
 mukaan lukien antibiootten steroidien, jne., kanssa
 hoidon tarpeessa oleville nisäkkäille. Oraaliseen muo-
 toon kuuluu: tabletit, kapselit, rakeet ja sen tapai-
 sesti muodostetut, yhteen puristetut farmaseuttiset

muodot. Isotonisia suolaliuoksia, jotka sisältävät 20 - 100 mg/ml, voidaan käyttää parenteraalista antoa, johon kuuluu lihaksensisäisesti, aivo-selkäydin nesteen alueelle, laskimonsisäisesti ja valtimonsisäisesti antoa, varten. Rektaalista antoa voidaan tehostaa käyttämällä suppositoreja, joita valmistetaan tavanomaisista kantajista, kuten esim. kaakaovoista.

Lääkkeen annostuksen hoito-ohjeet täytyy määrittää potilaan tietyn oireen, iän, painon ja yleisen terveydentilan ja toivotun vastavaikutuksen mukaan, mutta yleensä annosten tulee olla n. 1 - n. 500 mg/päivä tarpeen mukaan yhtenä ainoana tai monena päivittäisenä annoksena. Yleensä alkuhoito-ohje voidaan kopioida sellaisesta, jonka tiedetään olevan tehokas TNF α :n vaikutusta vastaan muissa TNF α :n välittämissä sairaustiloissa esillä olevan keksinnön yhdisteillä. Hoidettavilta yksilöiltä tutkitaan säännöllisesti T solumäärät ja T4/T8 suhteet ja/tai mitataan viruksen esiintyminen veressä kuten käänteistranskriptaasin tasoja tai virusproteiineja, ja/tai sytokiinivälitettyihin sairauksiin yhdistettyjen ongelmien, kuten kakeksian tai lihasten degeneraation, eteneminen. Jos ei havaita mitään vaikutusta seuraamalla normaalia hoito-ohjetta, lisätään annetun sytokiinivaikutusta estävän lääkkeen määrää, esim. viisikymmentä prosenttia viikossa.

Esillä olevan keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan myös käyttää paikallisesti hoidettaessa tai ennaltaehkäistäessä paikallisia sairaustiloja, joita välittää tai pahentaa TNF α :n liiallinen tuotanto, kuten esim. virusinfektioita, esim. sellaisia joita aiheuttavat herpes virus tai viruksen aiheuttama sidekalvontulehdus, jne..

Yhdisteitä voidaan myös käyttää TNF α tuotannon ennalta ehkäisevää tai estävää hoitoa tarvitsevien nisäkkäiden, muiden kuin ihmisten, eläinlääkintähoitoon. Terapeuttisesti tai ennalta ehkäisevästi hoidet-

taviin TNF α välittämiin sairauksiin eläimissä kuuluu sairaustilat, kuten esim. sellaiset tilat, joita on esitetty edellä, mutta erityisesti viruksen aiheuttamat infektiot. Esimerkkeihin kuuluvat kissan immuunivajaavastustilavirus, hevosen tarttuva anemiavirus caprine (vuohen tapainen) nivel tulehdusvirus, visnavirus ja maedivirus samoin kuin muut lentivirukset.

Eräät näistä yhdisteistä omaavat kiraalisia keskuksia ja voivat esiintyä optisina isomeereinä. Näiden isomeerien kummatkin rasemaatit sekä yksittäiset isomeerit itsessään samoin kuin diastereoisomeerit kun on olemassa kaksi kiraalista keskusta kuuluvat esillä olevan keksinnön piiriin. Rasemaatit voidaan käyttää sellaisenaan tai ne voidaan erottaa yksittäisiin isomeereihin mekaanisesti, kuten esim. kromatografisesti käyttämällä kiraalista absorbenttia. Vaihtoehtoisesti yksittäiset isomeerit voidaan valmistaa kiraalisessa muodossa tai erottaa kemiallisesti seoksesta muodostamalla suoloja kiraalisen hapon, kuten 10-kamferisulfonihapon, kamferihapon, alfabromikamferihapon, metoksietikkahapon, viinihapon, diasetyyli-viinihapon, omenahapon, pyrrolidoni-5-karboksylihapon ja sen tapaisten yksittäisten enantiomeerien kanssa, ja sitten vapauttamalla toinen tai kummatkin hajotetut emäkset, valinnaisesti toistamalla menetelmä, niin että saadaan joko toinen tai kummatkin olennaisesti vapaana toisesta; se on muodossa, jonka optinen puhtaus > 95 %.

TNF α :n tuotannon ennalta ehkäisy tai estäminen voidaan tavanomaiseen tapaan suorittaa käyttämällä alalla tunnettuja menetelmiä. Esimerkiksi TNF α esto kokeita LPS stimuloituissa PBMC on tehty seuraavasti:

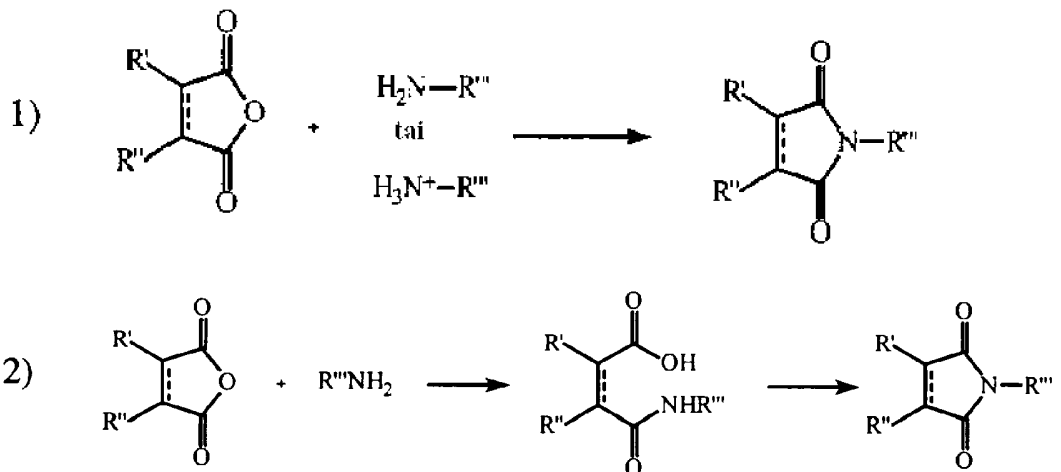
PBMC eristäminen: PBMC:tä tavallisista luovuttajista saadaan Ficoll-Hypaque tiheys linkouksella. Solut kasvatetaan RPMI:ssä, johon on lisätty 10 % AB + serumia, 2mM L-glutaminia, 100 U/ml penisilliiniä ja 100 μ g/ml streptomysiiniä.

PBMC suspensioita: Lääkkeet liuotetaan DMSO:in (Sigma Chemical), lisälaimennuksia tehdään lisäämällä RPMI:tä. Lopulliset DMSO-pitoisuudet lääkkeen läsnäollessa tai poissaollessa PBMC-suspensioissa on 0,25 p-%:a. Lääkkeiden pitoisuus määritetään puoli-log laimennuksina alkaen 50 $\mu\text{g/ml}$. Lääkkeet lisätään PBMC (10^6 solua/ml) 96 kuoppaisille levyille tuntia ennen LPS:n lisäystä.

Solustimulaatio: PBMC (10^6 solua/ml) lääkkeen läsnäollessa tai poissaollessa stimuloidaan 1 $\mu\text{g/ml}$ LPS:a *Salmonella minnesota:sta* R595 (List Biological Labs, Campbell, CA) käsittelyllä. Solut inkuboidaan tämän jälkeen lämpötilassa 37°C 18 - 20 h ajan. Supernatantit kerätään talteen ja $\text{TNF}\alpha$ tasot määritetään heti tai pidetään jäädytettynä lämpötilassa -70°C (ei pidempään kuin 4 päivää) kunnes ne määritetään.

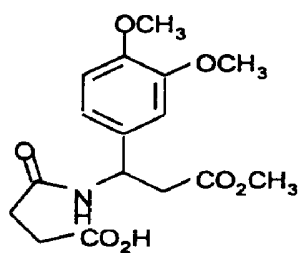
Sytokiinimääritys: $\text{TNF}\alpha$:n pitoisuus supernatantissa määritetään ihmisen $\text{TNF}\alpha$ ELISA kiteissä (ENDOGEN, Boston, MA) valmistajan ohjeiden mukaan.

Yhdisteet voidaan valmistaa käyttämällä yleisesti imidiien valmistuksessa tunnettuja valmistusmenetelmiä. Yleisiä reaktiokaavoja esitetään kaavoilla:



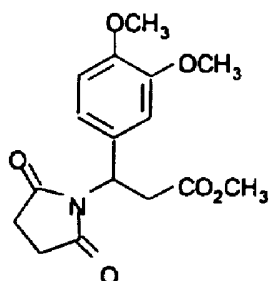
Seuraavat esimerkit palvelevat lisäksi ole-
malla tyypillisiä tämän keksinnön luonteelle, mutta
niitä ei tule pitää keksintöä rajoittavina vaan kek-
sinnön sovellutukset voivat vaihdella oheisten patent-
tivaatimusten puitteissa.

Esimerkki 1



**N-[1-(3,4-dimetoksisfenyyli)-2-karbometoksi-
metaani]-3-karboksipropioniamidi.**

Suspensioon, jossa on sukkiinianhydridia (0,50 g, 5,0 mmoolia) ja metyyli-3-amino-3-(3,4-dimetoksisfenyyli)propionaattihydroklorida (1,38 g, 5,0 mmoolia) metyleenikloridia (20ml) lisätään trietyyliamiinia (0,75 ml, 5,4 mmoolia), 3 - 4 min jälkeen seoksesta tulee homogeeninen. Liuosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa 1,5 h. Reaktion edistymistä tarkastellaan TLC:lla (5 % metanoli/metyleenikloridi, UV, I₂), tuotteella ja lähtöaineella on samat R_F-arvot, mutta lähtöaine värjäytyy tumman keltaiseksi jodilla. Liuos pestään peräkkäin vesipitoisella 5N suolahapolla (15 ml) ja vedellä (10 ml). Tuloksena saadaan orgaaninen kerros, joka kuivauksen magnesiumsulfaatilla ja väkevöimisen vakumissa jälkeen antaa 1,2 g (70 %) tuotetta valkoisena vaahtona; ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,04 - 6,89 (m, 1H); 6,88 - 6,72 (m, 3H); 5,93 - 5,25 (m, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,84 (s, 3H), 3,63 (s, 3H), 3,01 - 2,71 (m, 2H), 2,76 - 2,39 (m, 4H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 176,2, 171,8, 171,4, 149,0, 148,5, 132,8, 118,2, 111,2, 109,9, 55,9, 55,8, 51,9, 48,6, 39,8, 30,7, 29,5.

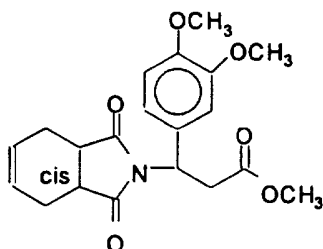


Metyyli-3-sukkiini-imidyyl- (3,4-dimetoksi-fenyli)propionaatti.

Seosta, jossa on N-[1-3,4-dimetoksifenyli]-2-karbometoksimetaani]-3-karboksipropioniamidia (0,61 g, 1,8 mmoolia) ja natriumasettaattia (0,7 g, 0,9 mmoolia) etikkahappoanhydridissa (8 ml) keitetään palautuksella 30 min. Reaktiosta tarkastellaan TLC:lla (10 % metanoli/metyleenikloridi, UV) ja reaktio on valmis 30 min jälkeen. Reaktioseosta jäädytetään huoneen lämpötilaan, kaadetaan jääveten (50 ml) ja sekoitetaan 15 min. Seosta uutetaan eetteriin (25 ml) ja pestään peräkkäisesti tyydytetyllä vesipitoisella natriumbikarbonaattiliuoksella (25 ml), suolavedellä (10 ml), natriumbikarbonaatilla (25 ml) ja suolavedellä (10 ml). Eetterikerros kuivataan magnesiumsulfaattilla ja väkevöidään vakuumissa, jotta saadaan 0,36 g raakatuotetta ruskeana öljynä. Raakatuote puhdistetaan falshkromatografiolla (silikageeli, 10 % etyyliasetaatti/metyleenikloridi), jotta saadaan 0,23 g (40 %) tuotetta öljynä, joka kiinteytyy valkoiseksi kiinteäksi aineeksi jäädytyksen jälkeen; ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,18 - 7,01 (m, 2H), 6,90 - 6,74 (m, 1H), 5,68 - 5,54 (m, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,86 (s, 3H), 3,83-3,62 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,22 - 3,04 (m, 1H), 2,65 (s, 4H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 177,1, 171,1, 148,9, 148,8, 130,5, 120,5, 111,3, 110,9, 55,9, 55,8, 51,9, 51,4, 34,8, 27,9; Anal laskettu $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{NO}_6$ teoreettisesti C,

59,81; H, 5,96; N, 4,36. Saatu C, 60,00; H, 5,98; N, 4,26.

Esimerkki 2

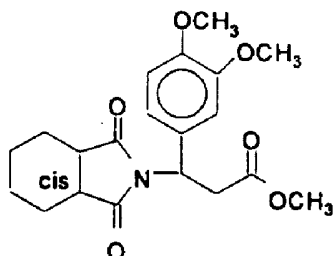


Metyyli-3-(cis-1,2,5,6-tetrahydroftalimido)-3-(3,4-dimetoksifenylyli)propionaatti.

Seos, jota sekoitetaan ja jossa on cis-1,2,5,6-tetrahydroftaalianhydridia (0,76 g, 5,0 mmoolia), metyyli-3-amino-3-(3,4-dimetoksifenylyli)propionaattihydrokloridia (1,38 g, 5,0 mmoolia) ja natriumasettaattia (0,41 g, 5,0 mmoolia) 20 ml:ssa etikkahappoa N_2 alla lämmitetään palautuskiehumispisteessä 20 h. Jäähdytetty seos väkevöidään vakuumissa ja jäännös laimennetaan 25 ml:lla metyleenikloridia ja tämän jälkeen lisätään 25 ml:a tyydytettyä natriumbikarbonaattiliuosta osissa ja tuloksena saatua seosta sekoitetaan 30 min. Orgaaninen faasi erotetaan, kuivataan (natriumsulfaatti) ja väkevöidään vakuumissa, jotta saadaan raakatuote öljynä. Raakatuote puhdistetaan flashkromatografialla (silikageeli, 1/9 etyyliasetaatti/heksaaneja), jotta saadaan 0,85 g (46 %) metyyli-3-(cis-1,2,5,6-tetrahydroftalimido)-3-(3,4-dimetoksifenylyli)propionaattia kiinteänä aineena: sulamispiste 100 - 101,5°C; 1H NMR ($CDCl_3/TMS$) δ 7,00 (m, 2H), 5,83 (m, 2H), 5,77 (dd, $J = 10,0, 5,9$ Hz, 1H, CH), 3,85 (s, 6H, 2 OCH_3), 3,62 (dd, $J = 10,0, 16,4$ Hz, 1H), 3,64 (s, 3H, OCH_3), 3,10 (dd, $J = 16,4, 5,9$ Hz, 1H), 3,00 (m, 2H), 2,62 - 2,45 (m, 2H), 2,30 - 2,22 (m, 2H); ^{13}C NMR ($CDCl_3/TMS$) δ 180,0, 179,7, 170,3, 148,8, 130,6, 127,6, 127,5, 120,1, 111,0, 110,8, 55,8, 55,8, 51,8, 51,4, 38,8, 35,3, 23,5, 23,4; TLC(1/9 EtOAc/heksaaneja, UV)

$R_f = 0,34$. Anal. laskettu $C_{20}H_{23}NO_6$, teoreettisesti C, 64,33; H, 6,21; N, 3,75. Saatu C, 64,29; H, 6,19; N, 3,68.

Esimerkki 3

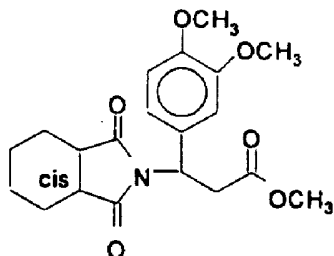


Metyyli-3-(cis-heksahydroftalimido)-3-(3,4-dimetoksifenyyli)propionaatti.

Seos, jota sekoitetaan ja jossa on 1,2,5,6-heksahydroftalianhydridia (0,77 g, 5,0 mmoolia), metyyli-3-amino-3-(3,4-dimetoksifenyyli)propionaattihydrokloridia (1,38 g, 5,0 mmoolia) ja natriumasettaattia (0,40 g, 4,9 mmoolia) 20 ml:ssa etikkahappoa N_2 alla lämmitetään palautuslämpötilassa 20 h. Jäähdytetty seos väkevöidään vakuumissa ja jäännöstä laimennetaan 25 ml:lla metyleenikloridia ja tämän jälkeen lisätään 25 ml:a tyydytettyä bikarbonaattia osissa ja tuloksena saatua seosta sekoitetaan 30 min. Orgaaninen faasi erotetaan, kuivataan (natriumsulfaatti) ja kromatoidaan flashkromatografialla (silikageeli, 1/9 EtOAc/heksaaneja), jolloin saadaan 0,72 g (38 %) metyyli-3-(cis-heksahydroftalimido)-3-(3,4-dimetoksifenyyli)propionaatti kiinteänä kellertävänä aineena (vaha): sulamispiste $92,5 - 95^\circ C$; 1H NMR ($CDCl_3/TMS$) δ 7,02 (m, 2H, Ar), 6,65 (m, 1H, Ar), 5,56 (dd, $J = 5,5, 10,5$ Hz, 1H CHN), 3,86 (2s, 6H 2 OCH_3), 3,74 (dd, $J = 16,5, 10,5$ Hz, 1H), 3,66 (s, 3H, OCH_3), 3,08 (dd, $J = 5,5, 16,5$ Hz, 1H, CHCO), 2,77 (m, 2H, sillanpää Hs), 1,87 - 1,55 (m, 4H), 1,5 - 1,2 (m, 4H); ^{13}C NMR ($CDCl_3/TMS$) δ 179,5, 179,4, 171,1, 148,9, 148,8 130,9, 120,1, 111,0, 110,9, 55,9, 55,8, 51,8, 51,0, 39,6, 35,2, 23,6, 23,5, 21,6; TLC (1/9 EtOAc/heksaaneja, UV) $R_f = 0,36$. Anal.

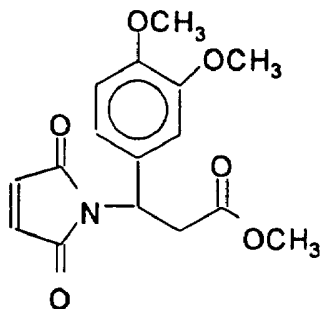
laskettu $C_{20}H_{25}NO_6$, teoreettisesti C, 63,99; H, 6,71; N, 3,73. Saatu C, 63,89; H, 6,81; N, 3,61.

Esimerkki 4



Metyyli-N-(maleiinihappo)-3-amino-3-(3',4'-dimetoksifenyyli)propionaatti.

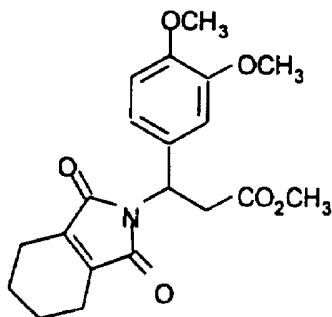
Suspensioon, jota sekoitetaan ja jossa on metyyli)-3-amino-3-(3',4'-dimetoksifenyyli)propionaatti-hydrokloridia (1,38 g, 5,00 mmoolia) ja meleinihapon anhydridia (0,49 g, 5,0 mmoolia) metyleenikloridissa (20 ml) lisätään 0,75 ml trietyyliaminiä (5,4 mmoolia). 1 h jälkeen reaktioseosta pestään 0,5 N suolahapolla (15 ml) ja vedellä (10 ml). Orgaaninen kerros kuivataan (natriumsulfaatti) ja väkevöidään antamaan 1,59 g (94 %) tuotetta valkoisena vaahtona; 1H NMR (dms o -d $_6$, 250 MHz) δ 14,27 (br, s, 1H), 9,35 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,05 - 6,80 (m, 3H), 6,38 (d, J = 12,4 Hz, 1H) 6,26 (d, J = 12,3 Hz, 1H), 5,23 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,73 (s, 3H), 3,57 (s, 3H), 2,85 (m, 2H); ^{13}C (dms o -d $_6$, 250 MHz) 170,4, 165,9, 164,2, 148,7, 148,2, 133,2, 132,4, 131,3, 118,6, 111,6, 110,6, 55,5, 51,5, 49,7.



Metyyli-3-maleiini-imido-3-(3,4-dimetoksisifenyli)propionaatti.

Seosta, jossa on metyyli-N-(maleiinihappo)-3-amino-3-(3',4'-dimetoksifenyyli)propionaattia (1,0 g, 1,5 mmoolia) ja natriumasettaattia (1,48 mmoolia) 7,5 ml:ssa etikkahappoanhydridia sekoitetaan huoneen lämpötilassa 2 h, jonka jälkeen sitä lämmitetään palautuslämpötilassa 20 min. Jäähdytetty (10°C) reaktioseos kaadetaan 50 ml jäävettä ja sekoitetaan 15 min ja uutetaan tämän jälkeen 50 ml:lla dietyylieetteriä. Eetterikerros pestään peräkkäisesti natriumbikarbonaatilla (20 ml) ja suolaliuoksella (20 ml). Eetterikerros kuivataan natriumsulfaatilla ja väkevöidään vakuumisessa, jotta saadaan vaalean ruskea öljy, joka puhdistetaan flashkromatografiolla (1/1 etyyliasettaattia/heksaaneja, silikageeli), jotta saadaan 0,47 g (50 %) tuotetta vahan muodossa: sulamispiste 75 - 76°C; ¹H NMR (dms_o-d₆, 250 MHz) δ 7,02 (m, 2H, Ar), 6,80 (m, 1H, Ar), 6,64 (s, 2H, vinyyli), 3,87 (s, 3H), 3,85 (s, 3H), 3,7 - 3,58 (m, 4H, CH, CO₂CH₃), 3,12 (dd, J = 5,8, 16,5 Hz, 1H); ¹³C (dms_o-d₆, 250 MHz): 170,9, 170,5, 149,0, 148,9, 134,0, 131,0, 120,1, 111,0, 110,9, 55,9, 55,8, 51,9, 50,7, 35,9. Anal. laskettu C₁₆H₁₇N₁O₆, teoreettisesti C, 60,18; H, 5,37; N, 4,39. Saatu C, 60,18; H, 5,40; N, 4,32.

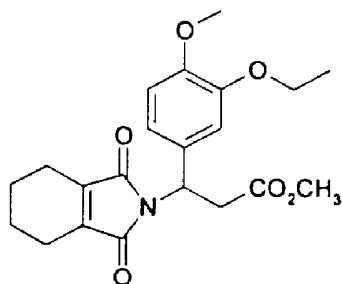
Esimerkki 5



Metyyli-3-(3,4,5,6-tetrahydroftalimido)-3-(3,4-dimetoksifenyyli)propionaatti.

Suspensioon, jota sekoitetaan ja jossa on 3,4,5,6-tetrahydroftaalihappoanhydridia (0,38 g, 2,5 mmoolia) ja metyyli-3-amino-3-(3,4-dimetoksifenyyli)propionaattihydrokloridia (0,69 g, 2,5 mmoolia) etikkahapossa (10 ml) lisätään natriumasettaattia (0,21 g, 2,5 mmoolia). Suspensiota keitetään palautumislämpötilassa typen alla yön yli. Etikkahappo poistetaan vakuuissa, jotta saadaan oranssin värinen öljy, joka otetaan veteen (5 ml) ja pH säädetään arvoon 7 käyttämällä tyydytettyä natriumbikarbonaattiliuosta. Tuloksena saatavaa seosta uutetaan metyleenikloridilla (3 x 20 ml). Yhdistetyt orgaaniset kerrokset kuivataan magnesiumsulfaattilla, suodatetaan ja väkevöidään vakuuissa antamaan 0,62 g raakatuotetta keltaisena öljynä. Raakatuote puhdistetaan flashkromatografiolla (silikaageeli, 35 % etyyliasettaatti/heksaani) ja tuloksena saatu kiinteä aine kuivataan vakuuissa (60°C, < 1 mm) antamaan 0,22 g (23%) tuotetta vaalean keltaisena kiinteänä aineena: ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,09 - 6,99 (m, 2H), 6,84 - 6,75 (m, 1H), 5,60 - 5,48 (m, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,85 (s, 3H), 3,71 - 3,55 (m, 1H), 3,65 (s, 3H), 3,23 - 3,06 (m, 1H), 2,38 - 2,21 (m, 4H), 1,85 - 1,64 (m, 4H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 171,1, 170,8, 148,9, 148,7, 120,1 111,2, 110,9, 55,9, 55,8, 50,4, 36,1, 21,2, 19,9. Anal. laskettu: $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_6$, teoreettisesti: C, 64,33, H, 6,21, N, 3,75. Saatu C, 64,25, H, 6,10, N, 3,70.

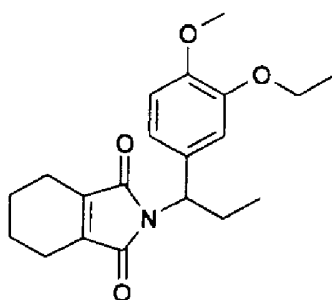
Esimerkki 6



Metyyli-3-(3,4,5,6-tetrahydroftalimido)-3-(3'-etoksi-4'-metoksifenyl)propionaatti.

3,4,5,6-tetrahydroftaalihappoanhydridia (0,61 g, 4,0 mmoolia) ja metyyli-3-amino-3-(3-etoksi-4-metoksifenyyli)propionaattia (1 g, 4 mmoolia) sekoitetaan ja sulatetaan yhteen 5 min ajan. Sulan liuoksen annetaan jäähtyä. Tuloksena saatu raakatuote puhdistetaan flashkromatografiolla (silikageeli, 3 % etyyliasetaatti/metyleenikloridi), jotta saadaan 0,78 g vähän epäpuhdasta kiinteää ainetta. Kiinteä aine kiteytetään uudelleen (heksaani/etyyliasetaatti), jotta saadaan 0,6 g (39 %) tuotetta; sulamispiste 104,5 - 106,0°C; ^1H NMR (CDCl_3) 7,09 - 6,97 (m, 2H), 6,85 - 6,76 (m, 1H), 5,52 (dd, $J = 6,9$ Hz, 1H), 4,10 (q, $J = 7$ Hz, 2H), 3,84 (s, 3H), 3,65 (s, 3H), 3,61 (dd, $J = 9,8, 16$ Hz, 1H), 3,14 (dd, $J = 6,16$ Hz, 1H), 2,38 - 2,20 (m, 4H), 1,83 - 1,64 (m, 4H), 1,45 (t, $J = 7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3) 171,1, 170,8, 148,9, 148,1, 141,4, 131,5, 120,0, 112,5, 111,2, 64,3, 55,8, 51,8, 50,3, 36,1, 21,2, 19,9, 14,7; Anal. laskettu $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_6$, teoreettisesti: C, 65,10; H, 6,50; N, 3,62. Saatu C, 65,28; H, 6,46; N, 3,50.

Esimerkki 7



1-(3,4,5,6-tetrahydroftaalimido)-1-(3'-etoksi-4'-metoksifenyyli)propani

3,4,5,6-tetrahydroftaalihappoanhydridia (0,8 g, 5,0 mmoolia) ja 1-(3'-etoksi-4'-metoksifenyyli)propyyliamiinia (1 g, 5 mmoolia) sekoitetaan ja sula-

tetaan yhteen 5 min ajan. Sulan seoksen annetaan jäähtyä. Tuloksena saatu raaka tuote puhdistetaan flash-kromatografiolla (silikageeli, 2% etyyliasetatti/metyleenikloridi), jotta saadaan 0,6 g (35 %) tuotetta öljynä, joka hitaasti kiinteytyy; sulamispiste 51,5 - 56,5°C; ^1H NMR (CDCl_3) 7,16 - 6,94 (m, 2H), 6,87 - 6,71 (m, 1H), 4,90 (dd, $J = 7, 9,2$ Hz, 1H), 4,10 (q, $J = 7$ Hz, 2H), 3,84 (s, 3H), 2,54 - 2,09 (m, 6H), 1,89 - 1,64 (m, 4H), 1,45 (t, $J = 7$ Hz, 3H), 0,90 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3) 171,1, 148,6, 147,9, 141,1, 132,7, 120,4, 112,7, 110,9, 64,2, 56,1, 55,7, 24,6, 21,2, 19,8, 14,7, 11,5; Anal. laskettu $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_4$, teoreettisesti C, 69,95; H, 7,34; N, 4,08; Saatu C, 70,03; H, 7,11; N, 4,07.

Esimerkki 8

Tabletteja, joissa jokaisessa on 50 mg vaikuttavaa ainetta, voidaan valmistaa seuraavalla tavalla:

Aineosat (1000 tablettia varten)

vaikuttavaa ainetta	50,0 g
laktoosia	50,7 g
vehnätärkkelystä	7,5 g
polyetyleeniglykoli 6000	5,0 g
talkkia	5,0 g
magnesium stearaattia	1,8 g
demineralisoitua vettä	q.s.

Kiinteät ainesosat pakotetaan ensin verkoseulan, jonka silmäkoko on 0,6 mm, läpi. Vaikuttava aine, laktoosi, talkki, magneesiumstearaatti ja puolet tärkkelyksestä sekoitetaan tämän jälkeen. Toinen puoli tärkkelyksestä suspendoidaan 40 ml:an vettä ja tämä suspensio lisätään kiehuvaan liuokseen, jossa polyetyleeniglykoli on 100 ml:ssa vettä. Tuloksena saatuun pastaan lisätään pulverisoidut aineet ja seos granuloidaan, jos tarpeellista lisätään vettä. Granulaatti

kuivataan yön yli lämpötilassa 35°C, pakotetaan verkkoseulan, jonka silmäkoko on 1,2 mm läpi ja puristetaan molemmilta puoliltaan koverapintaisiksi tableteiksi, joiden halkaisija on n. 6 mm.

Esimerkki 9

Tabletteja, joissa jokaisessa on 100 mg vaikuttavaa ainetta, voidaan valmistaa seuraavalla tavalla:

Aineosat (1000 tablettia)

vaikuttavaa ainetta	100,0 g
laktoosia	100,0 g
vehnätärkkelystä	47,0 g
magnesiumstearaattia	3,0 g

Kaikki kiinteät aineosat pakotetaan ensin verkkoseulan, jonka reikäkoko on 0,6 mm, läpi. Vaikuttava aine, laktoosi magneesiumstearaatti ja puolet tärkkelyksestä sekoitetaan tämän jälkeen. Toinen puoli tärkkelyksestä suspendoidaan 40 ml:an vettä ja tämä suspensio lisätään 100 ml:an kiehuvaan vettä. Tuloksena saatu pasta lisätään pulverisoituihin aineisiin ja seos granuloidaan, jos tarpeellista lisätään vettä. Granulaatti kuivataan yön yli lämpötilassa 35°C, pakotetaan verkkoseulan, jonka silmäkoko on 1,2 mm, läpi ja puristetaan molemmilta puoliltaan koverapintaisiksi tableteiksi, joiden halkaisija on n. 6 mm.

Esimerkki 10

Purutabletteja, joissa jokaisessa on 75 mg vaikuttavaa ainetta, voidaan valmistaa seuraavalla tavalla:

Aineosat (1000 tablettia varten)

vaikuttavaa ainetta	75,0 g
mannitolia	230,0 g
laktoosia	150,0 g
talkkia	21,0 g
glysiiniä	12,5 g

steariinihappoa	10,0 g
sakkariinia	1,5 g
5 % gelatiiniliuosta	q.s.

Kaikki kiinteät aineet pakotetaan ensin verkkoseulan, jonka silmäkoko on 0,25 mm läpi. Mannitoli ja laktoosi sekoitetaan, granuloidaan yhdessä gelatiiniliuoksen lisäyksen kanssa, pakotetaan verkkoseulan, jonka silmäkoko on 2 mm, läpi kuivataan lämpötilassa 50°C ja pakotetaan uudestaan verkkoseulan, jonka silmäkoko on 1,7 mm, läpi. Vaikuttava aine, glysiini ja sakkariini sekoitetaan huolellisesti, mannitoli, laktoosi granulaatti, steariinihappo ja talkki lisätään ja kaikki aineosat sekoitetaan huolellisesti keskenään ja puristetaan tablettien, joiden halkaisija on n. 10 mm, ja jotka ovat kummaltakin sivultaan kupe-ria, ja joissa on jakoura päälipuolella, valmistami-seksi.

Esimerkki 11

Tabletteja, joissa on 10 mg vaikuttavaa ai-
netta, voidaan valmistaa seuraavalla tavalla:

Aineosat (1000 tablettia varten)

vaikuttavaa ainetta	10,0 g
laktoosia	328,5 g
maissitärkkelystä	17,5 g
polyetyleeniglykolia 6000	5,0 g
talkkia	25,0 g
magnesiumstearaattia	4,0 g
demineralisoitua vettä	q.s.

Kiinteät aineet pakotetaan ensin verkkoseulan läpi, jonka silmäkoko on 0,6 mm. Tämän jälkeen vaikut-tava aine, laktoosi, talkki, magnesiumstearaatti ja puolet tärkkelyksestä sekoitetaan huolellisesti. Toi-nen puoli tärkkelyksestä suspendoidaan 65 ml vettä ja tämä suspensio lisätään kiehuvaan liuokseen, jossa on polyetyleeniglykolia 260 ml:ssa vettä. Tuloksena saa-

tava pasta lisätään pulverisoituihin aineisiin ja kaikki aineet sekoitetaan keskenään ja granuloidaan, jos tarpeellista lisätään vettä. Granulaatti kuivataan yön yli lämpötilassa 35°C, pakotetaan verkkoseulan, jonka silmäkoko on 1,2 mm, läpi ja puristetaan tabletin, joiden halkaisija on n. 10 mm, ja jotka ovat kummaltakin puoleltaan kuperia, ja joiden päällipuolella on jakoura, valmistamiseksi.

Esimerkki 12

Gelatiini kuivatäytettyjä kapseleita, joissa jokaisessa on 100 mg vaikuttavaa ainetta, voidaan valmistaa seuraavalla tavalla:

Aineosat (1000 kapselia varten)

vaikuttavaa ainetta	100,0 g
mikrokiteistä selluloosaa	30,0 g
natriumlauryylisulfaattia	2,0 g
magnesiumstearaattia	8,0 g

Natriumlauryylisulfaatti seulotaan vaikuttavaan aineeseen verkkoseulan, jonka silmäkoko on 0,2 mm, läpi ja komponentit sekoitetaan huolellisesti 10 min. Mikrokiteinen selluloosa lisätään tämän jälkeen verkkoseulan, jonka silmäkoko on 0,9 mm, läpi ja kokonaisuutta sekoitetaan taas huolellisesti 10 min. Lopuksi lisätään magnesiumstearaatti verkkoseulan, jonka silmäkoko on 0,8 mm, läpi, sekoitetaan vielä 3 min, jonka jälkeen seos 140 mg annoksina laitetaan gelatiini kuivatäyttökapseleihin, joiden koko on 0 (pitkänomainen).

Esimerkki 13

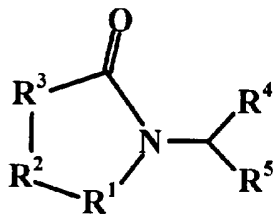
0,2 %:nen injektio- tai infuusioliuos tai suspensio voidaan valmistaa esimerkiksi seuraavalla tavalla:

vaikuttavaa ainetta	6,0 g
natriumkloridia	22,5 g
fosfaattipuskuria pH 7,4	300,0 g
demineralisoitua vettä	lisätään 2500,0 ml:an

Vaikuttavaa ainetta liuotetaan 1000 ml:an vettä ja suodatetaan mikrosuodattimen läpi tai suspendoidaan 1000 ml:an vettä. Puskuriliuos lisätään ja kokonaisuus tehdään 2500 ml:ksi vedellä. Valmiiden yksikköannosmuotojen valmistamiseksi laitetaan 1,0 - 2,5 ml:n annoksia lasiampulleihin (jossa jokaisessa on 2,0 tai 5,0 ml vaikuttavaa ainetta)

PATENTTIVAATIMUKSET

1. Yhdiste, jolla on kaava:



ja jolla on PDE:tä ja TFN α :a estävä vaikutus,
jossa kaavassa:

R¹ on -CH₂-, -CH₂CO- tai -CO-;

R² ja R³ yhdessä ovat (i) etyleeni, joka on substituomaton tai substituoitu alkyylillä, joissa on 1 - 10 hiiliatomia, tai fenyyllillä, (ii) vinyleeni, joka on substituoitu kahdella substituentilla, jotka kumpikin toisistaan riippumatta on valittu ryhmästä, jossa on alkyyli, jossa on 1 - 10 hiiliatomia, ja fenyyli, (iii) divalentti sykloalkyyli, jossa on 5 - 10 hiiliatomia, substituomaton tai substituoitu yhdellä tai useimmilla substituentteilla, joista jokainen toisistaan riippumatta on valittu ryhmästä, jossa on nitro, syano, trifluorimetyyli, karbetoksi, karbometoksi, karbopropoksi, asetyyli, karbamoyyli substituomaton tai substituoitu alkyylillä, jossa on 1 - 3 hiiliatomia, asetoksi, karboksi, hydroksi, amino, substituoitu amino, alkyyli, jossa on 1 - 10 hiiliatomia, alkoksi, jossa on 1 - 10 hiiliatomia, norbornyyli, fenyyli tai halo; tai (iv) sykloheksenyyli;

R⁴ on fenyyli, joka on substituoitu yhdellä tai useimmilla substituentteilla, joista jokainen on toisistaan riippumatta valittu ryhmästä, jossa on alkoksi, jossa on 1 - 10 hiiliatomia, sykloalkoksi tai bisykloalkoksi, jossa on 3 - 10 hiiliatomia; ja

R⁵ on -COX, -CN, -CH₂COX, alkyyli, jossa on 1-5 hiiliatomia, fenyyli, -CH₂OR, -CH₂fenyyli tai -CH₂OH;
jossa X on NH₂, OH, NHR, R tai OR⁶,

jossa R on alkyyliryhmä, jossa on 1 - 6 hiiliatomia; ja

jossa R⁶ on alkyyliryhmä, jossa on 1 - 18 hiiliatomia tai bentsyyli;

ja sillä ehdolla, että

(c) kun R¹ on -CO- ja R⁵ on alkyyli, niin R² ja R³ yhdessä eivät ole vinyleeni; ja

(d) kun R¹ on -CO- tai -CH₂- ja R⁵ on -CH₂OR tai -CH₂OH, niin R⁴ ei ole fenyyli, joka on substituoitu yhdellä tai useammalla alkoksiryhmällä, jossa on 1 - 10 hiiliatomia.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että R² ja R³ yhdessä ovat sykloheksenyli.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että sykloheksenyli on substituoitu.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että R² ja R³ yhdessä ovat sykloheksyyli.

5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että R² ja R³ yhdessä ovat etyleeni.

6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että R² ja R³ yhdessä ovat vinyleeni.

7. Patenttivaatimuksen 6 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että R² ja R³ kumpikin ovat substituoitu fenyyllillä.

8. Patenttivaatimuksen 6 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että R² ja R³ kumpikin ovat substituoitu metyyllillä.

9. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että R² ja R³ yhdessä ovat syklopentyli.

10. Jokin patenttivaatimuksista 1 - 9 mukainen yhdiste käytettäväksi lääkkeenä.

11. Jonkin patenttivaatimuksista 1 - 9 mukaisen yhdisteen käyttö valmistettaessa nisäkkäissä TNF α -aktivoitujen retrovirusten replikaation estävää lääkevalmistetta.

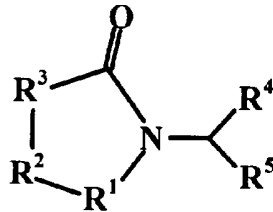
12. Farmaseuttinen koostumus, joka käsittää määrän jonkin patenttivaatimuksista 1 - 9 mukaista yhdistettä, joka on tehokas yksittäisenä tai moninkertaisena annoksena TNF α :n estämisessä.

13. Jonkin patenttivaatimuksista 1 - 9 mukaisen yhdisteen käyttö valmistettaessa nisäkkäissä fosfodiesteriäasin estävää lääkevalmistetta.

14. Farmaseuttinen koostumus, joka käsittää määrän jonkin patenttivaatimuksista 1 - 9 mukaista yhdistettä, joka on tehokas yksittäisenä tai moninkertaisena annoksena fosfodiesteriäasin estämisessä.

PATENTKRAV

1. En förening med formeln:



och som har PDE och TFN α inhiberande aktivitet,

och i vilken formel:

R¹ är -CH₂-, -CH₂CO- eller -CO-;

R² och R³ tillsammans är (i) etylen, vilken är osubstituerad eller substituerad med en alkyl med 1 - 10 kolatomer eller en fenyl, (ii) vinylen, vilken är substituerad med två substituent, vilka var och en oberoende av varandra är valda ur gruppen en alkyl med 1 - 10 kolatomer och fenyl, (iii) en divalent cykloalkyl med 5 - 10 kolatomer osubstituerad eller substituerad med en eller flera substituent, av vilka var och en oberoende av varandra är valda ur gruppen nitro, cyano, trifluormetyl, karbetoxi, karbometoxi, karbopropoxi, acetyl, karbamoyl osubstituerad eller substituerad med en alkyl med 1 - 3 kolatomer, acetoxi, karboxi, hydroxi, amino, substituerad amino, alkyl med 1 - 10 kolatomer, alkoxi med 1 - 10 kolatomer, norbornyl, fenyl eller halo; eller (iv) en cyklohexenyl;

R⁴ är en fenyl, som är substituerad med en eller flera substituent, av vilka var och en oberoende av varandra är vald ur gruppen alkoxi med 1 - 10 kolatomer, cykloalkoxi eller bicykloalkoxi med 3 - 10 kolatomer; och

R⁵ är -COX, -CN, -CH₂COX, en alkyl med 1 - 5 kolatomer, fenyl, -CH₂OR, -CH₂fenyl eller -CH₂OH;

vari X är NH_2 , OH, NHR, R eller OR^6 ,
 vari R är en alkylgrupp med 1 - 6 kolatomer;

och

vari R^6 är en alkylgrupp med 1 - 18 kolatomer
 eller en benzyl;

och på villkor, att

(a) då R^1 är $-\text{CO}-$ och R^5 är alkyl, är R^2 och R^3
 tillsammans inte vinylen; och

(b) då R^1 är $-\text{CO}-$ eller $-\text{CH}_2-$ och R^5 är $-\text{CH}_2\text{OR}$
 eller $-\text{CH}_2\text{OH}$, så är R^4 inte en fenyl som är substitue-
 rad med en eller flera alkoxygrupper med 1 - 10
 kolatomer.

2. Förening enligt patentkrav 1, k ä n n e -
 t e c k n a d därav, att R^2 och R^3 tagna tillsammans
 är en cyklohexenyl.

3. Förening enligt patentkrav 2, k ä n n e -
 t e c k n a d därav, att cyklohexenylen är substitue-
 rad.

4. Förening enligt patentkrav 1, k ä n n e -
 t e c k n a d därav, att R^2 och R^3 tagna tillsammans
 är en cyklohexyl.

5. Förening enligt patentkrav 1, k ä n n e -
 t e c k n a d därav, att R^2 och R^3 tagna tillsammans
 är etylen.

6. Förening enligt patentkrav 1, k ä n n e -
 t e c k n a d därav, att R^2 och R^3 tagna tillsammans
 är vinylen.

7. Förening enligt patentkrav 6, k ä n n e -
 t e c k n a d därav, att R^2 och R^3 vardera är substi-
 tuerade med en fenyl.

8. Förening enligt patentkrav 6, k ä n n e -
 t e c k n a d därav, att R^2 och R^3 vardera är substi-
 tuerade med en metyl.

9. Förening enligt patentkrav 1, k ä n n e -
 t e c k n a d därav, att R^2 och R^3 tagna tillsammans
 är en cyklopentyl.

10. Förening enligt något av patentkraven 1 - 9, att användas som läkemedel.

11. Användning av en förening enligt något av patentkraven 1 - 9 vid framställning av ett läkemedel som förhindrar TNF α -aktiverad retrovirus replikation i däggdjur.

12. Farmaceutisk sammansättning, vilken innehåller en mängd av en förening enligt något av patentkraven 1 - 9, som är verksam som enfaldig eller mångfaldiga doser vid förhindrande av TNF α .

13. Användningen av en förening enligt något av patentkraven 1 - 9 vid framställning av ett läkemedel för förhindrande av fosfodiesteras i ett däggdjur.

14. Farmaceutisk sammansättning, vilken innehåller en mängd av en förening enligt något av patentkraven 1 - 9, som är verksam som enfaldig eller mångfaldiga doser vid förhindrande av fosfodiesteras.