



F1000102755B

(12) PATENTTIJULKAISU
PATENTSKRIFT

(10) FI 102755 B

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats 15.02.1999

(51) Kv.lk.6 - Int.kl.6

C 07D 473/34

(21) Patenttihakemus - Patentansökning 914319

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag 13.09.1991

(24) Alkupäivä - Löpdag 13.09.1991

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig 15.03.1992

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

14.09.1990 US 582280 P

23.08.1991 US 748172 P

SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(73) Haltija - Innehavare

1. Marion Merrell Dow Inc., 9300 Ward Parkway, Kansas City, MO 64114, USA, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Borcharding, David Roger, 5237 Birch, Roeland Park, KS 66205, USA, (US)
2. Edwards, III, Carl Keith, 14231 W. 120th Street, Olathe, KS 66062, USA, (US)
3. Esser, Ronald Eugene, 105 W. 6th Street, Kansas City, MO 64113, USA, (US)
4. Cole, Douglas Leon, 15625 Overbrook Lane, Stanley, KS 66224, USA, (US)

(74) Asiamies - Ombud: Kolster Oy Ab, Iso Roobertinkatu 23, 00120 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

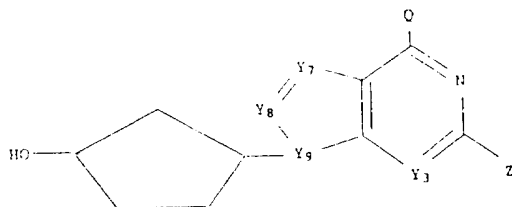
Menetelmä uuden, terapeuttisesti käyttökelpoisen yhdisteen tai sen suolan valmistamiseksi
Förfarande för framställning av en ny terapeutiskt användbar förening eller ett salt därav

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

FI A 870977 (C 07D 473/00, Takeda Chemical Ind.),
FI A 900677 (C 07D 473/34, F. Hoffmann-La Roche)

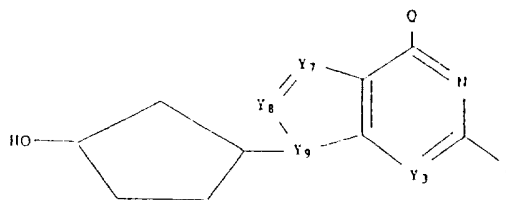
(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Tämä keksintö koskee menetelmää terapeut-
tisesti aktiivisten uusien karbosyklisten
adenosiiniyhdisteiden valmistamiseksi,
joilla on kaava



jossa syklopentanyylirenkaan hydroksyyli-
substituentti on cis-konfiguraatiossa suh-
teessa bisykliseen substituenttiin, kukin
ryhmistä Y₃, Y₇, Y₈ ja Y₉ on riippumattomas-
ti typpi-atomi tai ryhmä CH, Q on ryhmä NH₂
tai halogeeni- tai vetyatomi ja Z on vety-
tai halogeeniatomi tai ryhmä NH₂, tai nii-
den farmaseuttisesti hyväksyttävien suolo-
jen valmistamiseksi.

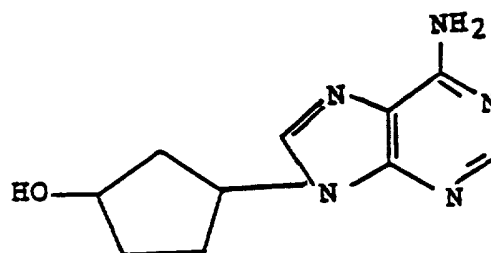
Uppfinningen avser ett förfarande för
framställning av terapeutiskt aktiva nya
karbocykliska adenosinföreningar med for-
meln



vari hydroxisubstituenten i cyklopentanyl-
ringen står i cis-konfiguration i förhål-
lande till den bicykliska substituenten,
Y₃, Y₇, Y₈ och Y₉ är självständigt kväve
eller en CH-grupp, Q är NH₂, halogen eller
väte, och Z är väte, halogen eller NH₂,
eller av ett farmaceutiskt godtagbart salt
därav.

Menetelmä uuden, terapeuttisesti käyttökelpoisen yhdisteen tai sen suolan valmistamiseksi

Tämä keksintö koskee menetelmää uuden, terapeuttisesti käyttökelpoisen yhdisteen tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistamiseksi, jolla yhdisteellä on kaava 1



(1)

jossa syklopentanyylirenkaan hydroksyyli substituentti on cis-konfiguraatiossa suhteessa bisykliseen substituenttiin. Nämä uudet karbosykliset adenosiinianalogit ovat käyttökelpoisia immuunisuppressantteina.

Immunitetti liittyy elimistössä olevan vieraan antigeenisen materiaalin tunnistamiseen ja hävittämiseen. Antigeenit ovat tyypillisesti hiukkasmaisen aineksen (ts. solujen, bakteerien jne.) tai suurten proteiini- tai polysakkaridimolekyylien muodossa, jotka immuunijärjestelmä tunnistaa "vieraksi" ts. tunnistettavasti erilaisiksi kuin eläimen omat aineosat. Potentiaaliset antigeenit voivat olla erilaisia aineita, usein proteiineja, jotka sijaitsevat useimmiten solujen ulkopinnoilla. Potentiaalisia antigeeneja voi esiintyä esimerkiksi siitepölyhiukkasten, kudossiirteiden, eläinloisten, virusten ja bakteerien pinnoilla. Kun immuunijärjestelmä on tunnistanut antigeenisen materiaalin "vieraaksi", spesifisten immuunisolujen, vasta-aineiden ja komplementtijärjestelmän toiminta voi käynnistää luonnollisia (epäspesifisiä) ja/tai adaptiivisia immuunireaktioita. Tietyissä olosuhteissa, mukaan luettuna tietyt sairaustilat, eläimen immuunijärjestelmä tunnis-

taa omat aineosansa "vieraiksi" ja käynnistää immuunireaktion "omaa" materiaalia vastaan.

Immuunijärjestelmä voi toteuttaa immuunivasteen luonnollisella tai adaptiivisella mekanismilla, jotka molemmat koostuvat sekä soluvälitteisistä että humoraalisista elementeistä. Luonnolliset mekanismit tarkoittavat immuunivasteen yhteydessä mekanismeja, jotka liittyvät olennaisilta osiltaan epäspesifisiin immuunireaktioihin, joihin osallistuvat pelkästään komplementtijärjestelmä ja myeloidisolut, kuten makrofagit, syöttösolut ja liuskatu-
maiset leukosyytit (PMN:t) reagoidessaan tiettyihin bakteereihin, viruksiin, kudusvaurio- ja muihin antigeeneihin. Nämä luonnolliset mekanismit saavat aikaan luonnolliseksi immunitetiksi kutsutun ilmiön. Adaptiiviset immuunivastemekanismit tarkoittavat mekanismeja, joissa välittäjinä ovat lymfosyytit (T- ja B-solut) ja vasta-aineet, jotka pystyvät reagoimaan selektiivisesti tuhansiin erilaisiin "vieraiksi" tunnistettuihin materiaaleihin. Nämä mukautumismekanismit saavat aikaan adaptiiviseksi immunitetiksi kutsutun ilmiön ja johtavat spesifiseen muistiin ja pysyvästi muuttuneeseen reagointimalliin tuloksena mukautumisesta eläimen omaan ympäristöön. Adaptiivisen immunitetin voivat saada aikaan pelkät lymfosyytit ja vasta-aineet tai tavallisemmin lymfosyyttien ja vasta-aineiden vuorovaikutus luonnollisten immunitettimekanismien komplementtijärjestelmän ja myeloidisolujen kanssa. Vasta-aineet saavat aikaan adaptiivisen immuunivasteen humoraalisen elementin ja T-solut sen soluvälitteisen elementin.

Immuunivasteen luonnollisiin mekanismeihin liittyy makrofagien ja PMN:ien aiheuttama fagosytoosi, jossa nämä solut piirittävät ja hävittävät vieraan materiaalin tai antigeenin. Lisäksi makrofagit voivat tappaa joitakin vieraita soluja sytotoksisten vaikutustensa kautta. Komplementtijärjestelmä, joka myös osallistuu luonnolliseen immunitettiin, koostuu erilaisista peptideistä ja entsyy-

meistä, jotka voivat tarttua vieraaseen materiaaliin tai antigeeniin ja edistää siten makrofagien ja PMN:ien aikaansaamaa fagosytoosia tai mahdollistaa solujen hajotuksen tai tulehdusilmiöiden esiintymisen.

5 Immuunivasteen adaptiivisiin mekanismeihin liittyvät B-lymfosyyttien (eli B-solujen) erittämän vasta-aineen vaikutukset spesifisiä antigeeneja vastaan samoin kuin erilaisten T-lymfosyyttien (eli T-solujen) vaikutukset spesifiseen antigeeniin, B-soluihin, muihin T-soluihin ja
10 makrofageihin.

Vasta-aineet, jotka saavat aikaan adaptiivisen immuniteetin humoraalisen puolen, ovat seerumiglobuliineja, joita erittävät B-solut, joilla on laaja spesifisyysalue erilaisen antigeenien suhteen. Vasta-aineita erittyy vastena spesifisten antigeenien tunnistukseen ja ne saavat
15 aikaan erilaisia suojaavia reaktioita. Vasta-aineet voivat sitoutua bakteeritoksiineihin ja tehdä ne vaarattomiksi ja ne voivat sitoutua virusten, bakteerien ja muiden "vieraiksi" tunnistettujen solujen pintaan ja edistää siten PMN:ien ja makrofagien aikaansaamaa fagosytoosia. Lisäksi
20 vasta-aineet voivat aktivoida komplementtijärjestelmää, mikä voimistaa edelleen immuunireaktiota spesifistä antigeenia vastaan.

Lymfosyytit ovat pieniä veressä esiintyviä soluja, jotka kiertävät verestä kudosten läpi ja takaisin vereen
25 imunestejärjestelmän kautta. On olemassa kaksi tärkeätä alaryhmää lymfosyyttejä, joita kutsutaan B-soluiksi ja T-soluiksi. B-solut ja T-solut ovat kummatkin peräisin samasta lymfoidikantasolusta; B-solut erilaistuvat luuytimessä ja T-solut kateenkorvassa. Lymfosyyteillä on tiettyjä rajoitettuja reseptoreja, jotka mahdollistavat kunkin solun reagoinnin johonkin määrättyyn antigeeniin. Tämä on pohjana adaptiivisen immuunivasteen spesifisyydelle. Li-
30 sääksi lymfosyyteillä on suhteellisen pitkä elinikä ja kyky lisääntyä kloonautumalla otettuaan vastaan asianmukaisen

signaalin. Tähän ominaisuuteen perustuu adaptiivisen immuunivasteen muistipuoli.

5 B-solut ovat lymfosyyttejä, jotka saavat aikaan adaptiivisen immuniteetin humoraalisen puolen. Reaktiona jonkin määrätyn vieraan antigeenin tunnistamiseen B-solu erittää spesifistä vasta-ainetta, joka sitoutuu tähän määrättyyn antigeeniin. Vasta-aine tekee antigeenin vaarattomaksi toksiinien ollessa kyseessä tai edistää fagosytoosia muiden antigeenien ollessa kyseessä. Vasta-aineet osallistuvat myös komplementtijärjestelmän aktivointiin, mikä edelleen voimistaa immuunivastetta elimistöön tunkeutuvaa antigeenia vastaan.

15 T-solut ovat lymfosyyttejä, jotka ovat vastuussa adaptiivisen immuniteetin soluvälitteisestä puolesta. On olemassa kolme päätyyppiä T-soluja, ts. sytoksiset T-solut, auttaja-T-solut ja suppressori-T-solut. Sytotoksiset T-solut havaitsevat ja hävittävät spesifisen virusantigeenin infektoimia soluja. Auttaja-T-soluilla on erilaisia säätelytehtäviä. Auttaja-T-solut voivat spesifisen antigeenin tunnistuksen jälkeen edistää asianosaisen B-solun vasta-ainereaktiota antigeeniin ja makrofagien aikaansaamaa fagosytoosia. Suppressori-T-soluilla on määrättyä antigeenia vastaan kohdistuvaa immuunireaktiota heikentävä vaikutus.

25 T-solut säätelevät ja seuraavat soluvälitteistä immuunivastetta erilaisten säätely-viestiyhdisteiden kautta, joita erittävät myeloidisolut ja lymfosyytit. Näiden säätely-viestiyhdisteiden erityksen kautta T-solut pystyvät säätelemään muiden immuunisolujen, kuten B-solujen, makrofagien, PMN:ien ja muiden T-solujen, proliferaatiota ja aktivoitumista. Sidottuaan vieraan antigeenin makrofagi tai muu antigeenia sisältävä solu voi esimerkiksi erittää interleukiini-1:ä (IL-1), joka aktivoi auttaja-T-soluja. T-solut puolestaan erittävät tiettyjä lymfokiineja, mukaan
35 luettuina interleukiini-2 (IL-2) ja gamma-interferoni,

joista kullakin on erilaisia säätelyvaikutuksia soluvälitteiseen immuunivasteeseen. Lymfokiinit ovat laaja ryhmä molekyylejä, joita tuottavat T-solut (ja joskus B-solut) ja joihin kuuluvat

5 IL-2, joka edistää T-solujen lisääntymistä kloonautumalla;

MAF eli makrofageja aktivoiva tekijä, joka voimistaa monia makrofagien toimintoja, mukaan luettuina fagositosisi, solunsisäinen tappaminen ja erilaisten sytotoksisten tekijöiden erityys;

10 NAF eli neutrofiilejä aktivoiva tekijä, joka voimistaa PMN:ien monia toimintoja, mukaan luettuina fagositosisi, happiradikaalien tuotanto, bakteerien tappaminen, voimistunut kemotaksia ja voimistunut sytokiinituotanto;

15 MIF eli makrofagien liikkumistekijä, joka rajoittamalla makrofagien liikkumista keskittää ne T-solun läheisyyteen;

gamma-interferoni, jota tuottaa aktivoitunut T-solu ja jolla on kyky saada aikaan monia erilaisia vaikutuksia moniin soluihin, mukaan luettuina viruksen replikaation estäminen, ryhmän II histokompatibiliteettimolekyylien tuotannon indusointi, jotka molekyylit mahdollistavat näiden solujen aktivoitumisen antigeenin sitomisen ja sisältämisen suhteen, makrofagien aktivointi, solujen kasvun esto ja monien myeloidisolulinjojen erilaistumisen käynnistys.

20 Aktivoituneille makrofageille ja PMN:ille, jotka saavat aikaan voimistuneen immuunireaktion osana soluvälitteistä adaptiivista immuniteettia, on tunnusmerkillistä reaktiivista happea sisältävien välituotteiden lisääntynyt tuotanto. Tämä reaktiivista happea sisältävien välituotteiden lisääntynyttä tuotantoa eli respiratorista purkausta kutsutaan "heräämiseksi". Tietyt lymfokiinit, kuten gamma-interferoni, laukaisevat tämän reaktiivista happea sisältävien välituotteiden respiratorisen purkauksen makrofageissa ja PMN:issä. Niinpä lymfokiinit, kuten gamma-

interferoni, joita erittävät T-solut, saavat aikaan näiden makrofagien ja PMN:ien aktivoitumisen, joka johtaa voimistuneeseen soluvälitteiseen immuunivasteeseen.

5 Immuunivaste voi saada aikaan välitöntä tai viivästynyttä tyyppiä olevan reaktion. Viivästynyttä tyyppiä oleva yliherkkyys on tulehdusreaktio, joka ilmaantuu immuunireaktiivisissa potilaissa 24 - 48 tunnin kuluttua altistumisesta antigeenille ja on tulosta pääasiassa soluvälitteisestä immuunivasteesta. Sen sijaan välitöntä tyyppiä
10 oleva yliherkkyys, kuten anafylaktisissa tai nivelreaktioissa havaittava, on tulehdusreaktio, joka ilmenee immuunireaktiivisissa potilaissa minuuttien - muutaman tunnin kuluttua altistumisesta antigeenille ja on seurausta pääasiassa humoraalisesta eli vasta-ainevälitteisestä
15 immuunivasteesta.

Immuunijärjestelmä, ja erityisesti soluvälitteisen immuunijärjestelmän, kyky erottaa "omat" ja "vieraat" antigeenit on elintärkeää immuunijärjestelmän toimimiselle spesifisenä puolustusjärjestelmänä elimistöön tunkeutuvia
20 mikro-organismeja vastaan. "Vieraat" antigeenit ovat niitä elimistössä aineiden pinnalle olevia aineita, jotka ovat havaittavasti erilaisia kuin eäimen omat rakenneosat ja vieraita niille, ja "omat" antigeenit ovat antigeeneja, jotka eivät ole havaittavasti erilaisia kuin eläimen omat
25 rakenneosat eivätkä vieraita niille. Vaikka immuunivaste on tärkein puolustautumiskeino vieraita aineita vastaan, jotka voivat aiheuttaa sairauksia, se ei pysty erottamaan toisistaan hyödyllisiä ja haitallisia vieraita aineita vaan tuhoaa molemmat.

30 On olemassa tiettyjä tilanteita, kuten allogeneeiset kudossiirrot tai "hylkimissairaus", joissa olisi äärimäisen hyödyllistä heikentää immuunivastetta, jotta estetään hyödyllisen vieraan kudoksen tai elinten hylkiminen. Allogeneeiset kudokset ja elimet ovat kudoksia ja
35 elimiä, jotka ovat peräisin geneettisesti erilaisesta sa-

man lajin jäsenestä. "Hylkimissairaus" ilmenee siirretyn kudoksen, esimerkiksi luuydinsiirteen, sisältäessä luovuttajan allogeneeisia T-soluja, jotka aiheuttavat immuunireaktion vastaanottajan omia kudoksia vastaan. Vaikka sekä humoraalinen että soluvälitteinen immuunivaste osallistuvat allogeneeisten kudosten ja elinten hylkimiseen, on pääasiallisena mekanismina soluvälitteinen immuunivaste. Immuunivasteen heikentäminen ja erityisesti soluvälitteisen immuunivasteen heikentäminen olisi siten hyödyllistä tällaisen allogeneeisten kudosisiirteiden hylkimisen estämisessä. Nykyisin käytetään esimerkiksi syklosporiini A:ta immuunisuppressiivisena aineena allogeneeisia siirteitä saavien potilaiden ja "hylkimissairauden" hoidossa.

On tilanteita, joissa yksilön immunologinen vaste aiheuttaa enemmän vahinkoa tai epämukavuutta kuin elimistöön tulevat mikrobit tai virus materiaali, kuten allergisten reaktioiden ollessa kyseessä. Näissä tapauksissa olisi immuunivasteen heikentäminen toivottavaa.

Joskus immunologiset mekanismit herkistyvät yksilön oman elimistön jollekin osalle ja aiheuttavat häiriöitä tässä osassa tai jopa sen tuhoutumisen. Kyky erottaa toisistaan "oma" ja "vieras" on heikentynyt ja elimistö alkaa tuhota itseään. Tämä voi johtaa autoimmunisairauksiin, kuten nivelreumaan, insuliinista riippuvaan sokeritautiin (johon liittyy insuliinin erityksestä vastaavien Langerhansin saarekkeiden β -solujen tuhoutuminen autoimmuunimekanismin kautta), tiettyihin hemolyyttisiin anemioihin, reumaattiseen kuumeeseen, kilpirauhastulehdukseen, haavauttavaan paksusuolentulehdukseen, lihasheikkouteen, munaiskerästulehdukseen, allergiseen aivo-selkäydintulehdukseen, etenevään hermo- ja maksatuhoon, joka joskus seuraa virushepatiittia, pesäkekovettumatautiin ja systeemiseen punahukkaan. Jotkut autoimmunitietin muodot tulevat esiin seurauksena vammasta alueella, joka ei tavallisesti

ole alttiina lymfosyyteille, kuten hermokudoksessa tai mykiössä. Kun näillä alueilla olevat kudokset joutuvat alttiiksi lymfosyyteille, niiden pintaproteiinit saattavat toimia antigeeneina ja laukaista vasta-ainetuotannon ja solun immuunireaktioita, jotka sitten alkavat tuhota mainittuja kudoksia. Toisia autoimmuunisairauksia kehittyy yksilön altistuttua antigeeneille, jotka ovat antigeenisesti samankaltaisia kuin yksilön oma kudokse, ts. ristireagoivat sen kanssa. Reumaattinen kuume on eräs esimerkki tämäntyyppisestä sairaudesta, jossa reumaattista kuumetta aiheuttavan streptokokkibakteerin antigeeni on ristireaktiivinen ihmisen sydämen joidenkin osien kanssa. Vastaaineet eivät pysty erottamaan toisistaan bakteerinantigeeneja ja sydänlihaksen antigeeneja, ja kumpaa tahansa mainittua antigeenia sisältävät solut voivat tulla tuhotuiksi. Immuunijärjestelmän heikentäminen olisi näissä autoimmuunisairauksissa hyödyllistä sairauden vaikutusten minimoimiseksi tai eliminoimiseksi. Tiettyjä näistä autoimmuunisairauksista, kuten insuliinista riippuvaa sokeritautia, pesäkekovettumatautia ja nivelreumaa, luonnehditaan seuraukseksi soluvälitteisestä autoimmuunivasteesta, ja ne näyttävät aiheutuvan T-solujen toiminnasta [Sinha et al., Science 248 (1990) 1380]. Joitakin toisia, kuten lihasheikkoutta ja systeemistä punahukkaa, luonnehditaan seuraukseksi humoraalisesta autoimmuunivasteesta (*id.*).

Immuunivasteen heikentäminen olisi siten hyödyllistä hoidettaessa autoimmuunisairauksista kärsiviä potilaita. Tarkemmin määriteltynä soluvälitteisen immuunivasteen heikentäminen olisi siten hyödyllistä T-solujen toiminnan aiheuttamista autoimmuunisairauksista, kuten insuliinista riippuvasta sokeritaudista, pesäkekovettumataudista ja nivelreumasta, kärsivien potilaiden hoidossa. Humoraalisen immuunivasteen heikentäminen olisi hyödyllistä hoidettaessa potilaita, jotka kärsivät T-soluista riippumattomista

autoimmuunisairauksista, kuten lihasheikkoudesta ja systeemisestä punahukasta.

US-patenttijulkaisussa 4 859 677 kuvatut tyydytty-mättömät dihydroksipuriinit eivät rakenteellisesti ole
5 kovinkaan läheisiä keksinnön mukaisesti saataville yhdisteille, jotka ovat tyydyttyneitä monohydroksipuriineja.

EP-hakemusjulkaisussa 236 935 puolestaan kuvataan hydroksimetyylinukleosidianalogeja. Hydroksiryhmän läsnä-
10 olo hydroksimetyyliryhmän sijasta ei ole merkityksetöntä. Hydroksimetyyliryhmän läsnäolo mahdollistaa yhdisteissä ketjun pidentämisen (vrt. palsta 4, rivit 34 - 37), mistä johtuen kyseiset hydroksimetyyliryhmän sisältävät yhdisteet ovat virusten vastaisia aineita. Sitä vastoin esillä olevan keksinnön mukaisesti valmistetuilla uusilla kaavan
15 (1) mukaisilla yhdisteillä ei ole kyseistä ominaisuutta.

Sekä US-patenttijulkaisusta 4 859 677 että EP-hakemusjulkaisusta 236 935 tunnetut yhdisteet ovat kaikki virusten vastaisia aineita. Ei kuitenkaan ole mitään syytä olettaa, että virustenvastainen vaikutus olisi sama kuin
20 immuunisuppressiivinen vaikutus.

US-patenttijulkaisusta 3 971 837 tunnetut yhdisteet ovat trans-2-syklopentyylipuriineja, kun taas keksinnön mukaisesti saatavat uudet kaavan (1) mukaiset yhdisteet ovat cis-3-syklopentyylipuriineja. Tunnetussa tekniikassa
25 ei ole esitetty mitään minkä perusteella mainitut trans- ja cis-isomeerit voisi rinnastaa toisiinsa. Hakija on tutkinut US-patenttijulkaisussa 3 971 837 kuvattuja, 2-aseman suhteen trans-isomeerisiä yhdisteitä.

Eristettiin rotan peritoneaalisia makrofageja ja
30 kasvatettiin niitä soluviljelmässä suurin piirtein Edwardsin et al. kuvaamalla tavalla [Science 239 (1988) 769]. Makrofageja inkuboitiin yhdessä opsoniinikäsittelyn tsymosaanin (3 mg/ml) kanssa, joka toimii hiukkasstimulanttina, ja rotan yhdistelmä-gamma-interferonin (rrIFN-gamma; 1 000 yksikköä/ml) kanssa, joka toimii aktivoivana
35

lymfokiininä, (1S,3R)-cis-1-(9-adenyyli)-3-hydroksisyklopentaanin ollessa läsnä erilaisina pitoisuuksina (0 - 1 000 μM). Makrofagien heräämisaste mitattiin käyttämällä Edwardsin et al. kuvaamaa peroksidianioni (O_2^-) -määrittystä [Science 239 (1988) 769].

Edellä kuvattua menetelmää käyttäen trans-2-syklopentyylipuriinin IC_{50} -arvoksi saatiin 22 μM . Sitä vastoin keksinnön mukaisesti saatavan 3-asemassa cis-isomeerisen yhdisteen IC_{50} -arvoksi saatiin 2,5 μM . 3-asemassa cis-isomeerisillä yhdisteillä on merkittävästi paremmat in vitro -ominaisuudet kuin tunnetuilla, 2-asemassa trans-isomeerisillä yhdisteillä. Käyttämällä Parmelyn et al. kuvaamaa D-galaktoosiimiinimallia [J. Immunol., 151(1993)389] 2-asemassa trans-isomeerisellä yhdisteellä saatiin annoksella noin 100 mg/kg 60 % suoja in vivo, mutta keksinnön mukaisesti saatavalla 3-asemassa trans-isomeerisellä yhdisteellä vastaavalla annoksella saatiin noin 88 % suoja in vivo.

Käytettiin rotan ilmataskun tulehdus -mallia rotan PMN:ien saamiseksi käyttämällä 25 ng/tasku ihmisen yhdistelmäinterleukiini-1:ä (rHuIL-1) solujen saamiseksi esiin noudattamalla suurin piirtein Esserin et al. menetelmää [Internat. J. Tissue Reactions XI (1989) 291]. PMN:iä inkuboitii yhdessä forbolimyristaattiasetaatin kanssa (PMA; 200 ng/ml), joka toimii liukenevana stimulanttina, ja rrIFN-gamman kanssa (1 000 yksikköä/ml), joka toimii stimuloivana lymfokiininä, tai rHuIL-1:n kanssa (500 yksikköä/ml), joka toimii stimuloivana sytokiininä, (1S,3R)-cis-1-(9-adenyyli)-3-hydroksisyklopentaanin ollessa läsnä erilaisina pitoisuuksina (0 - 1 000 μM). Makrofagien heräämisaste mitattiin käyttämällä Edwardsin et al. kuvaamaa peroksidianioni (O_2^-) -määrittystä [Science 239 (1988) 769]. Tämän tutkimuksen tulokset osoittavat, että (1S,3R)-cis-1-(9-adenyyli)-3-hydroksisyklopentaani estää tehokkaasti rrIFN-gamman aiheuttaman rotan makrofagien heräämisen in

vitro, IC_{50} on 0,001 μM , ja rHuIL-1:n aiheuttaman rotan PMN:ien heräämisen *in vitro*, IC_{50} on 0,001 μM .

Tässä käytettynä termi "farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat" tarkoittaa kaavan 1 mukaisten yhdisteiden happoadditiosuoloja, joissa yhdisteen toksisuus ei ole suurempi kuin ei-suolamuodossa. Tyypillisiä esimerkkejä farmaseuttisesti hyväksyttävistä suloista, joita valmistetaan käsittelemällä kaavan 1 mukaisia yhdisteitä vastaavilla hapoilla, ovat seuraavat: vetybromidi-, vetykloridi-, rikki-, fosfori-, typpi-, muurahais-, etikka-, propioni-, meripihka-, glykoli-, maito-, omena-, viini-, sitruuna-, askorbiini-, α -ketoglutaari-, glutamiini-, asparagiini-, maleiini-, hydroksimaleiini-, palorypäle-, fenyylietikka-, bentsoe-, para-aminobentsoe-, antraniili-, parahydroksibentsoe-, salisyili-, para-aminosalisyili-, metaanisulfoni-, etaanisulfoni-, hydroksietaanisulfoni-, eteenisulfoni-, halogeenibentseenisulfoni-, tolueenisulfoni-, naftaleenisulfoni- ja sulfaniilihappojen suolat. Hydrokloridi on edullinen kaavan 1 mukaisten yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttävänä suolana.

Ymmärrettäneen, että kaavan 1 mukaisten yhdisteiden syklopentanyylirenkaan hydroksyyli-substituentti on *cis*-konfiguraatiossa bisykliseen substituenttiinnähdessä. Lisäksi ymmärrettäneen, että nämä kaavan 1 mukaiset yhdisteet voivat esiintyä erilaisissa stereoisomeerisissä konfiguraatioissa. Kaavan 1 mukaisten yhdisteiden piiriin kuuluvat tietenkin sekä yksittäiset stereoisomeerit ja niiden raaseemiset seokset.

Seuraavat kaavan 1 mukaiset yksittäiset yhdisteet ovat erityisen edullisia

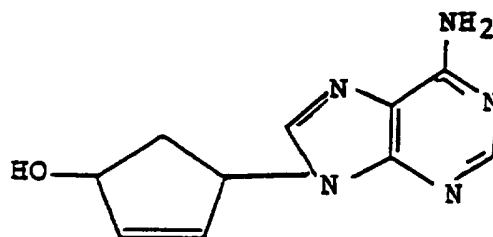
(1S,3R)-*cis*-1-(9-adenyyli)-3-hydroksisyklopentaanihydrokloridi;

(1R,3S)-*cis*-1-(9-adenyyli)-3-hydroksisyklopentaanihydrokloridi.

Keksinnön mukaiselle menetelmälle uuden, kaavan 1 mukaisen yhdisteen ja sen suolojen valmistamiseksi on tunnusomaista, että hydrataan katalyyttisesti vastaava syklopentenyylijohdannainen, jolla on kaava

5

10



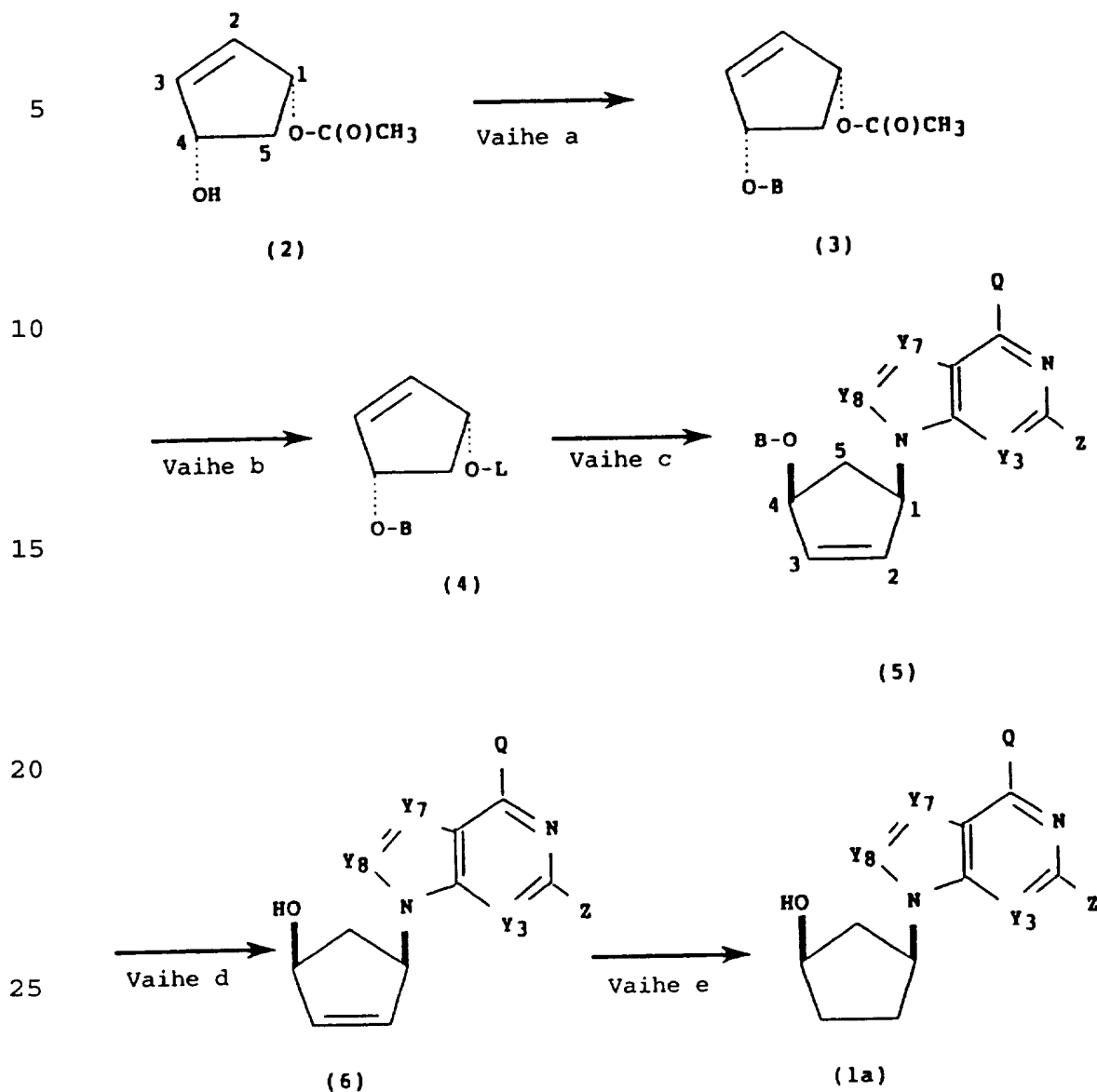
15

Reaktiokaaviossa A esitetään yleinen synteesimenetely kaavan 1 mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi. Reaktiokaaviossa B on suojausryhmä, L on poistuva ryhmä, Q on NH_2 , Z on H, Y_3 on N, Y_7 on N ja Y_8 on CH.

:

:

Reaktiokaavio A



Vaiheessa a (1R,4S)-cis-1-asetoksi-2-syklopen-4-
 olin (2) reaktiivinen 4-hydroksyyli-ryhmä suojataan hydrok-
 syyli-ryhmän suojausryhmällä (B), jolloin muodostuu vastaa-
 va 4-hydroksisuojaattu (1R,4S)-cis-1-asetoksi-2-syklopen-4-
 oli (3). Kulloinkin käytettävä hydroksyyli-ryhmän suojaus-
 ryhmä voi olla jokin monista tavanomaisista hydroksyyli-

ryhmän suojausryhmistä, jotka ovat alalla hyvin tunnettuja ja tunnustettuja. Kulloistenkoikin suojausryhmien valinta ja käyttö on tuttua ammattimiehelle. Yleisesti ottaen tulisi valita suojausryhmiä, jotka suojaavat riittävästi hydrok-

5 syyliiryhmää myöhempien synteesivaiheiden aikana ja ovat helposti poistettavissa olosuhteissa, jotka eivät aiheuta halutun tuotteen hajoamista.

Tyypillisiä esimerkkejä soveltuvista hydroksyyli-

ryhmän suojausryhmistä ovat tetrahydropyranyyli-, metoksi-

10 metyyli-, t-butyylidimetyylisilyyli-, metoksietoksimetyyli-, asetoksi- jne. ryhmät. Edullinen suojausryhmä yhdisteen (2) 4-hydroksyyliiryhmää varten on 2-tetrahydropyranyyliiryhmä. Haluttaessa suojata yhdisteen (2) 4-hydroksyyliiryhmä 2-tetrahydropyranyyliiryhmällä voidaan yhdiste (2)

15 saattaa reagoimaan 3,4-dihydro-2H-pyranin kanssa trifluorietikkahapon läsnä ollessa, jolloin saadaan vastaava (1R,4S)-cis-1-asetoksi-4-(2-tetrahydropyranyylioksi)-2-syklopenteeni.

Vaiheessa b 4-hydroksisuojatun (1R,4S)-cis-1-asetoksi-2-sykloopen-4-olin (3) 1-asetoksiryhmä hydrolysoidaan ja tuloksena olevasta 1-hydroksyyliiryhmästä valmistetaan sopivan poistuvan ryhmän (L) sisältävä johdannainen, jolloin muodostuu vastaava 2-syklopenteenijohdannainen (4). Yhdisteen (3) 1-asetoksiryhmä hydrolysoidaan ensin emäksellä, kuten kaliumhydroksidilla, natriumhydroksidilla tai ammoniumhydroksidilla, metanolissa tai etanolissa. Siten muodostuneen hydrolysoidun johdannaisen 1-hydroksyyliiryhmästä valmistetaan sitten poistuvan ryhmän (L) sisältävä johdannainen. Kulloinkin käytettävä poistuva ryhmä voi

20 olla jokin monista tavanomaisista poistuvista ryhmistä, jotka ovat alalla hyvin tunnettuja ja tunnustettuja. Kulloistenkoikin poistuvien ryhmien valinta ja käyttö on tuttua ammattimiehelle. Yleisesti ottaen tulisi valita poistuva ryhmä, joka riittävästi helpottaa poistuvan ryhmän korva-

25 mista sopivalla nukleosidiemäs johdannaisella, niin että

30

35

saadaan tuote, jossa konfiguraatio on ennallaan. Tyypillisiä esimerkkejä sopivista poistuvista ryhmistä ovat tri-flaatti-, brosyyli-, tosyyli-, metaanisulfonyyli- tms. ryhmät. Edullinen poistuva ryhmä vaihetta b varten on meta-

5 taanisulfonyyliryhmä.

Jos esimerkiksi halutaan muuttaa 4-hydroksisuojaattu (1R,4S)-cis-1-asetoksi-2-syklopen-4-oli (3) vastaavaksi 4-hydroksisuojaatuksi (1R,4S)-cis-1-metaanisulfonyylioksi-2-syklopenten-4-oliksi, yhdiste (3) voidaan hydrolysoida

10 KOH:lla etanolissa ja eristää sitten tuloksena oleva vapaa alkoholi ja muuttaa se vastaavaksi 4-hydroksisuojaatuksi (1R,4S)-cis-1-metaanisulfonyylioksi-2-syklopenten-4-oliksi käsittelemällä metaanisulfonyylikloridilla trietyyliamiin-

15 nin läsnä ollessa.

Vaiheessa c 2-syklopenteenijohdannaiselle (4), jossa on poistuva ryhmä 1-asemassa ja suojattu hydroksyyli-ryhmä 4-asemassa, tehdään korvausreaktio käyttämällä haluttua nukleosidiemästä, jolloin saadaan vastaava 3-hydroksisuojaattu karbosyklinen nukleosidianalogi (5) konfiguraation säilyessä ennallaan. Haluttaessa esimerkiksi muutta-

20 taa 4-hydroksisuojaattu (1R,4S)-cis-1-metaanisulfonyylioksi-2-syklopenten-4-oli vastaavaksi 3-hydroksisuojaatuksi (1R,3S)-cis-1-(9-adenyyli)-4-syklopenten-3-oliksi voidaan metaanisulfonyylioksidijohdannainen käsitellä adeniinilla natriumhydridin läsnä ollessa.

25

Vaiheessa d 3-hydroksisuojaatusta karboksykliisestä nukleosidianalogista (5) poistetaan suojaus alalla tunnetuin ja tunnustetuin tavanomaisin menettelyin ja menetelmin, jolloin saadaan vastaava karbosyklinen nukleosidianalogi (6). 3-hydroksiryhmän ollessa esimerkiksi suojat-

30 tuna 2-tetrahydropyranyyliryhmällä voidaan 3-hydroksyyli-ryhmän suojausryhmä poistaa käsittelemällä hapolla, kuten vetykloridihapolla.

Vaiheessa e karbosyklinen nukleosidianalogi (6)

35 muutetaan vastaavaksi karbosyklikseksi adenosiinianalogiksi

(1a) katalyyttisellä hydrauksella, kuten käsittelemällä vedyllä PtO_2 :n läsnä ollessa.

Kaavan 1 mukaisia yhdisteitä voidaan vaihtoehtoisesti valmistaa seuraavalla lyhennetyllä versiolla reaktiokaaviosta A. (1R,4S)-cis-1-asetoksi-2-syklopen-4-olin reaktiivisesta 4-hydroksyyli ryhmästä voidaan valmistaa sopivan poistuvan ryhmän (L) sisältävä johdannainen reaktiokaavion A vaiheen b yhteydessä kuvatulla tavalla. Edullisin poistuva ryhmä tämän vaihtoehtoisen kaavion yhteydessä on mesylaattiryhmä. Siten muodostetulle 2-syklopenteenijohdannaiselle, jossa on asetoksiryhmä 1-asemassa ja poistuva ryhmä, kuten mesylaattiryhmä, 4-asemassa tehdään sitten korvausreaktio käyttämällä haluttua nukleosidiemästä, jolloin saadaan vastaava 3-hydroksisuojuattu karbosyklinen nukleosidianalogi (5) kaavion A vaiheen c yhteydessä kuvatulla tavalla. Kaavan 1 mukaisia yhdisteitä valmistetaan sitten kaavion A vaiheiden d ja e mukaisesti.

Seuraava esimerkki edustaa yhtä tyyppillistä kaaviossa A kuvatun kaltaista synteesiä. Tässä käytetyillä lyhenteillä on seuraavat merkitykset: "g" tarkoittaa grammoja; "mmol" millimoolia; "ml" millilitroja; "DMF" dimeityyliformamidia; "°C" celciusasteita; "mg" milligrammoja; "N" liuoksen normaalisuutta; "kPa" kilopaskaleita; "THF" tetrahydrofuraania.

Esimerkki 1

(1S,3R)-cis-1-(9-adenyyli)-3-hydroksisyklopentaanihydrokloridi

Vaihe a: (1R,4S)-cis-1-asetoksi-4-(2-tetrahydropyranylioksi)-2-syklopenteeni

(1R,4S)-cis-1-asetoksi-2-syklopenten-4-olin (1 g, 7,0 mmol) liuokseen dikloorimetaanissa (20 ml) lisätään sekoittaen 3,4-dihydro-2H-pyraania (0,6 g, 7,1 mmol) ja 5 pisaraa trifluorietikkahappoa. Seosta sekoitetaan 24 tuntia. Seos laimennetaan dikloorimetaanilla (50 ml) ja uutetaan kylläisellä natriumvetykarbonaattiliuoksella ja

sitten kylläisellä natriumkloridiliuoksella. Orgaaninen kerros kuivataan natriumsulfaatilla. Poistetaan liuotin alipaineessa, jolloin saadaan otsikon mukaista yhdistettä (1,58 g).

5 **Vaihe b: (1R,4S)-cis-1-metaanisulfonyylioksi-4-(2-tetrahydropyranyylioksi)-2-syklopenteeni**

Liutetaan (1R,4S)-cis-1-asetoksi-4-(2-tetrahydropyranyylioksi)-2-syklopenteeni (3,0 g, 13 mmol) absoluut-tiseen etanoliin (50 ml). Tähän liuokseen lisätään kalium-
10 hydroksidia (0,8 g, 14 mmol) ja sekoitetaan 3 tuntia. Seos väkevöidään, laitetaan silikageelikolonnille (10 g) ja eluoidaan etyyliasetaatin ja heksaanin seoksella suhteessa 1:1. Liuotin poistetaan, jolloin saadaan (1R,4S)-cis-4-(2-tetrahydropyranyylioksi)-2-syklopenten-1-olia värittömänä
15 öljynä (2,38 g).

(1R,4S)-cis-4-(2-tetrahydropyranyylioksi)-2-syklo-penten-1-oli (1,2 g, 6,6 mmol) liutetaan dikloorimetaa-niin (25 ml) ja lisätään tähän liuokseen metaanisulfonyy-likloridia (1,13 g, 9,9 mmol) ja trietyyliamiinia (0,93 g,
20 9,2 mmol). Reaktioseosta sekoitetaan 45 min, uutetaan sit-ten vedellä ja kylläisellä NaCl-liuoksella ja kuivataan orgaaninen kerros natriumsulfaatilla. Liuos väkevöidään, jolloin saadaan otsikon mukaista yhdistettä (1,62 g, saan-to 94 %) keltaisena öljynä.

25 **Vaihe c: (1R,3S)-cis-1-(9-adenyyli)-3-(2-tetrahydropyranyylioksi)-4-syklopenteeni**

Lisätään natriumhydridiä (80-%:ista, 0,57 g, 19,8 mmol) sekoittaen adeniinin (2,67 g, 19,8 mmol) sus-pensioon DMF:ssa (100 ml) lämpötilassa 60 °C. Kun seosta
30 on sekoitettu 3 tuntia lämpötilassa 60 °C, lisätään (1R,4S)-cis-1-metaanisulfonyylioksi-4-(2-tetrahydropyra-nyylioksi)-2-syklopenteeniä (1,62 g, 6,2 mmol) ja jatke-taan sekoitusta lämpötilassa 60 °C 1 tunti. Reaktioseos jäädytetään huoneenlämpötilaan ja sekoitetaan sitä yön
35 yli. Seuraavana päivänä reaktioseosta pidetään lämpötilas-

sa 60 °C 6 tuntia ja annetaan sen sitten jäähtyä huoneen-
lämpötilaan yön aikana. Poistetaan DMF alipaineessa ja
siirretään jäännös sekoittaen dikloorimetaanin ja veden
seokseen. Poistetaan orgaaninen kerros, uutetaan se kyl-
5 läisellä NaCl-liuoksella ja kuivataan sitten natriumsul-
faatilla. Poistetaan liuotin alipaineessa ja jäännös liuo-
tetaan dikloorimetaaniin. Liuos laitetaan silikageelipyl-
välle (10 g) ja eluoidaan dikloorimetaanin ja etanolin
seoksella (19:1), jolloin saadaan otsikon mukaista yhdis-
10 tettä (500 mg, saanto 26,7 %).

**Vaihe d: (1R,3S)-cis-1-(9-adenyyli)-3-hydroksi-4-
syklopenteenihydrokloridi**

Liuotetaan (1R,3S)-cis-1-(9-adenyyli)-3-(2-tetra-
hydropyranyylioksi)-4-syklopenteeni (0,5 g, 1,7 mmol) tis-
15 lattuun veteen (50 ml) ja 6 N vetykloridihappoon (1,5 ml).
Seosta sekoitetaan 12 tuntia huoneenlämpötilassa ja haih-
dutetaan se sitten kuiviin alipaineessa. Jäännös siirre-
tään etanoliin lisäten riittävästi ammoniumhydroksidia
liukenemisen aikaansaamiseksi ja lisätään sitten yhtä suu-
20 ri tilavuus dikloorimetaania (ammoniumkloridi saostuu).
Seos laitetaan silikageelipylväälle (50 g, 70 - 230 mes-
hiä) ja eluoidaan dikloorimetaanin ja metanolin seoksella
(4:1) ottaen otsikon mukainen yhdiste talteen 40 ml:n
fraktioina. Puhdasta materiaalia sisältävät fraktiot yh-
25 distetään ja haihdutetaan kuiviin. Jäännös liuotetaan eta-
noliin ja lisätään riittävästi 6 N HCl-liuosta pH:n säätä-
miseksi arvoon 1. Liuos haihdutetaan kuiviin, jolloin saa-
daan otsikon mukaista yhdistettä (230 mg, saanto 62 %).

**Vaihe e: (1S,3R)-cis-1-(9-adenyyli)-3-hydroksisyk-
30 lopentaanihydrokloridi**

Liuotetaan (1R,3S)-cis-1-(9-adenyyli)-3-hydroksi-4-
syklopenteenihydrokloridi (230 mg, 0,99 mmol) metanoliin
(25 ml) ja tislattuunveteen (75 ml). Lisätään platina(IV)-
oksidia (50 mg) ja hydrataan seosta vetypaineessa 207 kPa
35 3,5 tuntia. Seos suodatetaan seliittikerroksen läpi ja

haihdutetaan suodos kuiviin. Tuote liuotetaan metanoliin, laitetaan liuos silikageelille (20 g) ja eluoidaan dikloorimetaanin ja metanolin seoksella (9:1). Tuotetta sisältävät fraktiot haihdutetaan kuiviin ja liuotetaan jään-
5 nös metanoliin. Säädetään pH arvoon 1 käyttämällä 6 N HCl-liuosta. Haihdutetaan kuiviin, jolloin saadaan otsikon mukaista yhdistettä (210 mg, saanto 83 %).

$[\alpha]_{365} = +24,4^{\circ}$ (metanoli, 1,0 mg/ml)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO/TMS) $\delta = 8,7$ (s, 1 H), 8,5 (s, 1 H),
10 5,02 (m, 1 H), 4,3 (m, 1 H), 2,4 - 1,8 (m, 6 H).

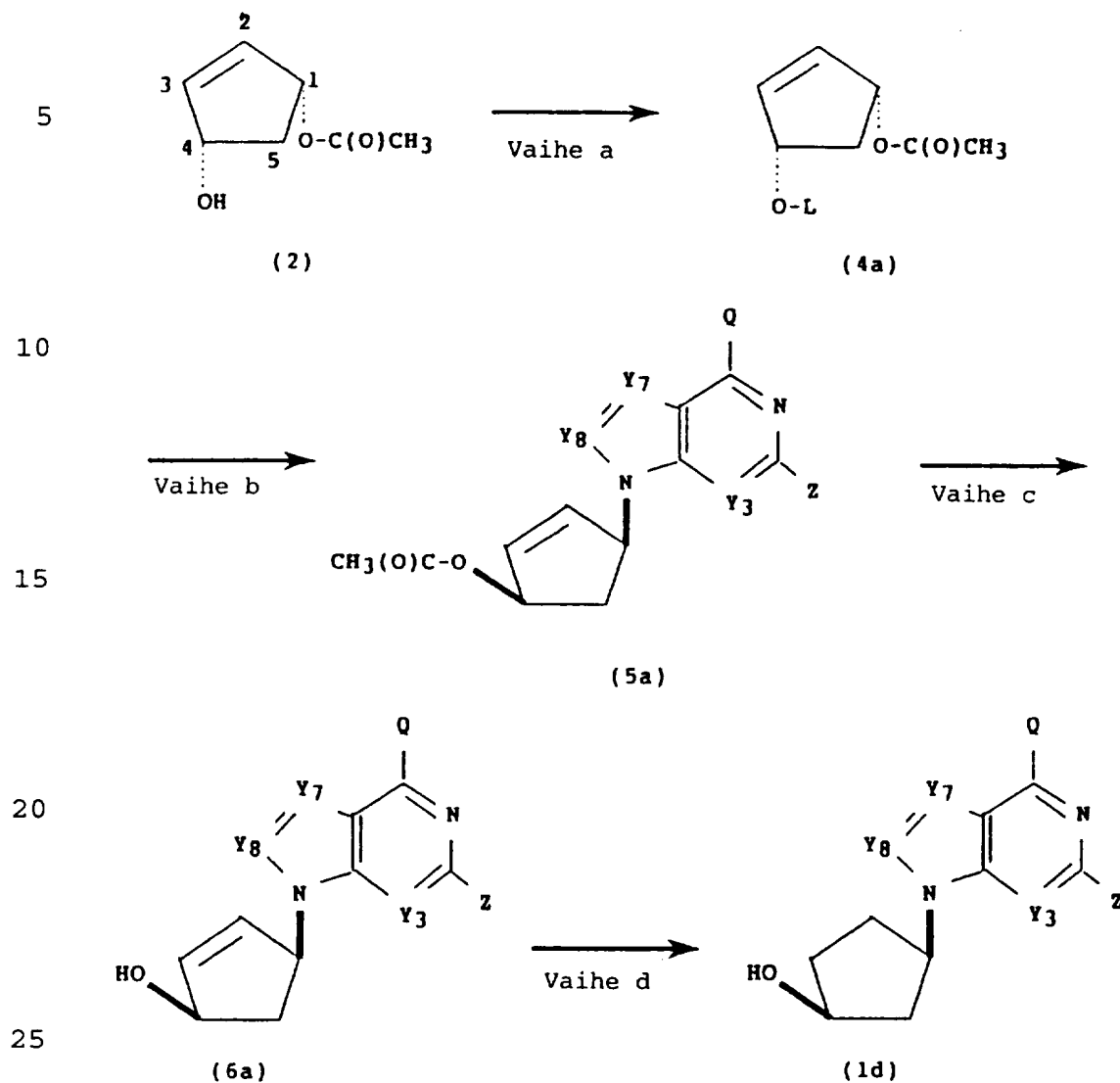
Seuraava yhdiste voidaan valmistaa edellä esimerkin 1 yhteydessä kuvattuja vastaavilla menettelyillä käyttämällä helposti saatavissa olevia lähtöaineita:

hydrokloridi; jolloin (1S,3R)-cis-1-[9-(3-deatsa-adenyyli)]-3-hydroksisysklopentaanilla on seuraavat tunnistetiedot: H-NMR (DMSO- d_6) δ 8,67 (s, 1H), 7,73 (d, 1H), 7,48 (d, 1H), 5,90 (m, 1H), 4,52 (m, 1H), 2,7 - 1,95 (m, 6H).
15

Haluttaessa yleisesti syntetisoida kaavan 1 mukaisen yhdisteiden vastaava (1R,3S)-enantiomeeri, voidaan
20 noudattaa edellä kuvatun kaltaisia menettelyjä, paitsi että välituotteen (2) 4-hydroksyyli ryhmän suojaamisen (jotta poistuva ryhmä voidaan liittää 1-asemaan astoksi-ryhmän hydrolysoinnin jälkeen) sijasta liitetään asianmukainen poistuva ryhmä 4-asemaan, jolloin 1-asemaan jää
25 1-asetoksi ryhmä tai muu asianmukainen suojausryhmä.

Reaktiokaaviossa B esitetään esimerkki yleisestä synteessimenettelystä kaavan 1 mukaisten yhdisteiden vastaavien (1R,3S)-enantiomeerien valmistamiseksi. Reaktiokaaviossa L on poistuva ryhmä, Z on H, Y_3 on N, Y_7 on N,
30 Y_8 on CH ja Q on NH_2 .

Reaktiokaavio B



Vaiheessa a valmistetaan (1R,4S)-cis-1-asetoksi-2-syklopenten-4-olin (2) 4-hydroksiryhmästä johdannainen käyttämällä sopivaa poistuvaa ryhmää (L) reaktiokaavion A yhteydessä kuvatuin menettelyin, jolloin muodostuu vastaava 2-syklopenteenijohdannainen (4a). Tyypillisiä esimerkkejä soveltuvista poistuvista ryhmistä ovat triflaatti-, brosyyli-, tosyyli- metaanisulfonyyli- tms. ryhmät. Edullinen poistuva ryhmä on metaanisulfonyyliryhmä.

Vaiheessa b 2-syklopenteenijohdannaiselle (4a), jossa on poistuva ryhmä 4-asemassa ja asetoksiryhmä 1-asemassa, tehdään korvausreaktio käyttämällä haluttua nukleosidiemästä, jolloin saadaan vastaava 1-asetoksisubstituoitu karbosyklinen nukleosidianalogi (5a) säilyttäen konfiguraatio ennallaan. Tämä reaktio voidaan toteuttaa reaktiokaaviossa A olleen korvausreaktion yhteydessä kuvatulla tavalla.

Vaiheessa c 1-asetoksisubstituoidun karbosyklisen nukleosidianalogin (5a) 1-asetoksiryhmä poistetaan alalla hyvin tunnetuin ja tunnustetuin tavanomaisin menettelyin ja menetelmin, jolloin saadaan vastaava tyydyttymätön karbosyklinen nukleosidianalogi (6a). 1-asetoksiryhmä voidaan poistaa esimerkiksi käsittelemällä emäksellä, kuten kaliumkarbonaatilla.

Vaiheessa d tyydyttymätön karbosyklinen nukleosidianalogi (6a) hydrataan alalla hyvin tunnetuin ja tunnustetuin tavanomaisin menettelyin ja menetelmin, jolloin saadaan vastaava karbosyklinen nukleosidianalogi (1d).

Seuraava esimerkki edustaa yhtä tyyppillistä reaktiokaaviossa B kuvattua synteesiä.

Esimerkki 2

(1R,3S)-cis-1-(9-adenyyli)-3-hydroksi-4-syklopentaanihydrokloridi

Vaihe a: (1S,4R)-cis-1-metaanisulfonyylioksi-4-asetoksi-2-syklopenteeni

Liuotetaan (1R,4S)-cis-1-asetoksi-2-syklopenten-4-oli (1,42 g, 10,0 mmol) dikloorimetaaniin (40 ml). Tähän liuokseen lisätään metaanisulfonyylikloridia (3,72 g, 30,0 mmol) ja trietyyliamiinia (3,63 g, 30,0 mmol) ja sekoitetaan 4,5 tuntia. Seos uutetaan peräkkäin vedellä ja kylläisellä NaCl-liuoksella. Orgaaninen kerros kuivataan natriumsulfaatilla. Liuos väkevöidään, jolloin saadaan otsikon mukaista yhdistettä keltaisena öljynä (2,09 g, 95 %), joka käytetään välittömästi seuraavaan reaktioon.

Vaihe b: (1S,3R)-cis-1-(9-adenyyli)-3-asetoksi-4-syklopenteeni

Adeniinin (4,1 g, 30,0 mmol) suspensioon dimetyyli-
formamidissa (850 ml) lisätään sekoittaen lämpötilassa
5 60 °C natriumhydridiä (60-%:ista, 1,0 g, 30,0 mmol). Kun
liuosta on sekoitettu 3 tuntia lämpötilassa 60 °C, lisä-
tään (1S,4R)-cis-1-metaanisulfonyylioksi-4-asetoksi-2-syk-
lopenteeni (2,09 g, 9,5 mmol) ja jatketaan sekoitusta läm-
pötilassa 60 °C 16 tuntia. Poistetaan dimetyyliformamidi
10 alipaineessa ja siirretään jäännös sekoittaen dikloorime-
taanin ja veden seokseen. Poistetaan orgaaninen kerros,
uutetaan kylläisellä NaCl-liuoksella ja kuivataan orgaani-
nen kerros natriumsulfaatilla. Poistetaan liuotin alipai-
neessa ja jäännös liuotetaan dikloorimetaaniin. Liuos lai-
tetaan silikageelipylväälle (40 g) ja eluoidaan trikloori-
15 rimetaanin ja metanolin seoksella (9:1), jolloin saadaan
otsikon mukaista yhdistettä (1,07 g, saanto 33 %).

Vaihe c: (1S,3R)-cis-1-(9-adenyyli)-3-hydroksi-4-syklopenteeni

20 Liuotetaan (1S,3R)-cis-1-(9-adenyyli)-3-asetoksi-4-
syklopenteeni (0,5 g, 1,7 mmol) metanoliin (25 ml) ja li-
sätään sitten 3 ml vettä ja sen jälkeen 600 mg K₂CO₃:a.
Seosta sekoitetaan 1 tunti huoneenlämpötilassa ja haihdu-
tetaan se sitten ykuiviin alipaineessa. Kiinteä aine siir-
25 retetään etanoliin K₂CO₃:n saostamiseksi ja suodatetaan seos.
Lisätään yhtä suuri määrä dikloorimetaania. Seos laitetaan
silikageelipylväälle (50 g, 70 - 230 meshiä) ja eluoidaan
trikloorimetaanin ja metanolin seoksella (4:1). Kerätään
fraktioita (40 ml) ja haihdutetaan puhdasta materiaalia
30 sisältävä fraktio kuiviin, jolloin saadaan otsikon mu-
kaista yhdistettä (257 mg, saanto 62 %).

Vaihe d: (1R,3S)-cis-1-(9-adenyyli)-3-hydroksi-4-syklopentaanihydrokloridi

35 Liuotetaan (1S,3R)-cis-1-(9-adenyyli)-3-hydroksi-4-
syklopenteeni (50 mg, 0,2 mmol) etanoliin (5 ml) ja tis-

lattuun veteen (15 ml). Tähän liuokseen lisätään 50 mg platina(IV)oksidia ja hydrataan seosta vetypaineessa 207 kPa 3,5 tuntia. Seos suodatetaan seliittikerroksen läpi ja suodos haihdutetaan kuiviin, jolloin saadaan otsikon mukaista yhdistettä (41 mg, saanto 82 %).

$$[\alpha]_{365} = -24^{\circ} \text{ (metanoli, 0,29 mg/ml)}$$

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO/TMS) δ = 8,7 (s, 1 H), 8,5 (s, 1 H), 5,02 (m, 1 H), 4,3 (m, 1 H), 2,4 - 1,8 (m, 6 H).

Kaavan 1 mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää immuunisuppression aikaansaamiseksi ja tarkemmin määriteltynä adaptiivisen immunitetin heikentämiseksi tällaisen heikennyksen tarpeessa olevassa potilaassa antamalla mainitulle potilaalle immuunisuppressiivisesti vaikuttava määrä kaavan 1 mukaista yhdistettä.

Tässä käytetty termi "potilas" tarkoittaa vaihtolämpöistä eläintä, kuten nisäkästä, joka potee sairautta, kuten autoimmuunisairautta tai hylkimissairautta tai on siirretyn allogenееisen kudoksen tai elimen hylkimisvaarassa. Ymmärrettäneen, että ihmiset, hiiret ja rotat kuuluvat termin "potilas" piiriin.

Kaavan 1 mukaisen yhdisteen anto potilaalle johtaa immuunisuppressiiviseen vaikutukseen potilaassa. Tarkemmin määriteltynä kaavan 1 mukaisen yhdisteen anto potilaalle johtaa adaptiivisen immunitetin heikkenemiseen potilaassa. Toisin sanoen hoitamalla potilasta kaavan 1 mukaisella yhdisteellä potilaan adaptiivinen immuunivaste estyy tai heikkenee ilman hoitoa esiintyvään vasteeseen nähden.

Potilaalla on tarve saada hoitoa immuunisuppressiivisella aineella, kuten kaavan 1 mukaisella yhdisteellä, kun potilaalla on autoimmuunisairaus tai "hylkimissairaus" tai halutaan estää sirrettyjen allogenееisten kudosten tai elinten hylkiminen. Termi "autoimmuunisairaus" tarkoittaa sairaustiloja ja tiloja, joissa potilaan immuunivaste kohdistuu potilaan omia rakenneseosia vastaan ja johtaa epätoivottavaan ja usein vaikeasti heikentävään tilaan.

Potilaat, joilla on autoimmuunisairauksia, kuten nivelreuma, insuliinista riippuva sokeritauti, tietyt hemolyyttiset anemiat, reumaattinen kuume, kilpirauhastulehdus, haavauttava paksusuolentulehdus, lihasheikkous, munaiskerästulehdus, allerginen aivo-selkäydintulehdus, etenevä hermo- ja maksatuho, joka joskus seuraa virushepatiittia, pesäkekovettumatauti tai systeeminen punahukka, tarvitsevat hoitoa immuunisuppressiivisella aineella, kuten kaavan 1 mukaisella yhdisteellä. Nivelreumaa, insuliinista riippuvaa sokeritautia ja pesäkekovettumatautia luonnehditaan seuraukseksi soluvälitteisestä autoimmuunivasteesta, ja ne näyttävät aiheutuvan T-solujen toiminnasta. Lihasheikkoutta ja systeemistä punahukkaa luonnehditaan seuraukseksi humoraalisesta autoimmuunivasteesta. Siten näitä tauteja sairastavien potilaiden hoito antamalla kaavan 1 mukaista yhdistettä on erityisen tehokasta lisä-
15 tuhojen tai potilaan tilan heikkenemisen estämiseksi. Potilaan hoitaminen autoimmuunisairauden, kuten nivelreuman, insuliinista riippuvan sokeritaudin, pesäkekovettumataudin, lihasheikkouden tai systeemisen punahukan, varhais-
20 sessa vaiheessa olisi erityisen tehokasta estämään sairaustilan paheneminen vakavammaksi tilaksi. Insuliinista riippuva sokeritauti (IDDM) on esimerkiksi autoimmuunisairaus, jonka otaksutaan olevan seurausta Langerhansin saarekkeiden insuliinia erittäviin β -soluihin kohdistuvasta autoimmuunireaktiosta. IDDM:n varhaisvaihetta sairastavan potilaan hoitaminen ennen Langerhansin saarekkeiden β -solujen täydellistä tuhoutumista olisi erityisen hyödyllistä sairauden etenemisen estämiseksi, sillä siten estettäisiin
25 jäljellä olevien insuliinia erittävien β -solujen tuhoutumisen eteneminen. Ymmärrettäneen, että varhaisvaiheessa olevia muita autoimmuunitauteja sairastavan potilaan hoitaminen olisi myös hyödyllistä, jotta estetään sairaustilan luonnollinen eteneminen vakavampiin vaiheisiin.
30

Potilaat, jotka ovat saaneet tai pian saavat allo-
geneeisen kudos- tai elinsiirteen, kuten allogeneeisen
munuaisen, maksan, sydämen, ihoa tai luuydintä, ovat myös
potilaita, joilla on tarve saada profylaktista hoitoa im-
muunisuppressiivisella aineella, kuten kaavan 1 mukaisella
yhdisteellä. Immuunisuppressiivinen aine estää vastaanot-
tajan adaptiivista immuunivastetta hylkimästä luovuttajan
allogeneeista kudosta tai elintä. Samoin "hylkimis-
sairaudesta" kärsivät potilaat tarvitsevat hoitoa immu-
nisuppressiivisella aineella, kuten kaavan 1 mukaisella
yhdisteellä. Immuunisuppressiivinen aine estää siirretyn
kudoksen tai elimen adaptiivista immuunivastetta hylkimäs-
tä vastaanottajan allogeneeista kudosta tai elintä.

Hoitava diagnostikko pystyy tavanomaisten kliinis-
ten ja laboratoriotestien ja -menettelyjen perusteella am-
mattimiehenä helposti tunnistamaan potilaat, joita on tar-
ve hoitaa immuunisuppressiivisella aineella, kuten kaavan
1 mukaisella yhdisteellä.

Immuunisuppressiivisesti vaikuttava määrä kaavan 1
mukaista yhdistettä on määrä, joka yhden tai useamman po-
tilaalle annetun annoksen jälkeen saa aikaan immuuni-
suppressiivisen vaikutuksen tai tarkemmin määriteltynä
adaptiivisen immuunivasteen heikkenemisen. Immuunisuppres-
siivinen vaikutus tarkoittaa adaptiivisen immuunivasteen
ilmenemisen jatkumisen hidastamista, keskeyttämistä, inhi-
bointia tai estämistä.

Hoitava diagnostikko pystyy ammattimiehenä helposti
määrittämään immuunisuppressiivisesti vaikuttavan määrän
kaavan 1 mukaista yhdistettä käyttämällä tunnettuja mene-
telmiä ja tekemällä havaintoja vastaavissa olosuhteissa
saaduista tuloksista. Määrittäessään vaikuttavaa määrää
tai annosta hoitava diagnostikko ottaa huomioon lukuisia
tekijöitä, mukaan luettuina, mainittuihin kuitenkin ra-
joittumatta, nisäkäslaji, sen koko, ikä ja yleinen tervey-
dentila; kyseessä oleva sairaus; sairauden aste, levinnei-

5 syys tai vakavuus; kyseisen potilaan vaste; kulloinkin annettava yhdiste; antotapa; annettavan valmisteen hyötyosuusominaisuudet; valittu annostusohjelma; samanaikaisen muun lääkityksen käyttö; ja muut asiaan vaikuttavat olosuhteet.

Immuunisuppressiivisesti vaikuttavan määrän kaavan 1 mukaista yhdistettä odotetaan vaihtelevan suunnilleen alueella 0,1 - 500 mg/painokilo vuorokaudessa. Edullisten määrien odotetaan vaihtelevan suunnilleen alueella 1 - 10 50 mg/kg vuorokaudessa.

Hoidettaessa potilasta, kaavan 1 mukaista yhdistettä voidaan antaa missä tahansa muodossa tai millä tahansa tavalla, joka tekee vaikuttavasta määrästä yhdistettä biologisesti hyödynnettävissä olevan, mukaan luettuina oraalinen ja parenteraalinen antoreitti. Kaavan 1 mukaisia yhdisteitä voidaan antaa esimerkiksi suun kautta, ihonalaisesti, lihaksensisäisesti, laskimonsisäisesti, transdermaalaisesti, nenänsisäisesti, rektaalisesti tms. Oraalinen anto on yleensä edullista. Formlointialan ammattimies pystyy helposti valitsemaan asianmukaisen antomuodon ja -tavan valitun yhdisteen erityisominaisuuksien, hoidettavan sairaustilan, sairauden vaiheen ja muiden asiaan vaikuttavien olosuhteiden mukaan.

Yhdisteitä voidaan antaa yksinään tai farmaseuttisen koostumuksen muodossa yhdistettyinä farmaseuttisesti hyväksyttäviin kantaja- tai jatkeaineisiin, joiden osuuden ja luonteen määräävät valitun yhdisteen liukoisuus ja kemialliset ominaisuudet, valittu antotapa ja tavanomainen farmaseuttinen käytäntö. Samalla kun keksinnön mukaisesti 30 saatavat yhdisteet ovat itsessään tehokkaita, niitä voidaan formuloida farmaseuttisesti hyväksyttävien happoadditiosuolojensa muotoon ja antaa siinä muodossa stabiiliuden, kiteytymisen helpottumisen, parantuneen liukoisuuden tms. aikaansaamiseksi.

Koostumukset, jotka käsittävät kaavan 1 mukaista yhdistettä sekoitettuna tai muulla tavalla yhdistettynä yhteen tai useampaan inerttiin kantaja-aineeseen, ovat käyttökelpoisia esimerkiksi määritysstandardeina, käteväinä
5 keinona kuljettaa suuria määriä tai farmaseuttisina koostumuksina. Määritettävissä oleva määrä kaavan 1 mukaista yhdistettä on määrä, joka on helposti mitattavissa alalla hyvin tunnetuin ja tunnustetuin tavanomaisin määritysmenettelyin ja -menetelmin. Määriteltävissä olevat määrät
10 kaavan 1 mukaista yhdistettä vaihtelevat yleensä suunnitteen alueella 0,001 - 75 paino-% koostumuksesta. Inertti kantaja voi olla mikä tahansa materiaali, joka ei hajota kaavan 1 mukaista yhdistettä tai muulla tavalla reagoi kovalenttisesti sen kanssa. Esimerkkejä soveltuvista inerteistä kantajista ovat vesi; vesipohjaiset puskuriliuokset, kuten liuokset, jotka ovat yleensä käyttökelpoisia HPLC-analyysissä; orgaaniset liuottimet, kuten asetonitriili, etyyliasetaatti, heksaani tms.; ja farmaseuttisesti hyväksyttävät kantaja- tai jatkeaineet.

20 Farmaseuttisia koostumuksia, jotka sisältävät immunisuppressiivisesti vaikuttavan määrä kaavan 1 mukaista yhdistettä sekoitettuna tai muulla tavalla yhdistettynä yhteen tai useampaan farmaseuttisesti hyväksyttävään kantaja- tai jatkeaineeseen, valmistetaan farmasia-alalla hyvin tunnetulla tavalla. Kantaja- tai jatkeaine voi olla kiinteä, puolikiinteä tai nestemäinen aine, joka voi toimia aktiivisen aineosan vehikkelinä tai väliaineena. Soveltuvat kantaja- ja jatkeaineet ovat alalla hyvin tunnettuja. Farmaseuttinen koostumus voidaan tehdä sopivaksi
25 oraaliseen tai parenteraaliseen käyttöön, paikallinen käyttö mukaan luettuna, ja sitä voidaan antaa potilaalle tablettien, kapsleiden, peräpuikkojen, liuosten, suspensioiden tms. muodossa.

35 Tämän keksinnön mukaisesti saatavia yhdisteitä voidaan antaa oraalisesti esimerkiksi yhdessä inertin laimen-

nusaineen tai syötävän kantaja-aineen kanssa. Niitä voidaan pakata gelatiinikapseleihin tai puristaa tableteiksi. Oraalista terapeutista antoa varten yhdisteitä voidaan sekoittaa jatkeaineisiin ja käyttää tablettien, rakeiden, kapsелеiden, eliksiirien, suspensioiden, siirappien, keksien, purukumien tms. muodossa. Näiden valmistesten tulisi sisältää vähintään 4 % keksinnön mukaisesti saatavaa yhdistettä eli aktiivista aineosaa, mutta osuus voi vaihdella kulloisenkin muodon mukaan ja voi hyvin olla noin 4 - 70 paino-% yksiköstä. Koostumuksissa läsnä olevan yhdisteen määrä on sellainen, että saadaan aikaan sopiva annostus. Edullisia koostumuksia ja valmisteita valmistetaan sillä tavalla, että oraalinen annostusyksikkö sisältää 5,0 - 300 mg tämän keksinnön mukaisesti saatavaa yhdistettä.

Tabletit, pillerit, kapselit, rakeet tms. voivat sisältää myös yhtä tai useampaa seuraavista apuaineista: sideaineet, kuten mikrokiteinen selluloosa, traganttikumi tai gelatiini; jatkeaineet, kuten tärkkelys tai laktoosi, hajoamista edistävät aineet, kuten algiinihappo, Primogel, maissitärkkelys tms.; voiteluaineet, kuten magnesiumstearaatti tai Sterotex; liukuaineet, kuten kolloidinen piidioksidi; myös makeutusaineita, kuten sakkaroosia tai sakaariinia, tai makuaineita, kuten piparminttua, metyyylisalisylaattia tai appelsiiniaromia, voidaan lisätä. Kun annostusyksikkö on kapseli, se voi sisältää edellä esitettyä tyyppiä olevien materiaalien lisäksi nestemäistä kantajaainetta, kuten polyetyleeniglykolia tai rasvahappoöljyä. Muut annostusyksikkömuodot voivat sisältää esimerkiksi päällysteinä muita erilaisia aineita, jotka muuntavat annostusyksikön fysikaalista muotoa. Niinpä tabletit tai pillerit voidaan päällystää sokerilla, sellakalla tai muilla enteerisillä päällystysaineilla. Siirappi voi sisältää keksinnön mukaisesti saatavien yhdisteiden lisäksi sakkaroosia makeutusaineena ja tiettyjä säilytettä, väre-

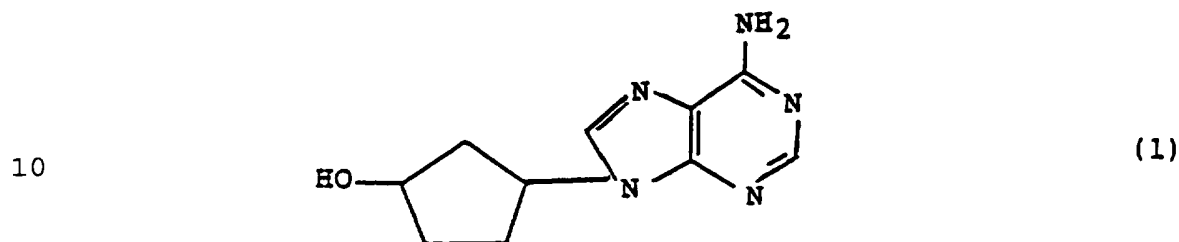
jä ja värjäysaineita ja mausteita. Näiden erilaisten koostumusten valmistuksessa käytettävien materiaalien tulisi olla farmaseuttisesti puhtaita ja myrkyttömiä käytettyinä määrinä.

5 Parenteraalista terapeutista antoa varten, paikallinen anto mukaan luettuna, keksinnön mukaisesti saatavia yhdisteitä voidaan sisällyttää liuokseen tai suspensioon. Näiden valmisteiden tulisi sisältää vähintään 0,1 % keksinnön mukaisesti saatavaa yhdistettä, mutta osuus voi
10 vaihdella suunnilleen alueella 0,1 - 50 paino-%. Tällaisissa koostumuksissa läsnä olevan keksinnön mukaisesti saatavan yhdisteen määrä on sellainen, että saadaan aikaan sopiva annostus. Edullisia koostumuksia ja valmisteita valmistetaan siten, että parenteraalinen annostusyksikkö
15 sisältää 5,0 - 100 mg keksinnön mukaisesti saatavaa yhdistettä.

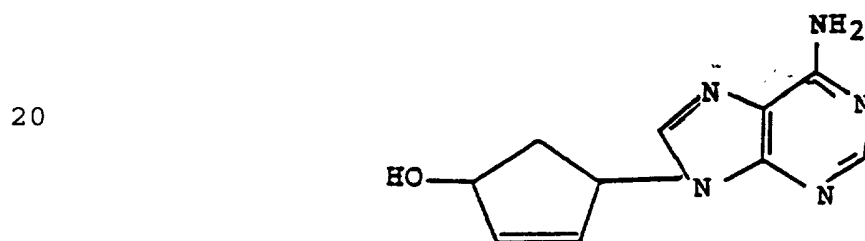
 Liuokset tai suspensiot voivat sisältää yhtä tai useampaa seuraavista apuaineista: steriilit laimennusaineet, kuten injektiovesi, fysiologinen suolaliuos, rasvaöljyt, polyetyleeniglykolit, glyseriini, propyleeniglykoli
20 tai muut synteettiset liuottimet; antibakteeriset aineet, kuten bentsyylialkoholi tai metyyliparabeeni; hapettumisenestoaineet, kuten askorbiinihappo tai natriumvetysulfiiitti; kelaatinmuodostajat, kuten etyleenidiamiinitetra-
25 etikkahappo; puskurit, kuten asetaatit, sitraatit tai fosfaatit; ja toonisuuden säätöön soveltuvat aineet, kuten natriumkloridi tai dekstroosi. Parenteraalinen valmiste voidaan pakata ampulleihin, kertakäyttöruiskuihin tai lasista tai muovista valmistettuihin moniannospulloihin.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä uuden, terapeuttisesti käyttökelpoisen yhdisteen tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistamiseksi, jolla yhdisteellä on kaava 1



jossa syklopentanyylirenkaan hydroksyyli substituentti on cis-konfiguraatiossa suhteessa bisykliseen substituenttiin, t u n n e t t u siitä, että hydrataan katalyyttisesti vastaava syklopentenyylijohdannainen, jolla on kaava



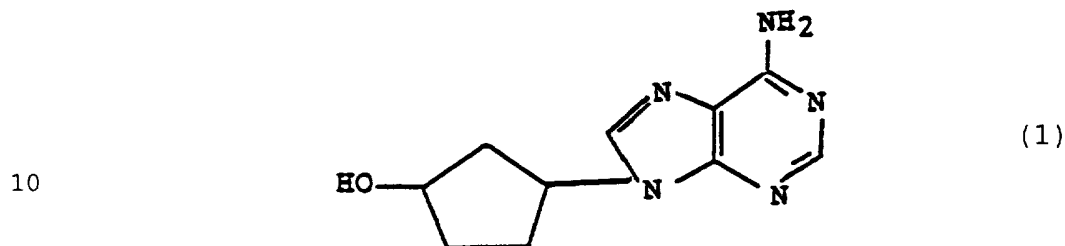
25 2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että katalyyttinen hydraus tehdään PtO_2 :n läsnä ollessa.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan (1S,3R)-cis-1-(9-adenyyli)-3-hydroksisyklopentaani.

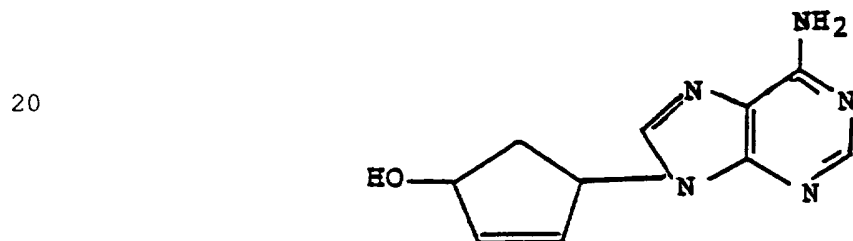
30 4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan (1R,3S)-cis-1-(9-adenyyli)-3-hydroksisyklopentaani.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av en ny, terapeutiskt användbar förening eller ett farmaceutiskt godtagbart salt därav, vilken förening har formeln 1



vari hydroxisubstituenten i cyklopentanylringen står i cis-konfiguration i förhållande till den bicykliska substituenten, k ä n n e t e c k n a t därav, att man katalytiskt hydrerar det motsvarande cyklopentenylderivatet med formeln



25 2. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att den katalytiska hydreringen utförs i närvaro av PtO_2 .

3. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att man framställer (1S,3R)-cis-1-(9-adenyl)-3-hydroxicyklopentan.

30 4. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att man framställer (1R,3S)-cis-1-(9-adenyl)-3-hydroxicyklopentan.