(19) SUOMI - FINLAND
(FI)

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

(10) **FI 924779 A7**

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

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 924779

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification
C07C255/23
C07C255/60

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **21.10.1992**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **21.10.1992**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **24.04.1993**

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

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

23.10.1991 DE 4134934

(71) Hakija - Sökande - Applicant

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

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • **Schleyerbach, Rudolf,** Hofheim, SAKSA, (DE)
2 • **Bartlett, Robert Ryder,** BRD, SAKSA, (DE)
3 • **Kuo, Elisabeth Anne,** Wiltshire SN3 5PH, ISO-BRITANNIA, (GB)
4 • **Little, Edward James,** United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

N-fenyyli-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidijohdannaiset ja niiden käyttö lääkeaineina, joilla on immunomoduloiva ominaisuus

N-fenyl-2-cyano-3-hydroxikrotonsyraamidderivat och användning av dessasom läkemedel med en immunomodulerande egenskap

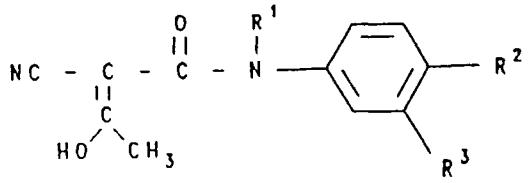
N-fenyyli-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidijohdannaiset ja niiden käyttö lääkeaineina, joilla on immunomoduloiva ominaisuus

US-patenttijulkaisussa 4 061 767 kuvataan hydroksietylideenisyanetikkahappoamideja, joilla on antiflogistinen ja analgeettinen vaikutus.

N-(4-trifluorimetyylifenyyli)-2-syan-3-hydroksikrotonihappoamidin käyttö kroonisten Graft-versus-Host-reaktioiden ja systeemisen lupus erythematosus-taudin hoidossa käytettävinä lääkeaineina tunnetaan (EP-A 0 219 206).

Nyt tarvittaisiin lääkeaineita, joilla on tulehdusta estävä vaikutus sekä hyvä immunopatologisiin prosesseihin kohdistuva vaikutus, ja jotka edullisemman vaikutusprofiilinsa johdosta eroavat tunnetuista lääkeaineista toisaalta paremman siedettävyyden johdosta ja koska niiden vaikutusaika elimistössä on edullisempi ja toisaalta, koska ne vaikuttavat tulehdusprosesseihin enemmän syyhyn kohdistuen. Menestystä lupaavia edellytyksiä tälle tarjoavat sellaiset lääkeaineet, jotka eliminoivat tehokkaasti tulehduksellisten leukotrieenien liiallisen muodostuksen ja jotka inaktivoivat erittäin reaktiokykyiset happiradikaalit, jotka ylläpitävät tulehdusten välittäjinä jatkuvaa solujen ja kudosten tuhoutumista tulehduksellisissa reumaattisissa nivelissä ja/tai normalisoivat häiriintynyttä immuunijärjestelmää.

Yllättäen todetaan N-fenyyli-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidijohdannaisilla, joilla on kaava I

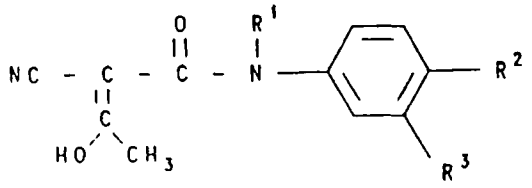


(I)

farmakologisia ominaisuuksia, jotka täyttävät aikaisemmin asetetut vaatimukset ja tämän mukaisesti soveltuvat erinomaisesti esimerkiksi reumasairauksien, autoimmuunisairauksien tai elimen vastaanottajan siirrettyä elintä vastaan kohdistuvien hylkimisreaktioiden hoitoon.

Keksinnön mukaiset yhdisteet vaikuttavat edullisesti häiriintyneeseen immuunijärjestelmään, mikä voidaan osoittaa estämällä Arthus-reaktio ja normalisoimalla heikentynyt immuuniaktiviteetti Freundin adjuvantilla aikaansaadun artriitin eli niveltulehduksen patologisissa malleissa. Edelleen ne osallistuvat lyhyemmän ajan hoidettavan elimistön aineenvaihduntaan.

Keksintö koskee tämän johdosta vähintään yhden kaavan I mukaisen N-fenyyli-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidin



(I)

ja/tai vähintään yhden sen fysiologisesti käytettävän suolan käyttöä,

jolloin

R^1 on:

a) vetyatomi tai

b) (C_{1-4})alkyyli, suoraketjuinen tai haarautunut,

R^2 on seuraavasta ryhmästä peräisin oleva ryhmä:

a) $W(CH_2)_nCX_3$,

W on:

1) happiatomi tai

2) rikkiatomi,

X on halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi,

n on kokonaisluku 1 - 3,

b) WCX_3,

c) CX_3,

d) $(CH_2)_nCX_3$,

e) halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi,

f) CN tai

g) NO_2,

R^3 on seuraavasta ryhmästä peräisin oleva ryhmä:

a) (C_{1-4})alkyyli, suoraketjuinen tai haarautunut,

b) (C_{3-6})sykloalkyyli,

c) CN tai

d) $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R^4$

R^4 on:

1) vetyatomi,

2) (C_{1-4})alkyyli, suoraketjuinen tai haarautunut tai

3) (C_{3-6})sykloalkyyli,

reumasairauksien, autoimmuunisairauksien tai elimen vastaanottajan siirrettyä elintä vastaan kohdistuvien hylkimisreaktioiden hoidossa käytettävien lääkeaineiden valmistamiseksi.

Edullisesti käytetään vähintään yhtä kaavan I mukaista N-fenyyli-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidia ja/tai vähintään yhtä sen fysiologisesti käytettävää suolaa, jolloin

R^1 on vetyatomi,

R^2 on seuraavasta ryhmästä peräisin oleva ryhmä:

a) CN,

b) halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi,

c) CX_3,

X on halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi, tai

d) NO_2,

R^3 on seuraavasta ryhmästä peräisin oleva ryhmä:

a) $-CH_3$,

b) -CN tai

c) $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-H$.

Erityisesti käytetään seuraavia kaavan I mukaisia yhdisteitä ja/tai niiden fysiologisesti käytettäviä suoloja:

N-(3-metyyli-4-nitrofenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi,

N-(3-metyyli-4-syaanifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi,

N-(3-metyyli-4-fluorifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi,

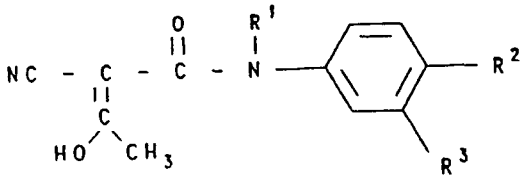
N-(3-metyyli-4-kloorifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi,

N-(3-metyyli-4-jodifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi tai

N-(3-metyyli-4-trifluorimetyylifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi.

Kaavan I mukaisten N-fenyyli-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidien tarkoitukseen soveltuvia fysiologisesti käytettäviä suoloja ovat esimerkiksi alkali-, maa-alkali- tai ammoniumsuolat, mukaan lukien fysiologisesti käytettävien orgaanisten ammoniumemästen suolat.

Keksintö koskee edelleen uusia N-fenyyli-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamideja, joilla on kaava I



(I)

ja/tai vähintään yhtä niiden fysiologisesti käytettävistä suoloista, jolloin

R^1 on:

a) vetyatomi tai

b) (C_{1-4})alkyyli, suoraketjuinen tai haarautunut,

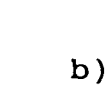
R^2 on seuraavasta ryhmästä peräisin oleva ryhmä:

a) $W(CH_2)_nCX_3$,

W on:
1) happiatomi tai
2) rikkiatomi,
X on halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi,
n on kokonaisluku 1 - 3,
b) WCX_3,
c) CX_3,
d) $(CH_2)_nCX_3$,
e) halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi,
f) CN tai
g) NO_2,
R^3 on (C_{3-6})sykloalkyyli tai

R^4 on:
1) vetyatomi,
2) (C_{1-4})alkyyli, suoraketjuinen tai haarautunut tai
3) (C_{3-6})sykloalkyyli.

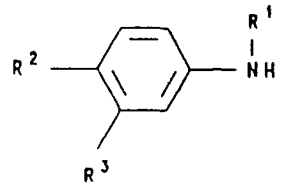
Edullisina pidetään kaavan I mukaisia N-fenyyli-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamideja ja/tai vähintään yhtä niiden fysiologisesti käytettävistä suoloista, jolloin
R^1 on vetyatomi,
R^2 on seuraavasta ryhmästä peräisin oleva ryhmä:
a) CN,
b) halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi,
c) CX_3,
X on halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi, tai
d) NO_2,
R^3 on:
a) syklopropyyli tai



R^4 on syklopropyyli.

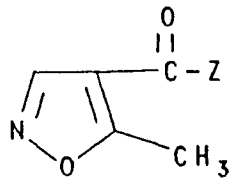
Kaavan I mukaisia N-fenyyli-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidijohdannaisia voidaan valmistaa esimerkiksi seuraavan menetelmän mukaisesti:

Yhdisteen, jolla on kaava II,



(II)

annetaan reagoida yhdisteen kanssa, jolla on kaava III,



(III)

jolloin Z on halogeeniatomi, edullisesti kloori tai bromi ja R^1, R^2 ja R^3 merkitsevät samaa kuin kaavassa I, ja saadun yhdisteen annetaan reagoida emäksisen aineen läsnä ollessa vastaavaksi kaavan I mukaiseksi yhdisteeksi.

Edellä mainitut kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi tapahtuvat reaktiot suoritetaan standardiolosuhteissa tunnetulla tavalla (US 4 061 767; EP-A 0 217 206).

Keksinnön mukaiset, kaavan I mukaiset yhdisteet ja niiden vastaavat suolat soveltuvat arvokkaiden farmakologisten ominaisuuksiensa johdosta niiden siedettävyyden ollessa samanaikaisesti erinomainen, erityisesti käytettäviksi vaikuttavina aineina tulehduksellisten reumasairauksien hoidossa käytettävissä lääkeaineissa. Niitä voidaan annostella joko yksinään, esimerkiksi mikrokapseleina, seoksina keskenään tai yhdistelmänä sopivien apu- ja/tai kantaja-aineiden kanssa.

Esillä oleva keksintö koskee edelleen vähintään yhden kaavan I mukaisen N-fenyyli-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidin ja/tai vähintään yhden sen fysiologisesti käytettävän suolan käyttöä autoimmuunisairauksien, esimerkiksi systeemisen lupus erythematosus-taudin tai kroonisten Graft-versus-Host-reaktioiden (kudossiirrännäisen rea-

goiminen isäntäelimistöä vastaan) tai elimen vastaanottajan siirrettyä elintä vastaan kohdistuvien hylkimisreaktioiden hoidossa käytettävien lääkeaineiden valmistamiseksi.

Käsitteellä elin tarkoitetaan kaikkia elimiä nisäkkäillä, erityisesti ihmisellä, esimerkiksi munuaisia, sydäntä, ihoa, maksaa, haimaa, lihaksia, luita, suolia tai mahalaukkua, mutta myös verta tai hiuksia. Hylkimisreaktiolla tarkoitetaan kaikkia vastaanottajaelimistön torjuntareaktioita, jotka viime kädessä johtavat siirretyn elimen solujen tai kudosten tuhoutumiseen tai, jotka haittaavat siirretyn elimen elinkykyisyyttä. Annostelu tapahtuu ennen elinsiirtoa, sen aikana tai sen jälkeen vastaanottajalla ja/tai luovuttajalla.

Keksinnön kohteena ovat täten myös lääkeaineet, jotka koostuvat vähintään yhdestä kaavan I mukaisesta N-fenyyli-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidista ja/tai vähintään yhdestä sen vastaavasta happoadditiosuolasta tai, jotka sisältävät vähintään yhtä näistä vaikuttavista aineista farmaseuttisesti sopivien ja fysiologisesti käytettävien kantaja-aineiden, laimennusaineiden ja/tai muiden apuaineiden ohella.

Keksinnön mukaisia lääkeaineita voidaan annostella suun kautta, paikallisesti, rektaalisesti eli peräsuolen kautta tai mahdollisesti myös parenteraalisesti, jolloin suun kautta tapahtuvaa annostelua pidetään edullisena.

Sopivia kiinteitä tai nestemäisiä galeenisia valmistemuotoja ovat esimerkiksi rakeet, jauheet, lääkerakeet, tabletit, (mikro)kapselit, peräpuikot, siirapit, lääkemehut, suspensiot, emulsiot, tipat tai injisoitavat liuokset sekä valmisteet, joissa vaikuttava aine vapautuu hidastetusti; niiden valmistuksessa käytetään tavanomaisia apuaineita, kuten kantaja-aineita, hajotus-, side-, päällystys-, turvotus-, liuku- tai voiteluaineita, makua parantavia aineita, makeutusaineita tai liukenemista edistäviä aineita. Usein käytettyinä apuaineina mainittakoon

esim. magnesiumkarbonaatti, titaanidioksidi, laktoosi, mannitoli ja muut sokerit, talkki, maidonvalkuainen, gelatiinit, tärkkelys, selluloosa ja sen johdannaiset, eläin- ja kasvisöljyt, polyetyleeniglykolit ja liuottimet, kuten esim. steriili vesi ja yhden tai useamman arvoiset alkoholit, esim. glyseroli.

Farmaseuttiset valmisteet valmistetaan ja annostellaan edullisesti annostusyksikköinä, jolloin jokainen yksikkö sisältää aktiivisena aineosana määrätyn annoksen vähintään yhtä kaavan I mukaista yhdistettä ja/tai vähintään yhtä vastaavaa happoadditiosuolaa. Kiinteissä annostusyksiköissä, kuten tableteissa, kapseleissa, lääkerakeissa, tai peräpuikoissa tämä annos voi olla korkeintaan noin 300 mg, edullisesti kuitenkin noin 100 - 200 mg.

Hoidettaessa tulehduksellisia reumatauteja sairastavia aikuispotilaita, päivittäiset annokset ovat suun kautta tapahtuvassa annostelussa - kulloinkin aina riippuen kaavan I mukaisten yhdisteiden ja/tai vastaavien suolojen vaikutuksesta ihmisellä - noin 5 - 300 mg vaikuttavaa ainetta, edullisesti noin 25 - 100 mg. Tietyissä tapauksissa voidaan kuitenkin käyttää myös suurempia tai pienempiä päivittäisiä annoksia. Päiväannoksen annostelu voi tapahtua sekä kerta-antona yhtenä ainoana annostusyksikkönä tai myös useampana pienempänä annostusyksikkönä sekä myös useampana jaettuna kerta-annoksena määrätyin aikavälein.

Lopuksi kaavan I mukaiset yhdisteet ja vastaavat happoadditiosuolat voidaan formuloida edellä mainittujen galeenisten valmistemuotojen valmistuksessa myös yhdessä muiden tarkoitukseen soveltuvien vaikuttavien aineiden, esimerkiksi antiurikopaattisten aineiden, trombosyyttien aggregaatiota eli verihiutaleiden toisiinsa takertumista ehkäisevien aineiden, analgeettien eli kipua poistavien lääkeaineiden ja muiden steroidisten tai ei-steroidisten

antiflogististen eli tulehdusta rauhoittavien aineiden kanssa.

Seuraavassa kuvattujen yhdisteiden rakenne varmistettiin alkuaineanalyysillä ja IR- sekä ^{1}H-NMR-spektreillä.

Esimerkki 1

N-(3-metyyli-4-nitrofenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi

Syanetikkahappoa (1,5 g; 17,6 mmol) ja fosforipentakloridia (4,1 g; 19,4 mmol) kuumennetaan dikloorimetaanissa (40 ml) paluujäähdyttäen 1 tunnin ajan. Sitten lisätään 3-metyyli-4-nitroaniliinia (1,6 g; 10,6 mmol) ja kuumennetaan edelleen toinen tunti paluujäähdytysolosuhteissa. Jäähdyttämisen jälkeen kiinteä aine suodatetaan, sekoitetaan veden kanssa edelleen tunnin ajan, suodatetaan ja suodos haihdutetaan kuiviin alennetussa paineessa. Näin saadaan 2-syaani-N-(3-metyyli-4-nitrofenyyli)-asetamidi (1,4 g; 64%).

2-syaani-N-(3-metyyli-4-nitrofenyyli)-asetamidi (0,61 g; 2,8 mmol) liuotetaan tetrahydrofuraaniin (30 ml) ja sitten lisätään natriumhydridiä (80-%:inen dispersio öljyssä; 0,21 g; 7 mmol). Tämän jälkeen sekoitetaan 25 °C:ssa 15 minuuttia ja lisätään tipoittain 5 minuutin sisällä 1-asetyyli-imidatsolia (0,46 g; 4,2 mmol) ja sekoitetaan edelleen 15 minuuttia. Sitten lisätään 2 ml jääetikkaa ja sekoitetaan 25 °C:ssa 1 tunti ja lopuksi ravistellaan jäällä jäähdytetyssä vedessä (100 ml). Sitten liuoksen pH saatetaan konsentroidulla suolahapolla arvoon 1, suodatetaan, pestään vedellä ja haihdutetaan kuiviin alennetussa paineessa. Näin saadaan N-(3-metyyli-4-nitrofenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi.

Saanto: 0,65 g (88 % teoreettisesta määrästä)

Sulamispiste: 231 - 233 °C

$C_{12}H_{11}N_3O_4$ (molekyylipaino = 261,24).

Vastaavasti, kuten edellä olevassa esimerkissä valmistetaan seuraavia kaavan I mukaisia yhdisteitä.

Esimerkki 2

N-(3-metyyli-4-syaanifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi

Sulamispiste: 239 - 240 °C

$C_{13}H_{11}N_3O_2$ (molekyylipaino = 241,25).

Esimerkki 3

N-(3-metyyli-4-fluorifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi

Sulamispiste: 167,5 - 168 °C

$C_{12}H_{11}FN_2O_2$ (molekyylipaino = 234,23).

Esimerkki 4

N-(3-metyyli-4-kloorifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi

Sulamispiste: 184 °C

$C_{12}H_{11}ClN_2O_2$ (molekyylipaino = 250,69).

Esimerkki 5

N-(3-metyyli-4-jodifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi

Sulamispiste: 177 -178 °C

$C_{12}H_{11}JN_2O_2$ (molekyylipaino = 342,14).

Esimerkki 6

N-(3-metyyli-4-trifluorimetyylifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi

Sulamispiste: 182 -184 °C

$C_{13}H_{11}F_3N_2O_2$ (molekyylipaino = 284,23).

Farmakologinen tutkimus ja tulokset

Kaavan I mukaisten keksinnön mukaisten yhdisteiden tutkiminen, mitä tulee tulehdusta estävään vaikutukseen sekä immunopatologisiin prosesseihin kohdistuvaan vaikutukseen, tapahtuu käyttäen seuraavassa kuvattuja eläinmalleja.

Eläinmalli 1

Carrageenin-käpäläödeema

Tutkimukset suoritetaan menetelmän Winter et.al mukaan (J. Pharmacol. exp. Ther. 141, 369 (1963). Koe-eläi-

minä käytetään noin 17 tuntia ravinnotta olleita CFHB-kannan uros-rottia, joiden paino on 160 - 180 g. Annostelemalla 0,2 ml 0,5-%:ista Carrageenin-suspensiota 0,9 %:ssa NaCl-liuosta/eläin ruiskeena vasempaan takakäpälään jalkapohjan alle muodostuu injektiokohdan ympäristöön turvotusreaktio, jonka laajuus määritetään pletysmografisesti eli tilavuusmittaisesti. Tuntia ennen Carrageenin-antoa testiaineet annostellaan karboksimetyyliselluloosassa (CMC-suspensio) suun kautta nielusondin avulla injektiotilavuuden ollessa 1 ml/100 g painokilo. Käpälätilavuus määritetään 3 tunnin kuluttua tästä annosta. Upotussyvyyden standardoimiseksi käytetään ylemmän nilkkanivelen värimerkkausta. Koe-eläinten lukumäärä: n = 6-12/annos.

Eläinmalli 2

Viivästynyt yliherkkyys hiiren käpälä-ödeemassa

Hiiret (8 - 10 uroshiirtä CD-1, paino 25 - 30 g) herkistetään annostelemalla ruiskeena ihonalaiseen kudokseen 1 mg metyylinaudanseeruminalbumiinia (MBSA) 0,2 ml:ssa fysiologista komplettia Freundin adjuvantti-(FCA)-emulsiota. Kontrolliryhmä saa injektiona fysiologista FCA:ta. 7 päivän kuluttua herkistyksestä ruiskutetaan oikeaan takakäpälään 0,1 mg MBSA:ta 0,05 ml:ssa fysiologista keittosuolaliuosta. Käpäläödeemat määritetään 24 tuntia myöhemmin. Kontrollina käytetään fysiologisia keittosuolaliuos-injektioita vasempaan käpälään. Keksinnön mukaiset yhdisteet annostellaan suun kautta. Annostelut tapahtuvat 4., 5., 6. päivänä ja kaksi kertaa 7. päivänä tuntia ennen ja 6 tuntia MBSA-injektion antamisen jälkeen.

Eläinmalli 3

Viivästynyt yliherkkyys rotan käpälä-ödeemassa

Rotat (8 - 12 uroshiirtä CFHB, paino 160 - 180 g) herkistetään kuten testissä 2 annostelun tapahtuessa ruiskeena häntään. Erona testiin 2 nähden annostellaan 0,4 mg Mycobacterium tuberculosis-antigeenia 0,2 ml:ssa fysiolo-

gista keittosuolaliuosta 7. päivänä, muutoin koe-olosuhteet ovat vastaavat kuin testissä 2.

Arvostelukriteerinä edellä mainituissa eläinmalleissa on käpälätilavuus kontrolliryhmään verrattuna. Käpälätilavuuden lisääntymisen estyminen ilmoitetaan prosentteina.

Taulukko 1 osoittaa tulokset: suluissa on ilmoitettu keksinnön mukaisten yhdisteiden annos mg/kg:na.

Taulukko 1

Esimerkki nro	eläinmalli 1	eläinmalli 2	eläinmalli 3
1	1 (50)	53 (100)	90 (50)
2	-20 (50)	41 (100)	88 (50)
3	-1 (50)	52 (100)	70 (50)
4	12 (50)	78 (100)	45 (50)
5	7 (50)	e.m.	28 (50)
6	37 (50)	e.m.	e.m.

e.m. = ei määritetty

4. Kokeellisesti aiheutettu (adjuvantti) polyartriitti eli moniniveltulehdus

Tutkimukset suoritetaan Pearson'in ja Perper'in menetelmän mukaan [Pearson, C.M. and F.D. Wood, Arth. Rheum. 2, 44 (1959); Perper, R.J. et al., Proc. Soc. exp. Biol. Med. 137, 506 (1971)]. Koe-eläiminä käytetään Wistar-Lewis-kantaa olevia uros-rottia (Mollegaard, Dänemark), joiden paino on 160 - 200 g. Polyartriitti aiheutetaan annostelemalla ruiskeena vasempaan takakäpälään 0,1 ml Freundin adjuvanttia (vastaa noin 6 mg Mycobacterium butyricum-suspensiota (Difko Labs./Detroit)/ml parafiiniöljyssä, Merck/Darmstadt). Injektion johdosta päästään immunopatologisiin prosesseihin, jotka johtavat kroonisiin tulehdusreaktioihin 10 - 14 päivän sisällä. Tällöin muissa ruu-

miinosissa ja myös oikeassa takakäpälässä esiintyy erityisesti poly- ja periartriittisia eli useaan niveleen liittyviä ja niveltä ympäröiviä oireita.

Testiaineet annostellaan suun kautta CMC-suspensiossa. Injektiotilavuus on 1 mg/100 g rottien paino. Keksinnön mukaisten yhdisteiden annostelu tapahtuu 12 peräkkäisenä päivänä, alkaen adjuvantti-injektiosta. 21 päivän kuluttua injektiosta mitataan molempien takakäpälien käpälätilavuus. Kontrollina käytetään CMS-suspensioita.

Arvostelukriteerinä on käpälätilavuus kontrolliryhmään verrattuna. Käpälätilavuuden lisääntymisen estyminen ilmoitetaan prosentteina. Taulukko 2 osoittaa tulokset: suluissa on ilmoitettu keksinnön mukaisten yhdisteiden annos mg/kg:na.

Taulukko 2

Esimerkki nro	käpälätilavuuden estyminen	
	vasen käpälä (injisoitu)	oikea käpälä (injisoimaton)
1	65 (25)	87 (25)
2	0 (25)	31 (25)
3	14 (25)	0 (25)
4	15 (25)	0 (25)
5	26 (25)	34 (25)
6	74 (25)	87 (25)

Hajoamisaika in vivo

Testiaineet annostellaan suun kautta CMC-suspensiossa. Tilavuus on 1 mg/100 g rottien paino ja 3 mg /100 g hiirien paino. Vertailuaineena käytetään N-(4-trifluorimetyylifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidia. Vertailuaineen ja testiaineiden konsentraatiot seerumissa määritettiin aineiden suun kautta tapahtuneen annostelun jälkeen.

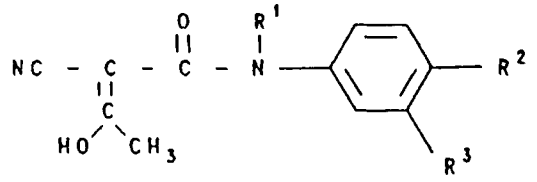
Taulukko 3 osoittaa tulokset.

Taulukko 3

Testiaine		Konsentraatio (µg/ml)					
Esimerkki nro							
Aika (tunteja)		1	3	6	24	48	72
4	hiiri	67,7	59,3	45,5	0	0	0
	rotta	2,4	1,4	0,2	0	0	0
6	hiiri	64,5	85,0	76,7	0,44	0,1	0,1
	rotta	11,6	22,6	25,4	0	0	0
Vertai-luaine							
	hiiri	114,4	126,7	125,9	113,2	62,6	36,7
	rotta	20,3	42,8	43,4	5,8	1,3	0,2

Patenttivaatimukset:

1. Vähintään yhden kaavan I mukaisen N-fenyyli-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidin



(I)

ja/tai vähintään yhden sen fysiologisesti käytettävän suolan käyttö,

jolloin

R^1 on:

a) vetyatomi tai

b) (C_{1-4})alkyyli, suoraketjuinen tai haarautunut,

R^2 on seuraavasta ryhmästä peräisin oleva ryhmä:

a) $W(CH_2)_nCX_3$,

W on:

1) happiatomi tai

2) rikkiatomi,

X on halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi,

n on kokonaisluku 1 - 3,

b) WCX_3,

c) CX_3,

d) $(CH_2)_nCX_3$,

e) halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi,

f) CN tai

g) NO_2,

R^3 on seuraavasta ryhmästä peräisin oleva ryhmä:

a) (C_{1-4})alkyyli, suoraketjuinen tai haarautunut,

b) (C_{3-6})sykloalkyyli,

c) CN tai

d) $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R$

R^4 on:

1) vetyatomi,

2) (C_{1-4})alkyyli, suoraketjuinen tai haarautunut tai

3) (C_{3-6})sykloalkyyli,

reumasairauksien, autoimmuunisairauksien tai elimen vastaanottajan siirrettyä elintä vastaan kohdistuvien hylkimisreaktioiden hoidossa käytettävien lääkeaineiden valmistamiseksi.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen käyttö, t u n n e t t u siitä, että käytetään vähintään yhtä kaavan I mukaista N-fenyyli-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidia ja/tai vähintään yhtä sen fysiologisesti käytettävää suolaa, jolloin

R^1 on vety,

R^2 on seuraavasta ryhmästä peräisin oleva ryhmä:

a) CN,

b) halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi,

c) CX_3,

X on halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi, tai

d) NO_2,

R^3 on seuraavasta ryhmästä peräisin oleva ryhmä:

a) $-CH_3$,

b) -CN tai

c) $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-H$

3. Seuraavien yhdisteiden:

N-(3-metyyli-4-nitrofenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi,

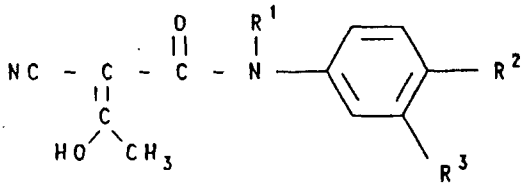
N-(3-metyyli-4-syaanifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi,

N-(3-metyyli-4-fluorifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi,

N-(3-metyyli-4-kloorifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi,

N-(3-metyyli-4-jodifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi tai
N-(3-metyyli-4-trifluorimetyylifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi ja/tai niiden fysiologisesti käytettävien suolojen käyttö reumasairauksien, autoimmuunisairauksien tai elimen vastaanottajan siirrettyä elintä vastaan kohdistuvien hylkimisreaktioiden hoidossa käytettävien lääkeaineiden valmistamiseksi.

4. Menetelmä kaavan I mukaisen N-fenyyli-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidin



(I)

ja/tai vähintään yhden sen fysiologisesti käytettävän suolan valmistamiseksi, jolloin

R^1 on:

a) vetyatomi tai

b) (C_{1-4})alkyyli, suoraketjuinen tai haarautunut,

R^2 on seuraavasta ryhmästä peräisin oleva ryhmä:

a) $W(CH_2)_nCX_3$,

W on:

1) happiatomi tai

2) rikkiatomi,

X on halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi,

n on kokonaisluku 1 - 3,

b) WCX_3,

c) CX_3,

d) $(CH_2)_nCX_3$,

e) halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi,

f) CN tai

g) NO_2,

R^3 on (C_{3-6})sykloalkyyli tai



R^4 on:

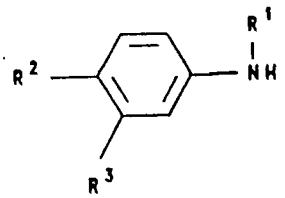
1) vetyatomi,

2) (C_{1-4})alkyyli, suoraketjuinen tai haarautunut tai

3) (C_{3-6})sykloalkyyli,

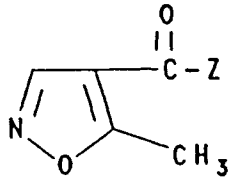
t u n n e t t u siitä, että

a) yhdisteen, jolla on kaava II,



(II)

annetaan reagoida yhdisteen kanssa, jolla on kaava III,



(III)

jolloin Z on halogeeniatomi, edullisesti kloori tai bromi ja R^1, R^2 ja R^3 merkitsevät samaa kuin kaavassa I, ja

b) saadun yhdisteen annetaan reagoida emäksisen aineen läsnä ollessa.

5. Patenttivaatimuksen 4 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan patenttivaatimuksessa 4 määritellyn kaavan I mukainen N-fenyyli-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidi ja/tai vähintään yksi sen fysiologisesti käytettävä suola, jolloin

R^1 on vety,

R^2 on seuraavasta ryhmästä peräisin oleva ryhmä:

a) CN,

b) halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi,

c) CX_3,

X on halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi, tai

d) NO_2,

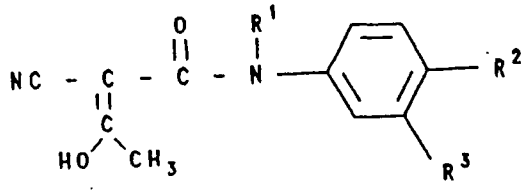
R^3 on:

a) syklopropyyli tai

b) $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R^4$

R^4 on syklopropyyli.

6. Menetelmä lääkeaineen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että vaikuttava määrä vähintään yhtä kaavan I mukaista N-fenyyli-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidia



(I)

ja/tai vähintään yhtä kaavan I mukaista fysiologisesti käytettävää suolaa, jolloin

R^1 on:

a) vetyatomi tai

b) (C_{1-4})alkyyli, suoraketjuinen tai haarautunut,

R^2 on seuraavasta ryhmästä peräisin oleva ryhmä:

a) $W(CH_2)_nCX_3$,

W on:

1) happiatomi tai

2) rikkiatomi,

X on halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi,

n on kokonaisluku 1 - 3,

b) WCX_3,

c) CX_3,

d) $(CH_2)_nCX_3$,

e) halogeeni, kuten fluori, kloori tai jodi,

f) CN tai

g) NO_2,

R^3 on seuraavasta ryhmästä peräisin oleva ryhmä:

a) (C_{1-4})alkyyli, suoraketjuinen tai haarautunut,

b) (C_{3-6})sykloalkyyli,

c) CN tai

d) $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R^4$

R^4 on:

1) (C_{1-4})alkyyli, suoraketjuinen tai haarautunut tai

2) (C_{3-6})sykloalkyyli tai

3) vetyatomi

saatetaan fysiologisesti hyväksyttävän kantaja-aineen ja muiden sopivien vaikuttavien aineiden, lisä- tai apuaineiden kanssa tarkoitukseen soveltuvaan annostelumuotoon.

7. Patenttivaatimuksen 6 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että käytetään vähintään yhtä patenttivaatimuksessa 6 määritellyn kaavan I mukaista N-fenyyli-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidia ja/tai vähintään yhtä sen fysiologisesti käytettävää suolaa, jolloin

R^1 on vety,

R^2 on seuraavasta ryhmästä peräisin oleva ryhmä:

a) CN,

b) halogeeni, kuten fluori, kloori, bromi tai jodi,

c) CX_3,

X on halogeeni, kuten fluori, kloori, bromi tai jodi, tai

d) NO_2,

R^3 on seuraavasta ryhmästä peräisin oleva ryhmä:

a) $-CH_3$,

b) -CN tai

d) $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-H$

8. Patenttivaatimuksen 6 tai 7 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että käytetään vaikuttavaa määrää N-(3-metyyli-4-nitrofenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidia,

N-(3-metyyli-4-syaanifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidia,
N-(3-metyyli-4-fluorifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidia,
N-(3-metyyli-4-kloorifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidia,
N-(3-metyyli-4-jodifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidia tai
N-(3-metyyli-4-trifluorimetyylifenyyli)-2-syaani-3-hydroksikrotonihappoamidia ja/tai niiden fysiologisesti käytettäviä suoloja.

9. Yhden tai useamman patenttivaatimuksien 6 - 8 mukaan valmistettujen lääkeaineiden käyttö reumasairauksien, autoimmuunisairauksien tai elimen vastaanottajan siirrettyä elintä vastaan kohdistuvien hylkimisreaktioiden hoitamiseksi.

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS **TUTKIMUSRAPORTTI**
Patentti- ja innovaatiolinja

HAKEMUSNUMERO	LUOKITUS
924779	☐ jatkuu kääntöpuolella

TUTKITTU AINEISTO
Patenttivirastojen julkaisut FI, SE, NO, DK, DE, CH, EP, WO, GB, US: ☐ jatkuu kääntöpuolella
Muu aineisto ☐ jatkuu kääntöpuolella

VIITEJULKAISUT

Kategoria*)	Julkaisun tunnistetiedot	Koskee vaatimuksia
	US-A 4061767 (A61K 31/36)	
	EP-A 257882 (C07C 121/417)	
	EP-A 413329 (A61K 31/42)	
	EP-A 217206 (A61K 31/42)	

☐ jatkuu kääntöpuolella

*) X Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu yksinään tarkasteltuna
Y Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu, kun otetaan huomioon tämä ja yksi tai useampi samaan kategoriaan kuuluva julkaisu
A Yleistä tekniikan tasoa edustava julkaisu, ei kuitenkaan patentoitavuuden este

Päiväys	Tutkija
4.11.-97	Eira Yläsaari