

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

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

(10) **FI 970588 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 970588  
(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -  
International patent classification  
**A61K 31/522 (2006.01)**  
**A61K 31/708 (2006.01)**  
(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 08.08.1995  
(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 12.02.1997  
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 11.04.1997  
(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 13.06.2019  
(86) Kansainvälinen hakemus - 08.08.1995 PCT/US1995/010078  
Internationell ansökan - International  
application  
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority  
12.08.1994 US 289214 P

(71) Hakija - Sökande - Applicant

**1 • Wellstat Therapeutics Corporation**, 1530 East Jefferson Street, Rockville, MD 20852, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

**1 • Von Borstel, Reid W.**, Potomac, MD 20854, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)  
**2 • Bamat, Michael K.**, Potomac, MD 20854, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)  
**3 • Hiltbrand, Bradley M.**, Columbia, MD 21044, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)  
**4 • Butler, James C.**, Gaithersburg, MD 20874, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)  
**5 • Shirali, Shyam**, Gaithersburg, MD 20878, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

**Turun Patenttitoimisto Oy**, PL 99, 20521 Turku

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

**Menetelmät verenmyrkytyksen tai tulehdussairauksien hoitamiseksi oksipuriin nukleosideilla**  
**Förfaranden för behandling av sepsis eller inflammatoriska sjukdomar med oxipurinnukleosider**

(57) Tiivistelmä - Sammandrag - Abstract

Keksintö liittyy tiettyihin oksipuriin nukleosideihin, tällaisten oksipuriini-nukleosidien kanssa samaan ryhmään kuuluviin yhdisteisiin ja näiden asyyli johdannaisiin ja koostumuksiin, jotka sisältävät vähintään yhtä naista yhdisteistä. Keksintö liittyy myös menetelmiin hematopoieettisten sairauksien hoitamiseksi tai ehkäisemiseksi ja hematopoieesin modifioimiseksi ja tulehdussairauksien ja bakteeri-infektioiden hoitamiseksi tai ehkäisemiseksi antamalla eläimelle tämän keksinnön mukaista yhdistettä tai koostumusta. Uppfinningen anknyter sig till vissa oxipurinnukleosider, kongeneriska former av dessa oxipurinnukleosider, och asylderivater därav såsom sammansättningar innehållande åtminstone en av dessa föreningar. Uppfinningen anknyter sig också till förfaranden för skötning eller förhindringen av hematopoietiska sjukdomar och modifiering av hematopoiesis och skötning eller förhindring av bakteriella infektioner genom givning av en förening eller sammansättning av denna uppfinningen till en djur.

Menetelmä verenmyrkytyksen tai tulehdussairauksien hoitamiseksi oksipuriininukleosideilla - Förfarandet för skötning av sepsis och inflammatoriska sjukdomar genom användning av oxipurinnukleosider

5

#### Keksinnön ala

Keksintö liittyy yleisesti oksipuriininukleosideihin, joita ovat guanosiini, deoksiguanosiini, inosiini, ksantosiini, deoksiksantosiini ja deoksi-inosiini, näiden nukleosidien kanssa samaan ryhmään kuuluvat yhdisteet ja näiden nukleosidien asyylijohdannaiset ja näiden kanssa samaan ryhmään kuuluvat yhdisteet, sekä näiden yhdisteiden profylaktisiin ja terapeuttisiin käyttömuotoihin. Keksintö liittyy myös siihen, että näitä yhdisteitä annetaan eläimille yksinään tai yhdistelminä ionittumattomien pinta-aktiivisten tai muiden aineiden kanssa tai ilman näitä. Nämä yhdisteet kykenevät modifioimaan hematopoiesia hyvässä kunnossa olevissa normaaleissa eläimissä ja eläimissä, joiden hematopoieettinen järjestelmä on vaurioitunut tai toimii vaivallisesti, mikä voi johtua säteilystä, kemoterapiasta, myrkytyksestä, sairauksista ja muista näitä vastaavista ilmiöistä. Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet tehostavat myös leukosyyttien välityksellä toimivia isäntäorganismin puolustusmekanismeja infektioiden torjumiseksi.

25

#### Keksinnön tausta

Syöpäkemoterapian, viruskemoterapian tai ionisoivalle säteilylle altistumisen tärkein komplikaatio on luuytimen solujen vaurioituminen tai niiden toiminnan estyminen. Tarkemmin sanottuna kemoterapia ja altistus ionisoivalle säteilylle vaurioittavat tai tuhoavat pääasiassa luuytimessä ja pernassa esiintyviä hematopoieettisia kantasoluja ja vaurioittavat uusien verisolujen (granulosyyttien, lymfositien, erytrosyyttien, monosyyttien ja verihiutaleiden ja muita näitä vastaavien solutyypin) muodostumista. Syöpäpotilaiden hoito esimerkiksi syklofosfamidilla tai 5-

35

fluoriurasiililla tuhoaa leukosyyttejä (lymfosyyttejä ja/tai granulosyyttejä) ja tämä voi johtaa potilaiden infektiokerkkyyden lisääntymiseen. Monet syöpäpotilaat kuolevat infektioon tai johonkin muuhun hematopieettisen järjestelmän toiminnan häiriöön kemoterapian tai sädehoidon jälkeen. Kemoterapeuttiset aineet voivat myös johtaa siihen, että verihiutaleita muodostuu normaalia vähemmän, mikä altistaa verenvuodoille. Samalla tavoin voi sinappikaasumyrkytys johtaa hematopieettisen järjestelmän vaurioitumiseen, mikä tekee potilaasta herkän infektioille. Jos erytrosyyttien muodostuminen inhiboituu, niin tästä voi olla tuloksena anemiaa. Jos elinkykyisiksi jääneet luuytimen kantasolut eivät kykene lisääntymään ja erilaistumaan riittävän nopeasti leukosyyttipopulaatioiden uudistamiseksi, niin tämä johtaa siihen, että elimistö ei kykene vastustamaan patogeenisiä infektoivia organismeja. Useat eri sairaustilat, kuten neutropenia, mukaan lukien taudin idiopaattiset muodot, liittyvät myös hematopieettisen järjestelmän tiettyjen nimenomaisten komponenttien toiminnan heikkenemiseen.

Yhdisteet, jotka tehostavat tai edistävät hematopieesin palautumista ennalleen sen jälkeen kun tämä on heikentynyt luuytimen vaurioitumisen johdosta tai kemiallisten aineiden, säteilyn, sairauksien tai muiden hematopieesin heikkenemiseen liittyvien sairaustilojen vaikutuksesta, ovat käyttökelpoisia terapeuttisina ja profylaktisina aineina.

Tunnetaan useita hematopieettisia polypeptidikasvutekijöitä (näitä on valmistettu pääasiassa yhdistelmä-DNA-menettimillä). Näiden hematopieettisten kasvutekijöiden, joita ovat erytropoietiini (EPO), interleukiinit (erityisesti interleukiini-1, interleukiini-3 ja interleukiini-6) ja pesäkestimulaatiotekijät (colony stimulating factors) (kuten granulosyyttipesäkestimulaatiotekijä, granulosyytti/makrofagipesäkestimulaatiotekijä tai kantasolupesäkestimulaatiotekijä), on raportoitu olevan jossakin määrin

käyttökelpoisia hematopoieesin edistämisessä. Jotkin aineet, joita on yleisesti luonnehdittu "biologisen vasteen modifikaattoreiksi" (BRM-molekyyleiksi), voivat myös parantaa joitakin hematopoieesia kuvaavia arvoja. Hematopoieesia modifioivia BRM-molekyylejä ovat aineet, kuten bakteerien endotoksiini, kaksijuosteinen RNA, atsimeksoni, glukaanit ja muut hiivojen ja bakteerien polysakkaridit, dekstraanisulfaatti, maleiinihappodivinyylieetteripolyanioni (MVE2) ja kasvainkuoliotekijä.

Julkaisussa D.W. Bennett ja A.N. Drury, J. Physiol. 72 (1931) 288 on kuvattu, että 100 mg suuruisen guanosiinimäärän antaminen intraperitoneaalisenä injektiona sai leukosyyttien lukumäärät pienentymään voimakkaasti. Leukosyyttien pitoisuudet olivat koetta aloitettaessa 7 700/mm<sup>3</sup> mutta guanosiinin antamisen jälkeen leukosyyttien lukumäärä pieneni jopa 500 - 1000 soluun kuutiomillimetrissä. 10 tunnin kuluttua ja 24 tunnin ajan tämän jälkeen esiintyi leukosytoosia (11 000 solua kuutiomillimetrissä).

Wright, D.G., Blood 69 (1987) 334 - 337, on esittänyt raportin guanosiinin ja guaniinin vaikutuksesta ihmisen tietyn nimenomaisen myeloidileukemiasolulinjan (HL-60) viljelmiin. Useiden eri kemiallisten yhdisteiden (mukaan lukien retinoiinihappo, dimetyyliformamidi ja tiatsofuriini) raportoitiin indusoivan epäkypsien blastisolujen muuntumisen kypsiksi granulocyteiksi in vitro -olosuhteissa. Kun HL-60-soluja inkuboitiin guaniinin tai guanosiinin kanssa, niin tämä esti solujen indusoidun kypsymisen toiminnallisiksi neutrofiileiksi; inkubointi inosiinin kanssa ei vaikuttanut indusoituun kypsymiseen.

Oshita, A.K., et al., Blood 49 (1977) 585 - 591, ehdottivat, että sykliset nukleotidit (esimerkiksi syklinen 3',5'-adenosiinimonofosfaatti (cAMP) tai syklinen 3',5'-guanosiinimonofosfaatti (cGMP)), voivat osallistua solujen lisääntymisen säätelyyn. cGMP sai hiiren viljellyissä luu-

ydinsoluissa aikaan selllaisten pesäkkeiden lukumäärän lisääntymisen, jotka olivat muodostuneet endotoksiinilla käsitellyistä hiiristä talteen otetun seerumin stimulatoriselle vaikutukselle alttiina. cGMP:lla ei ollut vaikutusta niissä tapauksissa, joissa ei oltu käytetty endotoksiinikäsittelyn jälkeen talteen saatua seerumia. 5'-guanosiinimonofosfaatti ja cAMP olivat inaktiivisia.

Beljanski, et al., Cancer Treat. Rep. 67 (1983) 611 - 619, ovat kuvanneet, että kun E. colin ribosomaalista RNA:ta hydrolysoidaan, muodostuu lyhyitä (noin 40 emäksen pituisia) oligonukleotideja, joilla on jonkin verran osoitettavissa olevaa leukopoeettista aktiivisuutta syklofosamidilla käsitellyissä kaniineissa. Artikkelin kirjoittajat ehdottivat, että oligonukleotidit toimivat DNA-synteesin replikaation alukkeena luuydinsoluissa. He myös kuvasivat, että polyribonukleotidit, polyguanosiinimonofosfaatti, polyadenosiinimonofosfaatti ja adeniini- ja guaniininukleotidien kopolymeeri eivät kyenneet stimuloimaan leukosyyttien muodostumista.

Sugahara, T., et al., Brookhaven Symposia in Biology (1968) 284 - 302, raportoivat, että hiivan RNA-hydrolysaatti, adenosiinin, sytidiinin, guanosiinin ja uridiinin seokset ja niitä vastaavat 3'-ribonukleosidimonofosfaatit eivät edistäneet solujen eloonjäämistä sen jälkeen kun niitä oli käsitelty akuuteilla letaaleilla annoksilla ionisoivaa säteilyä. Yhdisteet edistivät hiirten eloonjäämistä annettuna tietyin aikaväleihin sinä aikana kun eläimiä altistettiin subletaalisille annoksille gammasäteilyä. Artikkelin kirjoittajat mainitsivat, että käsittelyyn käytetyt aineet eivät edistäneet eloon jääneiden kantasolujen lisääntymistä eivätkä erilaistumista mutta saivat vaurioituneet kypsät solut säilymään elossa pitkähkön ajan. Kaikki tutkitut aineet, hydrolysaatti, ribonukleosidit ja ribonukleosidimonofosfaatit, pienensivät tumallisten solujen ja hemopoeettisten solujen pesäkkeiden (pesäkkeitä muodostavien

yksiköiden) lukumääriä pernassa ja luuytimessä (tärkeimmät hematopoieesin tapahtumiskohdat) säteilytettyihin käsittelemättömiin kontrollihiiriin verrattuna.

5 Goodman, et al. (US-patenttijulkaisut nro 4 539 205, 4 849 411 ja 4 643 992) kuvaava sellaista immunivasteen moduloimiseen soveltuvien guaniinin aldosyylijohdannaisten käyttöä, jotka sisältävät substituentteja, joilla elektroneja puoleensa vetävä vaikutus on suurempi kuin guaniiniryhmän 8-asemassa esiintyvällä vedyllä.

On syntetisoitu joitakin oksipuriin nukleosidien asyylijohdannaisia, jotka soveltuvat käytettäväksi suojattuina välituotteina oligonukleotidien tai nukleosidi- tai nukleotidianalogien synteessissä. Näitä on käsitelty sivuilla 15 1702 - 1704 Sigma Chemical -yhtiön tuoteluettelossa vuodelta 1991.

20 Fleming, W.A. ja McNeill, T.A., J. Cell. Physiol. 88 (1976) 323 - 330, ovat raportoineet, että ionittumattomat pinta-aktiiviset aineet Polysorbate 80 ja saponiini tehostavat viljeltyjen luuydinsolujen reagoivuutta pesäkkeiden muodostusta stimuloivien tekijöiden vaikutukselle optimimääriä pienemmällä annoksilla. Pinta-aktiiviset aineet olivat 25 aktiivisia hyvin kapealla konsentraatioalueella ja niiden aktiivisuus oli korkeimmillaan konsentraatiossa 10 mg/ml ja pienimmillään kymmenen kertaa suuremmissa tai kymmenen kertaa pienemmissä konsentraatioissa. Pinta-aktiivisten aineiden vaikutusta hematopoieesiin in vivo -olosuhteissa ei 30 tutkittu.

#### Keksinnön tavoitteet

Tämän keksinnön tärkein tavoite on saattaa käyttöön ryhmä yhdisteitä, jotka tehokkaalla tavalla edistävät tai muulla 35 tavoin modifioivat hematopoieesia. Näiden yhdisteiden antaminen eläimelle ennen hematopoieettisen järjestelmän vaurioitumista, tällaisen vaurioitumisen aikana tai tämän

jälkeen estää hematopoieettisen järjestelmän sairauksia tai parantaa niitä.

5 Vielä yksi tämän keksinnön tavoite on saattaa käyttöön ryhmä yhdisteitä, jotka soveltuvat useiden erilaisten hematologisten sairauksien ja muiden sellaistaen patologisten sairaustilojen hoitoon, joihin sisältyy se, että verisolujen lukumäärät ovat matalalla.

10 Vielä yksi tämän keksinnön tavoite on saattaa käyttöön ryhmä yhdisteitä, jotka soveltuvat tehostamaan leukosyyttien välityksellä toimivia isäntäorganismien puolustusmekanismeja infektiota vastaan.

15 Vielä yksi tämän keksinnön tavoite on saattaa käyttöön yhdisteitä, jotka voivat modifioida hematopoieesia ja joita voidaan antaa oraalisesti tai parenteraalisesti.

#### Keksinnön yhteenveto

20 Nämä ja tämän keksinnön muut tavoitteet saavutetaan käyttämällä oksipuriininukleosideja, kuten guanosiinia, inosiinia, ksantosiinia, deoksiksanosiinia, deoksi-inosiinia ja deoksiganosiinia, näiden oksipuriininukleosidien kanssa samaan ryhmään kuuluvia yhdisteitä ja näiden oksipuriininukleosidien ja niiden kanssa samaan ryhmään kuuluvien yhdisteiden asyyli- ja alkyylijohdannaisia, joita voidaan antaa eläimille, mukaan lukien nisäkkäät, kuten ihmiset. Kun näitä yhdisteitä annetaan yksinään tai yhdistelminä, niin ne ovat käyttökelpoisia hematopoieesin modifioimiseksi eläimessä.

25  
30

Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat siten yksinään tai yhdistelminä käyttökelpoisia säteilyn tai kemiallisten aineiden aikaansaamien hematopoieesin häiriöiden hoidossa; ne ovat käyttökelpoisia syöpä- ja viruskemoterapiaa täydentävinä aineina; ne ovat käyttökelpoisia infektiota vastaan suunnattujen leukosyyttien välityksellä toimivien isäntä-

35

organismin puolustusmekanismien tehostamiseksi; ja ne ovat käyttökelpoisia muiden patologisten tilojen hoitoon.

5 Tämän keksinnön merkittävä puoli on se havainto, että oksi-  
puriininukleosideilla, kuten guanosiinilla, deoksi-  
guanosiinilla, inosiinilla, ksantosiinilla, deoksiksanto-  
siinilla ja deoksi-inosiinilla, näiden nukleosidien kanssa  
10 samaan ryhmän kuuluvilla yhdisteillä ja näiden nukleosidien  
ja niiden kanssa samaan ryhmän kuuluvien yhdisteiden asyyli-  
ja alkyylijohdannaisilla, on odottamattomia terapeuttisia  
ominaisuuksia.

15 Tämä keksintö kattaa myös sen havainnon, että in vivo -olo-  
suhteissa annetut pinta-aktiiviset yhdisteet tehostavat  
sellaisten hematopoieettista järjestelmää stimuloivien  
aineiden vaikutusta, joita ovat tämän keksinnön mukaisiin  
yhdisteisiin kuitenkin rajoittumatta erytropoietiini,  
pesäkestimulaatiotekijät tai interleukiinit.

20 Tämä keksintö sisältää myös menetelmän bakteeri- tai sieni-  
infektion hoitamiseksi tai ehkäisemiseksi eläimessä, joka  
menetelmä käsittää sen, että mainitulle eläimelle annetaan  
farmaseuttisesti tehokas määrä tämän keksinnön mukaista  
yhdistettä tai koostumusta.

25

#### Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet

26

27

28

29

30

31

Kaikissa tapauksissa, ellei toisin ole mainittu, ovat kir-  
jaimet ja alaindeksein varustetut kirjaimet, jotka kuvaavat  
tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden kemiallisissa raken-  
teissa esiintyviä muuttuvia substituentteja, sovellettava  
ainoastaan symbolin kuvausta välittömästi edeltävään raken-  
teeseen.

32

33

34

35

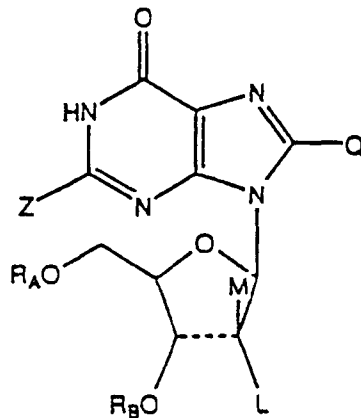
Yhdisteillä, jotka ovat käyttökelpoisia hematopoieesin  
modifioimisessa, on rakenne

36

37

38

39



5

10

$R_A$  = H tai karboksyyli-, alkyylifosfoni- tai alkyyლისulfonyl- hapon asyyli-ryhmä, alkyylifosfaatin tai alkyyლისulfaatin asyyli-ryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen alkyyli-ryhmä, ja

15

$R_B$  = H tai karboksyyli-, alkyylifosfoni- tai alkyyლისulfonyl- hapon asyyli-ryhmä, alkyylifosfaatin tai alkyyლისulfaatin asyyli-ryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen alkyyli-ryhmä, ja

20

$Z$  = H, OH, =O tai  $NHR_C$ , jossa  $R_C$  = H tai 2 - 30-hiiliatominen karboksyyli- hapon asyyli-ryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen alkyyli-ryhmä, ja

25

$L$  = H tai  $OR_D$ , jossa  $R_D$  = H tai karboksyyli-, alkyylifosfoni- tai alkyyლისulfonyl- hapon asyyli-ryhmä, alkyylifosfaatin tai alkyyლისulfaatin asyyli-ryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen alkyyli-ryhmä, ja

30

$M$  = H tai  $OR_E$ , jossa  $R_E$  = H tai karboksyyli-, alkyylifosfoni- tai alkyyლისulfonyl- hapon asyyli-ryhmä, alkyylifosfaatista tai alkyyლისulfaatatista muodostuva ryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen alkyyli-ryhmä, edellyttäen, että vähintään toinen ryhmistä  $L$  ja  $M$  on H, ja

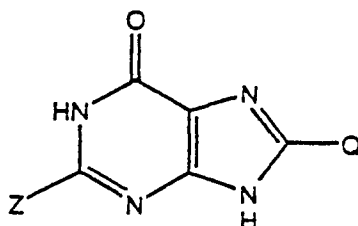
35

$Q$  = H, halogeeni,  $NHR_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyli-ryhmä, S on sitoutunut kaksois- sidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-typpi-kaksois- sidos on yksinkertainen sidos ja tähän

tyypeen liittyy silloin H,  $SR_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, O on sitoutunut kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja  
 5 tähän tyypeen liittyy silloin H, tai  $OR_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, ja

aldoosiryhmän 2'- ja 3'-asemien välillä esiintyy mahdollisesti C-C-sidos,

10



15

Z =  $NHR_C$ , jossa  $R_C$  = H tai 2 - 30-hiiliatomisen karboksyylihapon asyyli- tai alkyyliryhmä, ja

20

Q = H, halogeeni,  $NHR_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, S on sitoutunut kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja silloin tähän tyypeen liittyy H,  $SR_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, O on sitoutunut kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja  
 25 tähän tyypeen liittyy silloin H, tai  $OR_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä.

30

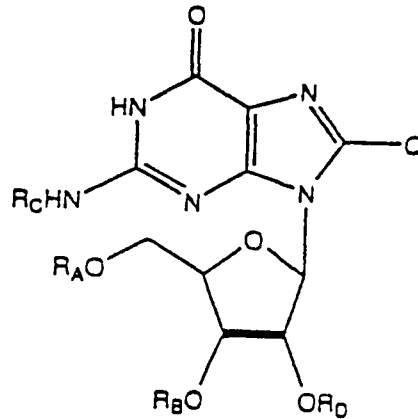
Tämän keksinnön mukaiset uudet koostumukset sisältävät edellä mainittuja yhdisteitä (mahdollisesti farmaseuttisesti hyväksyttävänä suoloina), joissa vähintään yksi ryhmistä  $R_A$ ,  $R_B$ ,  $R_C$ ,  $R_D$  tai  $R_E$  ei ole H ja yhdisteissä, joissa Z on  $NH_2$  tai  $NHR_C$ , on Q silloin H tai  $NHR_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, sekä farmaseuttisesti hyväksyttävää kantaja-ainetta.

35

Guanosiinilla, sen kanssa samaan ryhmään kuuluvilla yhdisteillä ja näiden asyyli- ja alkyylijohdannaisilla on laajassa merkityksessään kaava (I):

5

10



(I)

15

jossa  $R_A$ ,  $R_B$ ,  $R_C$  ja  $R_D$  ovat samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat kukin erikseen vety (H), asyyli- tai alkyyliryhmä, ja

20

$Q = H$ , halogeeni,  $NHR_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $SR_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $=O$  tai  $OR_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,

tai tämän farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

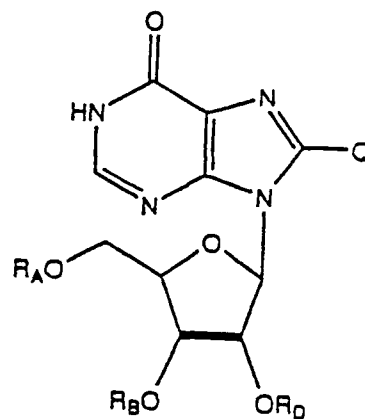
25

Inosiinilla, sen kanssa samaan ryhmään kuuluvilla yhdisteillä ja näiden asyyli- tai alkyylijohdannaisilla on laajassa merkityksessään kaava (II):

30

35

(II)

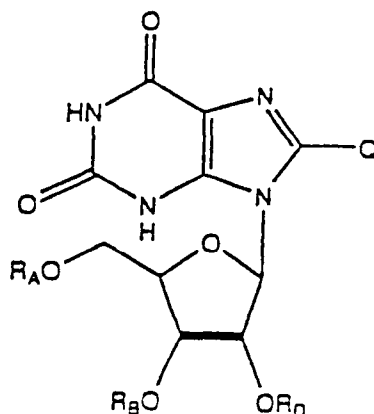


jossa  $R_A$ ,  $R_B$  ja  $R_D$  ovat samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat kukin erikseen H, asyyli- tai alkyyliryhmä, ja

5  $Q = H$ , halogeeni,  $NHR_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiili-atominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $SR_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, =O tai  $OR_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,

10 tai tämän farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

Ksantosiinilla, sen kanssa samaan ryhmään kuuluvilla yhdisteillä ja näiden asyyli- tai alkyylijohdannaisilla on laajassa merkityksessään kaava (III):



(III)

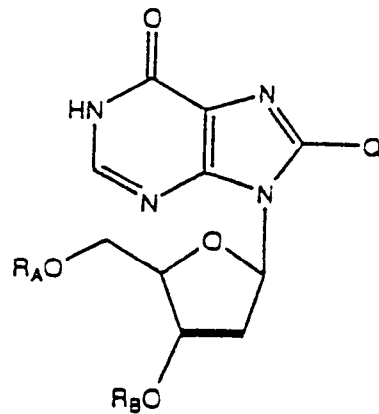
25 jossa  $R_A$ ,  $R_B$  ja  $R_D$  ovat samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat kukin erikseen H, asyyli- tai alkyyliryhmä, ja

30  $Q = H$ , halogeeni,  $NHR_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiili-atominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $SR_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, =O tai  $OR_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,

35 tai tämän farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

Deoksi-inosiinilla, sen kanssa samaan ryhmään kuuluvilla yhdisteillä ja näiden asyyli- tai alkyylijohdannaisilla on laajassa merkityksessään kaava (IV):

5



10

(IV)

jossa  $R_A$  ja  $R_B$  ovat samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat kukin erikseen H, asyyli- tai alkyyliryhmä, ja

15

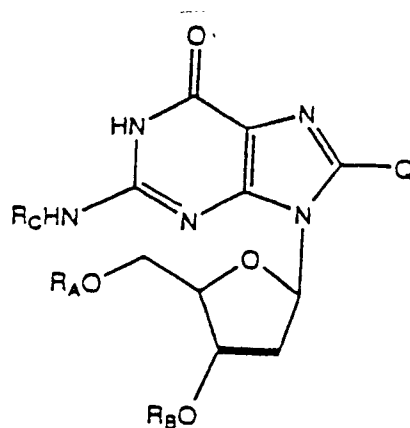
$Q = H$ , halogeeni,  $NHR_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $SR_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $=O$  tai  $OR_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,

20

tai tämän farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

Deoksiguanosiinilla, sen kanssa samaan ryhmään kuuluvilla yhdisteillä ja näiden asyyli- tai alkyylijohdannaisilla on laajassa merkityksessään kaava (V):

25



30

(V)

jossa  $R_A$ ,  $R_B$  ja  $R_C$  voivat olla samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat kukin erikseen vety (H), asyyli- tai alkyyliryhmä, ja

35

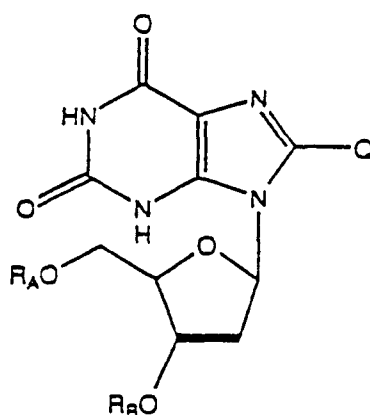
Q = H, halogeeni,  $\text{NHR}_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $\text{SR}_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, =O tai  $\text{OR}_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,

5

tai tämän farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

Deoksiksantosiinilla, sen kanssa samaan ryhmään kuuluvilla yhdisteillä ja näiden asyyli- tai alkyylijohdannaisilla on laajassa merkityksessään kaava (VI):

10



15

20

(VI)

jossa  $R_A$  ja  $R_B$  ovat samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat kukin erikseen H, asyyli- tai alkyyliryhmä, ja

Q = H, halogeeni,  $\text{NHR}_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $\text{SR}_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, =O tai  $\text{OR}_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,

25

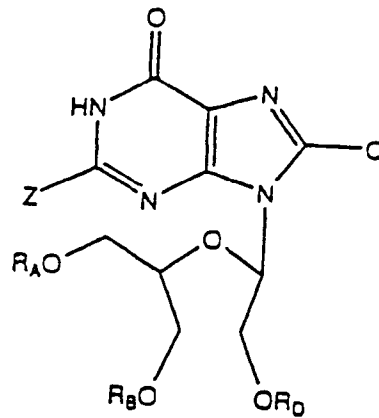
tai tämän farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

30

Inosiinin asyklisellä 2',3'-dialkoholilla, sen kanssa samaan ryhmään kuuluvilla yhdisteillä ja näiden asyyli- tai alkyylijohdannaisilla on laajassa merkityksessään kaava (VII):

35

5



10

(VII)

jossa  $R_A$ ,  $R_B$  ja  $R_D$  ovat samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat kukin erikseen H, asyyliryhmä tai alkyyliryhmä, ja Z on H, OH, =O tai  $NHR_C$ , jossa  $R_C = H$  tai 2 - 30-hiiliatomisen karboksyylihapon asyyliryhmä, ja

15

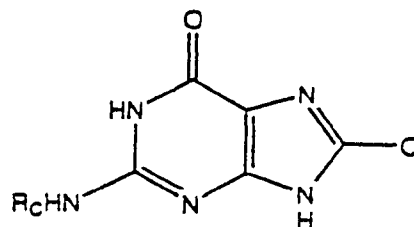
$Q = H$ , halogeeni,  $NHR_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $SR_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, =O tai  $OR_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,

20

tai tämän farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

Guaniinilla, sen kanssa samaan ryhmään kuuluvilla yhdisteillä ja näiden asyyli- ja alkyylijohdannaisilla on laajassa merkityksessään kaava (I):

25



30

(I)

35

jossa  $R_C$  on asyyliryhmä tai alkyyliryhmä, ja

Q = H, halogeeni,  $\text{NHR}_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiili-  
atominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $\text{SR}_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 -  
10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, =O tai  $\text{OR}_H$ , jossa  
 $R_H$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,

5

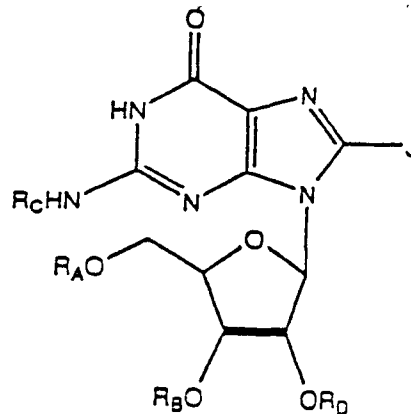
tai tämän farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

Ne uusien johdannaisten ryhmät, jotka ovat haluttuja sekä  
tehokkuuden että turvallisuuden puolesta tämän keksinnön  
mukaisesti käytettynä, ovat:

10

(1) guanosiinin tai sen kanssa samaan ryhmään kuuluvien  
yhdisteiden asyyli- tai alkyylijohdannaiset, joilla on  
kaava:

15



20

jossa  $R_A$ ,  $R_B$  ja  $R_D$  ovat samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat  
vety tai

25

I. asyyliiryhmä, joka on peräisin

a. 6 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta,  
joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä  
hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ , OH,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$   
tai  $\text{SO}_3^-$ ,

30

b. aminohaposta, joka on glysiini, alaniinin L-muoto, va-  
liinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto,  
tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-  
muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-

35

muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

5 c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

d. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta,

e. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

10

i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_3$ , tai

15

ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , jossa  $m = 0 - 3$  ja  $n = 2 - 8$ , tai

20

II. 3 - 22-hiiliatominen haarottumaton alkyyliiryhmä, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ , tai

III. asyyliiryhmä, joka on peräisin

25

a. alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihaposta tai

b. alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaatista, edellyttäen, että ryhmät  $R_A$ ,  $R_B$  ja  $R_D$  eivät ole kaikki vetyjä; ja

30

$R_C$  on vety tai

I. asyyliiryhmä, joka on peräisin

35

a. 6 - 22-hiiliatomisesta haarottumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä

hydrofiiliselä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ ,

5 b. aminohaposta, joka on glysiini, fenyyialaniinin L-muoto, alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lysiinin L-  
10 muoto, histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyyliahaposta,

15 d. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyyliahaposta,

e. nikotiinihaposta tai

f. 7 - 22-hiiliatomisesta substituoidusta tai substituoi-  
20 mattomasta aromaattisesta karboksyyliahaposta,

g. karboksyyliahaposta, joka on peräisin

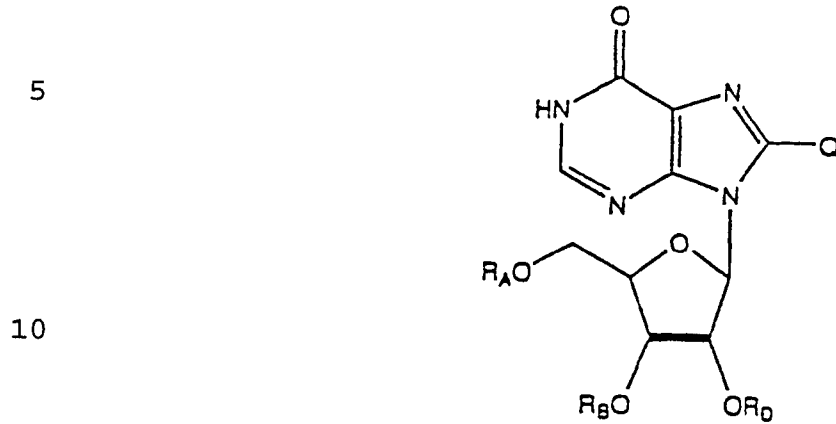
i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_3$ , tai  
25

ii. vinyylialkoholien polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , jossa  $m = 0 - 3$  ja  $n = 2 - 8$ , tai  
30

II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliryhmä, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiiliselä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ , ja  
35

J = H tai  $\text{NHR}_1$ , jossa  $\text{R}_1$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä;

(2) inosiinin tai sen kanssa samaan ryhmään kuuluvien yhdisteiden asyyli- tai alkyylijohdannaiset, joilla on kaava



jossa  $R_A$  on vety tai

15 I. asyyliryhmä, joka on peräisin

a. 6 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $NH_2$ ,  $OH$ ,  $OPO_3^-$ ,  $PO_3^-$ ,  $OSO_3^-$  tai  $SO_3^-$ ,

20

b. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

c. nikotiinihaposta tai

25

d. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta; ja

e. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

30

i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  $HOOC-(CH_2)_m-(CH_2CH_2O)_nH$  tai  $HOOC-(CH_2)_m-(CH_2CH_2O)_nCH_3$ , tai

35

ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  $HOOC-(CH_2)_m-(CH_2CHOH)_nH$  tai  $HOOC-(CH_2)_m-(CH_2CHOH)_nCH_3$ , jossa  $m = 0 - 3$  ja  $n = 2 - 8$ , tai

II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliryhmä, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalaisesta hiilestä hydrofiilillä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ , tai

5

III. asyyliryhmä, joka on peräisin

a. alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihaposta tai

10 b. alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaattista,

jossa  $R_B$  ja/tai  $R_D$  ovat vety tai

I. asyyliryhmä, joka on peräisin

15

a. 3 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalaisesta hiilestä hydrofiilillä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ ,

20

b. aminohaposta, joka on glysiini, fenyyialaniinin L-muoto, alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lyysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

25

c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

30

d. nikotiinihaposta tai

e. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta,

35

f. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on

HOOC-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>H tai HOOC-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>, tai

ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  
 HOOC-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(CH<sub>2</sub>CHOH)<sub>n</sub>H tai HOOC-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(CH<sub>2</sub>CHOH)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>, jossa m =  
 5 0 - 3 ja n = 2 - 8, tai

II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliryhmä, joka  
 on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä  
 hydrofiilisellä ryhmällä, joka on NH<sub>2</sub>, OH, OPO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>3</sub><sup>-</sup>, OSO<sub>3</sub><sup>-</sup>  
 10 tai SO<sub>3</sub><sup>-</sup>, tai

III. asyyliiryhmä, joka on peräisin

a. alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihaposta tai

15

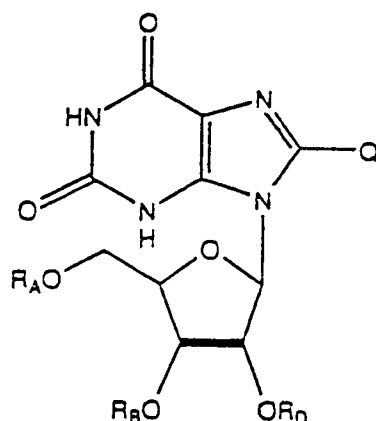
b. alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaattista,

edellyttäen, että ryhmät R<sub>A</sub>, R<sub>B</sub> ja R<sub>D</sub> eivät ole kaikki vety-  
 jä, ja

20

Q = H, halogeeni, NHR<sub>F</sub>, jossa R<sub>F</sub> on H tai 1 - 10-hiili-  
 atominen asyyli- tai alkyyliryhmä, S on sitoutunut kaksois-  
 sidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva  
 hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän  
 25 tyypeen liittyy silloin H, SR<sub>G</sub>, jossa R<sub>G</sub> on H tai 1 -  
 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, O on sitoutunut  
 kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä  
 oleva hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja  
 tähän tyypeen liittyy silloin H, tai OR<sub>H</sub>, jossa OR<sub>H</sub> on H tai  
 30 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä;

(3) ksantosiinin tai sen kanssa samaan ryhmään kuuluvien  
 yhdisteiden asyyli- tai alkyyl johdannaiset, joilla on  
 kaava:



jossa  $R_A$ ,  $R_B$  ja  $R_D$  ovat samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat vety tai

I. asyyliiryhmä, joka on peräisin

a. 6 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalaisesta hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $NH_2$ ,  $OH$ ,  $OPO_3^-$ ,  $PO_3^-$ ,  $OSO_3^-$  tai  $SO_3^-$ ,

b. aminohaposta, joka on glysiini, fenyylialaniinin L-muoto, alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lyysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

d. nikotiinihaposta tai

e. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta,

f. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on

HOOC-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>H tai HOOC-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>, tai

ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  
 HOOC-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(CH<sub>2</sub>CHOH)<sub>n</sub>H tai HOOC-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(CH<sub>2</sub>CHOH)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>, jossa m =  
 5 0 - 3 ja n = 2 - 8, tai

II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliryhmä, joka  
 on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä  
 hydrofiilisellä ryhmällä, joka on NH<sub>2</sub>, OH, OPO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>3</sub><sup>-</sup>, OSO<sub>3</sub><sup>-</sup>  
 10 tai SO<sub>3</sub><sup>-</sup>, tai

III. asyyli- tai alkyyliryhmä, joka on peräisin

a. alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihaposta tai

15

b. alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaattista, edellyttäen,  
 että ryhmät R<sub>A</sub>, R<sub>B</sub> ja R<sub>D</sub> eivät ole kaikki vetyjä, ja

Q = H, halogeeni, NHR<sub>F</sub>, jossa R<sub>F</sub> on H tai 1 - 10-hiili-  
 20 atominen asyyli- tai alkyyliryhmä, S on sitoutunut kaksois-  
 sidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva  
 hiili-tyyppi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän  
 tyyppiin liittyy silloin H, SR<sub>G</sub>, jossa R<sub>G</sub> on H tai 1 -  
 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, O on sitoutunut  
 25 kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä  
 oleva hiili-tyyppi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja  
 tähän tyyppiin liittyy silloin H, tai OR<sub>H</sub>, jossa R<sub>H</sub> on H tai  
 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä;

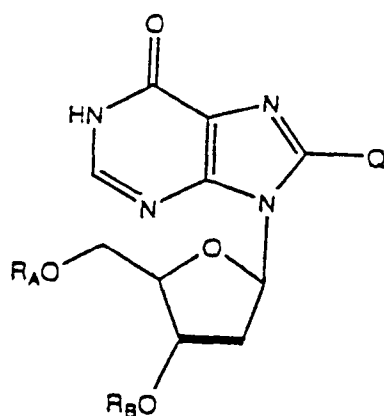
25

30

(4) deoksi-inosiinin tai sen kanssa samaan ryhmään kuuluvien  
 yhdisteiden asyyli- tai alkyylijohdannaiset, joilla on  
 kaava:



5



10

jossa  $R_A$  ja  $R_B$  ovat samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat vety tai

I. asyyliiryhmä, joka on peräisin

15

a. 6 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalaisesta hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $NH_2$ ,  $OH$ ,  $OPO_3^-$ ,  $PO_3^-$ ,  $OSO_3^-$  tai  $SO_3^-$ ,

20

b. aminohaposta, joka on glysiini, fenyylialaniinin L-muoto, alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

25

c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

30

d. nikotiinihaposta tai

e. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta,

35

f. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_3$ , tai

5 ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , jossa  $m = 0 - 3$  ja  $n = 2 - 8$ , tai

10 II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliryhmä, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalaisesta hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ , tai

III. asyyliiryhmä, joka on peräisin

15 a. alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihaposta tai

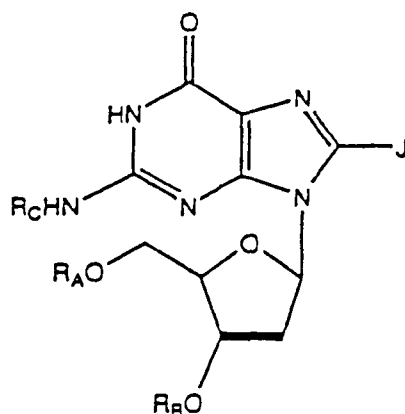
b. alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaattista, edellyttäen, että vähintään toinen ryhmistä  $R_A$  ja  $R_B$  ei ole vety, ja

20  $Q = \text{H}$ , halogeeni,  $\text{NHR}_F$ , jossa  $R_F$  on  $\text{H}$  tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $S$  on sitoutunut kaksoisidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-tyyppi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän tyypeen liittyy silloin  $\text{H}$ ,  $\text{SR}_G$ , jossa  $R_G$  on  $\text{H}$  tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $O$  on sitoutunut kaksoisidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-tyyppi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän tyypeen liittyy silloin  $\text{H}$ , tai  $\text{OR}_H$ , jossa  $R_H$  on  $\text{H}$  tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä ;

30

(5) deoksiguanosiinin tai sen kanssa samaan ryhmään kuuluvien yhdisteiden asyyli- tai alkyylijohdannaiset, joilla on kaava:

5



10 jossa  $R_A$  ja  $R_B$  voivat olla samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat kukin erikseen vety tai

I. asyyliryhmä, joka on peräisin

15 a. 6 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $NH_2$ ,  $OH$ ,  $OPO_3^-$ ,  $PO_3^-$ ,  $OSO_3^-$  tai  $SO_3^-$ ,

20 b. aminohaposta, joka on glysiini, alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto, fenyylialaniinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

25 c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksylihaposta,

30 d. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksylihaposta,

e. nikotiinihaposta

f. karboksylihaposta, joka on puolestaan peräisin

35

i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  $HOOC-(CH_2)_m-(CH_2CH_2O)_nH$  tai  $HOOC-(CH_2)_m-(CH_2CH_2O)_nCH_3$ , tai

ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , tai

5 II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliryhmä, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalaisesta hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ , tai

10 III. asyyliiryhmä, joka on peräisin

a. alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihaposta tai

b. alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaattista, edellyttäen, että ryhmät  $R_A$  ja  $R_B$  eivät ole molemmat vetyjä; ja

15

$R_C$  on vety tai

I. asyyliiryhmä, joka on peräisin

20

a. 6 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalaisesta hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ ,

25

b. aminohaposta, joka on glysiini, fenyylialaniinin L-muoto,alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lyysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

30

c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

35

d. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta,

e. nikotiinihaposta tai

f. 7 - 22-hiiliatomisesta substituoidusta tai substituoi-  
mattomasta aromaattisesta karboksyylihaposta,

g. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

5

i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  
 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_3$ , tai

ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  
10  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , jossa  $m =$   
0 - 3 ja  $n = 2 - 8$ , tai

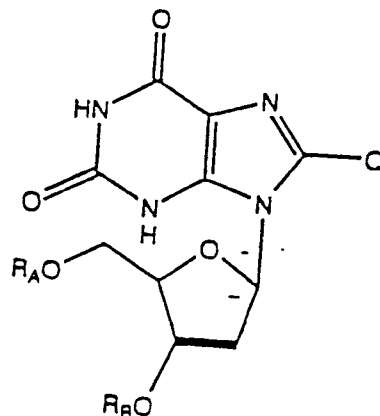
II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliryhmä, joka  
on mahdollisesti substituoitu terminaalisesta hiilestä  
15 hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$   
tai  $\text{SO}_3^-$ ,

ja silloin kun  $R_C$  ei ole H, niin  $R_A$  ja/tai  $R_B$  voivat myös  
olla asetyyli, ja

20

$J = \text{H}$  tai  $\text{NHR}_I$ , jossa  $R_I$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli-  
tai alkyyliryhmä ;

(6) deoksiksantosiniin tai sen kanssa samaan ryhmään kuulu-  
vien yhdisteiden asyyli- tai alkyyl johdannaiset, joilla on  
25 kaava:



30

35

jossa  $R_A$  ja  $R_B$  ovat samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat vety  
tai

I. asyyliiryhmä, joka on peräisin

5 a. 6 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ ,

10 b. aminohaposta, joka on glysiini, fenyylialaniinin L-muoto, alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lyysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

15

c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

d. nikotiinihaposta tai

20

e. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta,

f. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

25

i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_3$ , tai

30

ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , jossa  $m = 0 - 3$  ja  $n = 2 - 8$ , tai

35

II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliryhmä, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ , tai

III. asyyliiryhmä, joka on peräisin

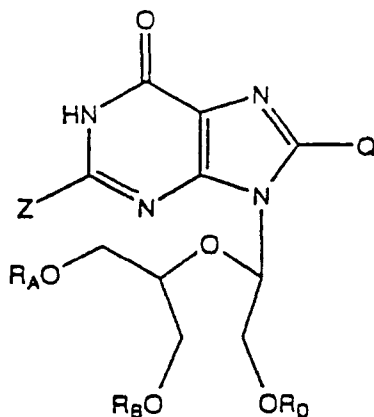
a. alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihaposta tai

b. alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaatista,

5 edellyttäen, että ryhmistä  $R_A$  ja  $R_B$  vähintään toinen ei ole vety, ja

10  $Q = H$ , halogeeni,  $NHR_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, S on sitoutunut kaksois-sidoksella hiileen, jossa tapauksessa viereinen hiili-typ-  
pi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän tyypeen  
liittyy silloin H,  $SR_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 - 10-hiili-  
atominen asyyli- tai alkyyliryhmä, O on sitoutunut kaksois-  
15 hiili-typ-  
pi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän  
tyypeen liittyy silloin H, tai  $OR_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 -  
10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä;

20 (7) inosiinin asyklisen 2',3'-dialkoholin tai sen kanssa samaan ryhmään kuuluvien yhdisteiden asyyli- tai alkyyl-  
johdannaiset, joilla on kaava:



25  
30  
35 jossa  $R_A$ ,  $R_B$  ja  $R_D$  ovat samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat vety tai

I. asyyli- tai alkyyliryhmä, joka on peräisin

a. 6 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ ,

5

b. aminohaposta, joka on glysiini, fenyylialaniinin L-muoto,alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lyysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

10

c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

15

d. nikotiinihaposta tai

e. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta,

20

f. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_3$ , tai

ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , jossa  $m = 0 - 3$  ja  $n = 2 - 8$ , tai

25

II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliryhmä, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ , tai

30

III. asyyliiryhmä, joka on peräisin

35

a. alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihaposta tai

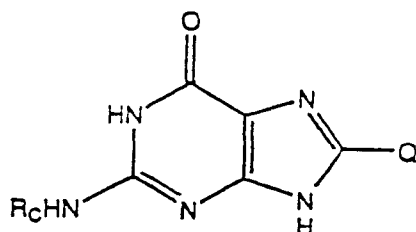
b. alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaattista,

edellyttäen, että ryhmät  $R_A$ ,  $R_B$  ja  $R_D$  eivät ole kaikki vetyjä, ja

5  $Q = H$ , halogeeni,  $NHR_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiili-atominen asyyli- tai alkyyliryhmä, S on sitoutunut kaksois-sidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän tyypeen liittyy silloin H,  $SR_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, O on sitoutunut 10 kaksoisidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän tyypeen liittyy silloin H, tai  $OR_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, ja

15 Z on H, OH, =O tai  $NHR_C$ , jossa  $R_C = H$  tai 2 - 30-hiiliatomisen karboksyylihapon asyyli- tai alkyyliryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen alkyyliryhmä;

20 (8) guaniinin tai sen kanssa samaan ryhmään kuuluvien yhdisteiden asyyli- tai alkyyliryhmät, joilla on kaava:



25 jossa  $R_C$  on vety tai asyyli- tai alkyyliryhmä, joka on peräisin

30 i. 6 - 22-hiiliatomisesta haarottumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $NH_2$ , OH,  $OPO_3^-$ ,  $PO_3^-$ ,  $OSO_3^-$  tai  $SO_3^-$ ,

35 ii. aminohaposta, joka on glysiini, fenyylialaniinin L-muoto, alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin

L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

5

iii. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

iv. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta,

10

v. nikotiinihaposta tai

vi. 7 - 22-hiiliatomisesta substituoidusta tai substituomattomasta aromaattisesta karboksyylihaposta,

15

vii. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

1. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_3$ , tai

20

2. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , jossa  $m = 0 - 3$  ja  $n = 2 - 8$ , tai

25

viii. 3 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta alkyyliryhmästä, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ , ja

30

$Q = \text{H}$ , halogeeni,  $\text{NHR}_F$ , jossa  $R_F$  on  $\text{H}$  tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $S$  on sitoutunut kaksoisidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-tyyppi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän tyypeen liittyy silloin  $\text{H}$ ,  $\text{SR}_G$ , jossa  $R_G$  on  $\text{H}$  tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $O$  on sitoutunut kaksoisidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-tyyppi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja

35

tähän tyypeen liittyy silloin H, tai  $OR_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä.

5 Kaikkien niiden edellä olevien rakenteiden kyseessä ollessa, joissa puriiniemäksen 2-asemassa oleva substituentti (Z) tai puriiniemäksen 8-asemassa oleva substituentti (Q tai L) kiinnittyy puriiniemäkseen kaksoissidoksella (esimerkiksi =O tai =S), tulee tämän vieressä olevasta puriiniemäksessä sijaitsevasta hiili-typpi-kaksoissidoksesta yksinkertainen 10 hiili-typpi-sidos ja tämän yksinkertaisen hiili-typpi-sidoksen tyyppi saa uuden vedyn.

Tämä keksintö kattaa myös edellä mainittujen yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat.

15

#### Lyhyt kuvaus piirroksista

Kuvio 1 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa hiirten pernan painoa fysiologisella suolaliuoksella, guaniinilla ja guanosiinilla esimerkissä 37 kuvatulla tavalla suoritettun 20 käsittelyn jälkeen. (Tässä kuviossa kussakin tämän jälkeen tulevassa kuviossa merkitsee asteriski (\*) tilastollisesti merkittäviä eroja).

25

Kuvio 2 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa valkosolujen lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, guaniinilla ja guanosiinilla esimerkissä 37 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

30

Kuvio 3 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, guaniinilla ja guanosiinilla esimerkissä 37 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

35

Kuvio 4 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa hiirten pernan painoa fysiologisella suolaliuoksella, Tween-80:llä, guanosiinilla, triasetyyli-*guanosiinilla*, oktanoyyli-*guanosiinilla*, lauryyli-*guanosiinilla* ja palmitoyyli-*guanosiinilla*

esimerkissä 38 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

5 Kuvio 5 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa valkosolujen lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, Tween-80:llä, guanosiinilla, triasetyyli-  
guanosiinilla, oktanoyyli-  
guanosiinilla, lauryyli-  
guanosiinilla ja palmitoyyli-  
guanosiinilla esimerkissä 38 kuvatulla tavalla suoritetun käsittelyn jälkeen.

10

15 Kuvio 6 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, Tween-80:llä, guanosiinilla, triasetyyli-  
guanosiinilla, oktanoyyli-  
guanosiinilla, lauryyli-  
guanosiinilla ja palmitoyyli-  
guanosiinilla esimerkissä 38 kuvatulla tavalla suoritetun käsittelyn jälkeen.

20

Kuvio 7 on kaavio, joka esittää pesäkkeiden lukumäärää reisiluuta kohti esimerkissä 40 kuvatun syklofosfamidi-  
käsittelyn jälkeen.

25 Kuvio 8 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa hiirten pernan painoa fysiologisella suolaliuoksella, Tween-80:llä ja palmitoyyli-  
guanosiinilla useita eri pituisia aikoja esimerkissä 41 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

30 Kuvio 9 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa valkosolujen lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, Tween-80:llä ja palmitoyyli-  
guanosiinilla esimerkissä 41 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

35

Kuvio 10 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, Tween-80:llä ja palmitoyyli-  
guanosiinilla esimerkissä 41 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

Kuvio 11 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa lymfosyyttien lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, Tween-80:llä ja palmitoyylylguanosiinilla esimerkissä 41 kuvatulla tavalla suoritetun käsittelyn jälkeen.

5

Kuvio 12 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa hiirten pernan painoa fysiologisella suolaliuoksella ja palmitoyylylguanosiinilla esimerkissä 42 kuvatulla tavalla suoritetun käsittelyn jälkeen. "5FU" on 5-fluoriurasiili.

10

Kuvio 13 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa lymfosyyttien lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja palmitoyylylguanosiinilla esimerkissä 42 kuvatulla tavalla suoritetun käsittelyn jälkeen.

15

Kuvio 14 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja palmitoyylylguanosiinilla esimerkissä 42 kuvatulla tavalla suoritetun käsittelyn jälkeen.

20

Kuvio 15 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa valkosolujen lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja palmitoyylylguanosiinilla esimerkissä 42 kuvatulla tavalla suoritetun käsittelyn jälkeen.

25

Kuvio 16 on kaavio, joka esittää verihiutaleiden lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja palmitoyylylguanosiinilla esimerkissä 43 kuvatulla tavalla suoritetun käsittelyn jälkeen.

30

Kuvio 17 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa hiirten pernan painoa fysiologisella suolaliuoksella ja palmitoyylylguanosiinilla esimerkissä 43 kuvatulla tavalla suoritetun käsittelyn jälkeen.

35

Kuvio 18 on kaavio, joka esittää neutrofiilien lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja palmitoyylyli-

guanosiinilla esimerkissä 43 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

5 Kuvio 19 on kaavio, joka esittää valkosolujen lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja palmitoyyli-guanosiinilla esimerkissä 43 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

10 Kuvio 20 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa hiirten pernan painoa Tween-80:llä, palmitoyyli-guanosiinilla ja palmitoyylideoksi-inosiinilla esimerkissä 44 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

15 Kuvio 21 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa valkosolujen lukumäärää hiirissä Tween-80:llä, palmitoyyli-guanosiinilla ja palmitoyylideoksi-inosiinilla esimerkissä 44 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

20 Kuvio 22 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien lukumäärää hiirissä Tween-80:llä, palmitoyyli-guanosiinilla ja palmitoyylideoksi-inosiinilla esimerkissä 44 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

25 Kuvio 23 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa hiirten pernan painoa fysiologisella suolaliuoksella, Tween-80:llä ja oktanoyyli-guanosiinilla esimerkissä 44 kuvatulla tavalla useita eri konsentraatioita käyttäen suoritettun käsittelyn jälkeen.

30 Kuvio 24 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa valkosolujen lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, Tween-80:llä ja oktanoyyli-guanosiinilla esimerkissä 44 kuvatulla tavalla useita eri konsentraatioita käyttäen suoritettun käsittelyn jälkeen.

35 Kuvio 25 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella,

Tween-80:llä ja oktanoyylyguanosiinilla esimerkissä 45 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

5 Kuvio 26 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa hiirten pernan painoa fysiologisella suolaliuoksella, Tween-80:llä ja oktanoyylyguanosiinilla esimerkissä 46 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

10 Kuvio 27 on kaavio, joka esittää fysiologisen suolaliuoksen, Tween-80:n ja oktanoyylyguanosiinin vaikutusta syklofosamidilla käsitellyissä hiirissä hematopoiesin arviointipistemäärään esimerkissä 46 kuvattua menettelyä noudattaen.

15 Kuvio 28 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa valkosolujen lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, Tween-80:llä ja oktanoyylyguanosiinilla esimerkissä 46 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

20 Kuvio 29 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, Tween-80:llä ja oktanoyylyguanosiinilla esimerkissä 46 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

25 Kuvio 30 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa valkosolujen lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, bentsoyylyguanosiinilla ja palmitoyylyguanosiinilla esimerkissä 47 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

30 Kuvio 31 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, bentsoyylyguanosiinilla ja palmitoyylyguanosiinilla esimerkissä 47 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

35 Kuvio 32 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa hiirten pernan painoa fysiologisella suolaliuoksella, bentsoyyli-

guanosiinilla ja palmitoyylyguanosiinilla esimerkissä 47 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

5 Kuvio 33 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa verihiutaleiden lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuksella, bentsooylyguanosiinilla ja palmitoyylyguanosiinilla esimerkissä 47 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

10 Kuvio 34 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa hiirten pernan painoa fysiologisella suolaliuksella, palmitoyyli-inoosiinilla ja palmitoyylyksantosiinilla esimerkissä 48 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

15 Kuvio 35 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa valkosolujen lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuksella, palmitoyylideoksi-inoosiinilla ja palmitoyylyksantosiinilla esimerkissä 48 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

20 Kuvio 36 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuksella, palmitoyylideoksi-inoosiinilla ja palmitoyylyksantosiinilla esimerkissä 48 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

25 Kuvio 37 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa hiirten pernan painoa fysiologisella suolaliuksella, palmitoyylyksantosiinilla, palmitoyyli-inoosiinilla, palmitoyylyguanosiinilla, lauryylyguanosiinilla ja oktanoyylyguanosiinilla esimerkissä 30 49 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

35 Kuvio 38 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa valkosolujen lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuksella, palmitoyylyksantosiinilla, palmitoyyli-inoosiinilla, palmitoyylyguanosiinilla, lauryylyguanosiinilla ja oktanoyylyguanosiinilla esimerkissä 49 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

Kuvio 39 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien lukumäärää hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, palmitoyylikantosiniinilla, palmitoyyli-inosiinilla, palmitoyyliyguanosiinilla, lauryyliyguanosiinilla ja oktanoyyliyguanosiinilla esimerkissä 49 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

Kuvio 40 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien lukumäärää hiirissä Tween-80:llä, palmitoyyliasykloviirillä, palmitoyyliarabinosyylihypoksantiinilla, palmitoyyli-8-tioguanosiinilla, palmitoyylideoksiguanosiinilla, palmitoyyliarabinosyyliyguaniinilla, palmitoyylideoksi-inosiinilla ja monopalmitoyliyguanosiinin asyklisellä 2',3'-dialkoholilla esimerkissä 50 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

Kuvio 41 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa valkosolujen lukumäärää hiirissä Tween-80:llä, palmitoyyliasykloviirillä, palmitoyyliarabinosyylihypoksantiinilla, palmitoyyli-8-tioguanosiinilla, palmitoyylideoksiguanosiinilla, palmitoyyliarabinosyyliyguaniinilla, palmitoyylideoksi-inosiinilla ja monopalmitoyliyguanosiinin asyklisellä 2',3'-dialkoholilla esimerkissä 50 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

Kuvio 42 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa pernan painoa hiirissä Tween-80:llä, palmitoyyliasykloviirillä, palmitoyyliarabinosyylihypoksantiinilla, palmitoyyli-8-tioguanosiinilla, palmitoyylideoksiguanosiinilla, palmitoyyliarabinosyyliyguaniinilla, palmitoyylideoksi-inosiinilla ja monopalmitoyliyguanosiinin asyklisellä 2',3'-dialkoholilla esimerkissä 50 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

Kuvio 43 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa pernan painoa hiirissä Tween-80:llä, 3'-O-palmitoyylideoksiguanosiinilla, butyryylideoksiguanosiinilla, palmitoyyli-N-isobutyryyli-

deoksiguanosiinilla, lauryylideoksiguanosiinilla, okta-  
noyylideoksiguanosiinilla ja palmitoyylideoksiguanosiinilla  
esimerkissä 51 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn  
jälkeen.

5

Kuvio 44 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien  
lukumääriä hiirissä Tween-80:llä, 3'-O-palmitoyylideoksi-  
guanosiinilla, butyryylideoksiguanosiinilla, palmitoyyli-N-  
isobutyryylideoksiguanosiinilla, lauryylideoksiguanosiinil-  
la, oktanoyylideoksiguanosiinilla ja palmitoyylideoksiguano-  
siinilla esimerkissä 51 kuvatulla tavalla suoritettun  
käsittelyn jälkeen.

10

Kuvio 45 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa valkosolujen  
lukumääriä hiirissä Tween-80:llä, 3'-O-palmitoyylideoksi-  
guanosiinilla, butyryylideoksiguanosiinilla, palmitoyyli-N-  
isobutyryylideoksiguanosiinilla, lauryylideoksiguanosiinil-  
la, oktanoyylideoksiguanosiinilla ja palmitoyylideoksiguano-  
siinilla esimerkissä 51 kuvatulla tavalla suoritettun  
käsittelyn jälkeen.

15

20

Kuvio 46 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa pernan painoa  
hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja palmitoyyli-  
deoksiguanosiinin neljällä eri annoksella: 0,2, 0,4, 1,0 ja  
2,0  $\mu\text{mol}/\text{hiiri}$  esimerkissä 52 kuvatulla tavalla suoritettun  
käsittelyn jälkeen.

25

Kuvio 47 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa valkosolujen  
lukumääriä hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja pal-  
mitoyylideoksiguanosiinin neljällä eri annoksella: 0,2, 0,4,  
1,0 ja 2,0  $\mu\text{mol}/\text{hiiri}$  esimerkissä 52 kuvatulla tavalla  
suoritettun käsittelyn jälkeen.

30

Kuvio 48 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien  
lukumääriä hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja pal-  
mitoyylideoksiguanosiinin neljällä eri annoksella: 0,2, 0,4,

35

1,0 ja 2,0  $\mu\text{mol}$ /hiiri esimerkissä 52 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

5 Kuvio 49 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa pernan painoa hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, palmitoyylideoksi-  
guanosiinilla ja palmitoyyliguanosiinin neljällä eri annok-  
sella: 0,2, 0,4, 1,0 ja 2,0  $\mu\text{mol}$ /hiiri esimerkissä 53 kuva-  
tulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

10 Kuvio 50 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa valkosolujen  
lukumääriä hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, palmi-  
toyyylideoksiguanosiinilla ja palmitoyyliguanosiinin neljällä  
eri annoksella: 0,2, 0,4, 1,0 ja 2,0  $\mu\text{mol}$ /hiiri esimerkissä  
53 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

15

Kuvio 51 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien  
lukumääriä hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, pal-  
mitoyylideoksiguanosiinilla ja palmitoyyliguanosiinin nel-  
jällä eri annoksella: 0,2, 0,4, 1,0 ja 2,0  $\mu\text{mol}$ /hiiri  
20 esimerkissä 53 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn  
jälkeen.

25 Kuvio 52 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa pernan painoa  
hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja palmitoyyli-  
deoksiguanosiinin kuudella eri annoksella: 0,04, 0,08, 0,2,  
0,4, 0,6 tai 0,8  $\mu\text{mol}$ /hiiri esimerkissä 54 kuvatulla tavalla  
suoritettun käsittelyn jälkeen.

30 Kuvio 53 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa valkosolujen  
lukumääriä hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja pal-  
mitoyylideoksiguanosiinin kuudella eri annoksella: 0,04,  
0,08, 0,2, 0,4, 0,6 tai 0,8  $\mu\text{mol}$ /hiiri esimerkissä 54 kuva-  
tulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

35 Kuvio 54 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien  
lukumääriä hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja pal-  
mitoyylideoksiguanosiinin kuudella eri annoksella: 0,04,

0,08, 0,2, 0,4, 0,6 tai 0,8  $\mu\text{mol}$ /hiiri esimerkissä 54 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

5 Kuvio 55 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa valkosolujen lukumääriä hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja palmitoyylideoksiguanosiinilla esimerkissä 55 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

10 Kuvio 56 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien lukumääriä hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja palmitoyylideoksiguanosiinilla esimerkissä 55 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

15 Kuvio 57 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa verihiutaleiden lukumääriä hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja palmitoyylideoksiguanosiinilla esimerkissä 55 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

20 Kuvio 58 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa lymfosyyttien lukumääriä hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja palmitoyylideoksiguanosiinilla esimerkissä 55 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

25 Kuvio 59 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa pernan painoa hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, palmitoyyli-8-bromiguanosiinilla, monopalmitoyyliguanosiinin asyklisellä 2',3'-dialkoholilla, palmitoyyliguanosiinilla ja palmitoyylideoksiguanosiinilla esimerkissä 56 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

30

35 Kuvio 60 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa verihiutaleiden lukumääriä hiirissä fysiologisella suolaliuoksella, palmitoyyli-8-bromiguanosiinilla, monopalmitoyyliguanosiinin asyklisellä 2',3'-dialkoholilla, palmitoyyliguanosiinilla ja palmitoyylideoksiguanosiinilla esimerkissä 56 kuvatulla tavalla suoritettun käsittelyn jälkeen.

5 Kuvio 61 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa myeloidi-  
solujen lukumääriä reisiluuta kohti hiirissä fysiologisella  
suolaliuoksella, palmitoyyli-8-bromiguanosiinilla, mono-  
palmitoyyliguanosiinin asyklisellä 2',3'-dialkoholilla,  
palmitoyyliguanosiinilla ja palmitoyylideoksiguanosiinilla  
esimerkissä 56 kuvatulla tavalla suoritetun käsittelyn  
jälkeen.

10 Kuvio 62 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa verihiuta-  
leiden lukumääriä hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja  
palmitoyylideoksiguanosiinilla esimerkissä 57 kuvatulla  
tavalla suoritetun käsittelyn jälkeen.

15 Kuvio 63 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa pernan painoa  
hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja palmitoyyli-  
deoksiguanosiinilla esimerkissä 57 kuvatulla tavalla suori-  
tetun käsittelyn jälkeen.

20 Kuvio 64 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien  
lukumääriä hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja pal-  
mitoyylideoksiguanosiinilla esimerkissä 57 kuvatulla tavalla  
suoritetun käsittelyn jälkeen.

25 Kuvio 65 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa valkosolujen  
lukumääriä hiirissä fysiologisella suolaliuoksella ja pal-  
mitoyylideoksiguanosiinilla esimerkissä 57 kuvatulla tavalla  
suoritetun käsittelyn jälkeen.

30 Kuvio 66 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien  
lukumääriä hiirissä Tween-80:llä eri konsentraatioissa sekä  
palmitoyyliguanosiinin kanssa että ilman tätä esimerkissä 58  
kuvatulla tavalla suoritetun käsittelyn jälkeen.

35 Kuvio 67 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa neutrofiilien  
lukumääriä hiirissä, joita on käsitelty fysiologisella  
suolaliuoksella ja palmitoyyli-8-aminoguanosiinilla esi-  
merkissä 59 kuvatulla tavalla.

Kuvio 68 on kaavio, jossa verrataan toisiinsa pernan painoa hiirissä, joita on käsitelty fysiologisella suolaliuksella ja palmitoyyli-8-aminoguanosiinilla esimerkissä 59 kuvatulla tavalla.

5

Kuvio 69 on kaavio, joka esittää PdG:n vaikutuksesta tapahtuvaa kantasolujen mobilisaatiota.

Tämä keksintö sekä sen muut tavoitteet, ominaisuudet ja edut tulevat selvemmin ja täydellisemmin ymmärrettäviksi seuraavan yksityiskohtaisen selityksen perusteella tarkastelemalla samalla oheisia kuvioita, jotka valaisevat alla olevissa esimerkeissä tarkasteltujen kokeiden tuloksia.

#### 15 Keksinnön yksityiskohtainen selitys

Tarkasteltava keksintö liittyy oksipuriininukleosideihin, näiden nukleosidien kanssa samaan ryhmään kuuluviin yhdisteisiin ja näiden nukleosidien asyyli- ja alkyyljohdannaisiin ja niiden kanssa samaan ryhmään kuuluviin yhdisteisiin, sekä näiden yhdisteiden käyttöön hematopoieesin modifioimiseksi eläimissä, ihmiset mukaan lukien.

#### A. Määritelmät

25 Termi "oksimpuriiniemäs" tarkoittaa tässä keksinnössä puriiniemästä, joka sisältää 6-asemassa sijaitsevan renkaan ulkopuolisen hapen tai hydroksyyli-ryhmän ja 2-asemassa sijaitsevan vedyn, hapen, hydroksyyli-ryhmän tai aminoryhmän.

30 Termi "oksimpuriininukleosidi" tarkoittaa tässä keksinnössä oksipuriniemästä, joka on liittynyt 9-asemassa sijaitsevasta tyyppistä 5-hiilisen aldoosin 1'-asemaan. Termi oksipuriniininukleosidi sisältää yhdisteet guanosiini, inosiini, deoksi-inosiini, ksantosiini, deoksiksentosiini ja deoksi-guanosiini, näihin kuitenkin rajoittumatta.

35

Termi "samaa ryhmään kuuluva yhdiste" tarkoittaa tässä keksinnössä oksipuriniininukleosidia, joka sisältää substi-

tuentin, joka on kiinnittynyt puriinirengasosan 7- tai 8- asemaan, ja/tai oksipuriininukleosidia, joka sisältää aldoosin, jonka rengas on aukaistu (esimerkiksi guanosiini-2',3'-dialkoholi).

5

Termi "asyylijohdannainen" tarkoittaa tässä keksinnössä oksipuriininukleosidin johdannaista tai tämän kanssa samaan ryhmän kuuluvaa yhdistettä, jossa huomattavassa määrin eittoksinen orgaanisesta karboksyylihaposta peräisin oleva asyyli-substituentti kiinnittyy oksipuriininukleosidin riboosiosan yhteen tai useampaan vapaaseen hydroksyyli-ryhmään esterisidoksella ja/tai jossa tällainen substituentti kiinnittyy guanosiinin puriinirenkaassa olevaan amiinisubstituenttiin amidisidoksen avulla. Tällaiset asyyli-substituentit ovat peräisin karboksyylihapoista, joita ovat, mainittuihin kuitenkin rajoittumatta, yhdisteet, kuten maitohappo, aminohappo, rasvahappo, nikotiinihappo, dikarboksyylihapot, p-aminobentsoehappo ja orottihappo. Edullisia asyyli-substituentteja ovat ruumiissa normaalisti joko ravinnon osana tai välituotteina aineenvaihdunnassa esiintyvät yhdisteet.

Termi "farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat" tarkoittaa tässä keksinnössä suoloja johdannaisten farmaseuttisesti hyväksyttävien happoadditiosuolojen kanssa ja joita ovat, mainittuihin kuitenkin rajoittumatta, rikki-, suola- tai fosforihapot.

Termi "annettuna yhtäaikaisesti" tarkoittaa, että vähintään kahta tämän keksinnön mukaista yhdistettä annetaan aikajakunassa, jossa näitä yhdisteitä vastaavat farmakologisen aktiivisuuden jaksot menevät toistensa suhteen päällekkäin.

Termi "aminohapot" sisältää tässä keksinnössä, mainittuihin kuitenkin rajoittumatta, glysiinin, alaniinin, valiinin, leusiinin, isoleusiinin, fenyylialaniinin, tyrosiinin, proliinin, hydroksiproliinin, seriinin, treoniinin, kys-

teinin, kystiinin, metioniinin, tryptofaanin, asparaagiinihapon L-muodon, glutamiinihapon L-muodon, arginiinin, lyysiinin, histidiinin, ornitiinin, hydroksilyysiinin, karnitiinin ja muut luonnossa esiintyvät aminohapot.

5

Termi "rasvahapot" tarkoittaa tässä keksinnössä 2 - 22-hiiliatomisia alifaattisia karboksyylihappoja. Nämä rasvahapot voivat olla tyydyttyneitä, osittain tyydyttyneitä tai monityydyttämättömiä.

10

Termi "dikarboksyylihapot" tarkoittaa tässä keksinnössä rasvahappoja, jotka sisältävät toisen karboksyylihapo-substituentin.

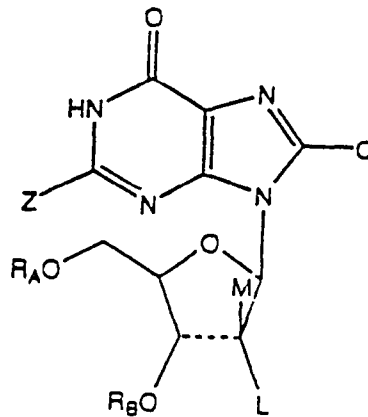
15

Termi "terapeuttisesti tehokas määrä" tarkoittaa tässä keksinnössä sitä määrää, jolla saadaan terapeuttisia vaikutuksia tietyn sairauden ja annosteluohjelman kyseessä ollessa.

20

#### B. Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet

Tämän keksinnön mukaisilla yhdisteillä, jotka ovat käyttökelpoisia modifioimaan hematopoieesia, on rakenne:



25

30

35

$R_A$  = H tai karboksyyli-, alkyylifosfoni- tai alkyyliulfoni- hapon asyyliiryhmä, alkyylifosfaatin tai alkyyliulffaatin asyyliiryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen alkyyliiryhmä, ja

$R_B = H$  tai karboksyyli-, alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihapon asyyli-ryhmä, alkyylifosfaatin tai alkyylisulfaatin asyyli-ryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen alkyyliryhmä, ja

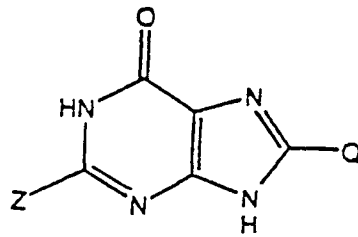
5  $Z = H, OH, =O$  tai  $NHR_C$ , jossa  $R_C = H$  tai 2 - 30-hiiliatomisen karboksyylihapon asyyli-ryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen alkyyliryhmä, ja

10  $L = H$  tai  $OR_D$ , jossa  $R_D = H$  tai karboksyyli-, alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihapon asyyli-ryhmä, alkyylifosfaatin tai alkyylisulfaatin asyyli-ryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen alkyyliryhmä, ja

15  $M = H$  tai  $OR_E$ , jossa  $R_E = H$  tai karboksyyli-, alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihapon asyyli-ryhmä, alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaatista muodostuva ryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen alkyyliryhmä, edellyttäen, että ryhmistä L ja M vähintään toinen on H, ja

20  $Q = H$ , halogeeni,  $NHR_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, S on sitoutunut kaksois-sidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän tyypeen liittyy silloin H,  $SR_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, O on sitoutunut kaksois-sidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän tyypeen liittyy silloin H, tai  $OR_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, ja

25  
30  
aldoosiryhmän 2'- ja 3'-asemien välillä esiintyy mahdollisesti C-C-sidos,  
tai,



5

Z =  $\text{NHR}_C$ , jossa  $R_C$  = H tai 2 - 30-hiiliatomisen karboksyyli-

hapon asyyli- tai alkyyliryhmä tai 2 - 30-hiiliatomisen alkyyliryhmä, ja

10

Q = H, halogeeni,  $\text{NHR}_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiiliatomi-

nen asyyli- tai alkyyliryhmä, S on sitoutunut kaksois-

15

sidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva

hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän

tyypeen liittyy silloin H,  $\text{SR}_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 -

20

10-hiiliatomisen asyyli- tai alkyyliryhmä, O on sitoutunut

kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä

oleva hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja

tähän tyypeen liittyy silloin H, tai  $\text{OR}_H$ , jossa  $R_H$  on H tai

1 - 10-hiiliatomisen asyyli- tai alkyyliryhmä.

25

Tämän keksinnön mukaiset uudet koostumukset sisältävät

edellä mainittuja yhdisteitä, joissa vähintään yksi ryhmistä

$R_A$ ,  $R_B$ ,  $R_C$ ,  $R_D$  tai  $R_E$  on jokin muu ryhmä kuin H, ja yh-

disteissä, joissa Z on  $\text{NH}_2$  tai  $\text{NHR}_C$ , on Q tässä tapauksessa

H tai  $\text{NHR}_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiiliatomisen asyyli-

tai alkyyliryhmä, sekä farmaseuttisesti hyväksyttävää

kantaja-ainetta.

30

Tarkemmin sanottuna tämän keksinnön mukaisia uusia yhdis-

teitä ovat, mainittuihin kuitenkin rajoittumatta:

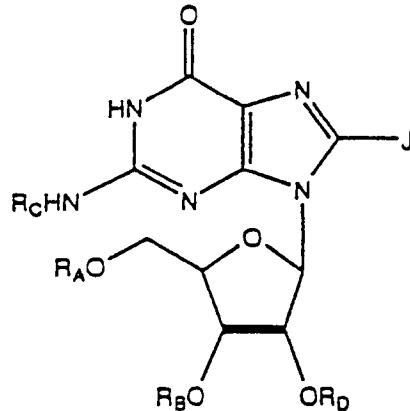
(1) guanosiinin tai sen kanssa samaan ryhmään kuuluvien

yhdisteiden asyyli- tai alkyyliryhmät, joilla on

kaava:

35

5



10

jossa  $R_A$ ,  $R_B$  ja  $R_D$  ovat samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat vety tai

I. asyyliiryhmä, joka on peräisin

15

a. 6 - 22-hiiliatomisesta haarottumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalisesta hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $NH_2$ ,  $OH$ ,  $OPO_3^-$ ,  $PO_3^-$ ,  $OSO_3^-$  tai  $SO_3^-$ ,

20

b. aminohaposta, joka on glysiini, alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

25

c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

30

d. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta,

e. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

35

i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  $HOOC-(CH_2)_m-(CH_2CH_2O)_nH$  tai  $HOOC-(CH_2)_m-(CH_2CH_2O)_nCH_3$ , tai

ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , jossa  $m = 0 - 3$  ja  $n = 2 - 8$ , tai

5 II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliryhmä, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ , tai

10 III. asyyliryhmä, joka on peräisin

a. alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihaposta tai

b. alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaattista,

15

edellyttäen, että ryhmät  $R_A$ ,  $R_B$  ja  $R_D$  eivät ole kaikki vetyjä; ja  $R_C$  on vety, tai

I. asyyliryhmä, joka on peräisin

20

a. 6 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ ,

25

b. aminohaposta, joka on glysiini, fenyylialaniinin L-muoto,alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

30

c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

35

d. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkylikarboksyylihaposta,

40

e. nikotiinihaposta tai

f. 7 - 22-hiiliatomisesta substituoidusta tai substituoi-  
mattomasta aromaattisesta karboksyylihaposta,

5

g. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  
 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_3$ , tai

10

ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  
 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , jossa  $m =$   
 $0 - 3$  ja  $n = 2 - 8$ , tai

15

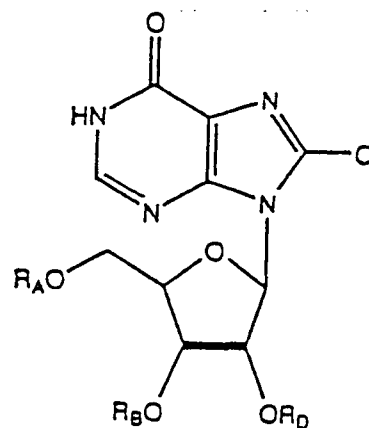
II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliryhmä, joka  
on mahdollisesti substituoitu terminaalisesta hiilestä  
hydrofiilillä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$   
tai  $\text{SO}_3^-$ , ja

20

$\text{J} = \text{H}$  tai  $\text{NHR}_1$ , jossa  $\text{R}_1$  on  $\text{H}$  tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli-  
tai alkyyliryhmä;

(2) inosiinin tai sen kanssa samaan ryhmään kuuluvien yh-  
disteiden asyyli- tai alkyylijohdannaiset, joilla on kaava

25



30

jossa  $\text{R}_A$  on vety tai

35

I. asyyli- tai alkyyliryhmä, joka on peräisin

a. 6 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilillä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ ,

5

b. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

c. nikotiinihaposta tai

10

d. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta ja

e. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

15

i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_3$ , tai

ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , jossa  $m = 0 - 3$  ja  $n = 2 - 8$ , tai

20

II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliryhmä, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilillä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ , tai

25

III. asyyliryhmä, joka on peräisin

a. alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihaposta tai

30

b. alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaattista,

jossa  $R_B$  ja/tai  $R_D$  ovat vety tai

35

I. asyyliryhmä, joka on peräisin

a. 3 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä

hydrofiiliselällä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ ,

5 b. aminohaposta, joka on glysiini, fenyylialaniinin L-muoto, alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lysyiinin L-muoto, 10 histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

d. nikotiinihaposta tai

15

e. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta,

f. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

20

i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_3$ , tai

ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , jossa  $m =$  0 - 3 ja  $n = 2 - 8$ , tai

25

II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliiryhmä, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiiliselällä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ , tai

30

III. asyyliiryhmä, joka on peräisin

a. alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihaposta tai

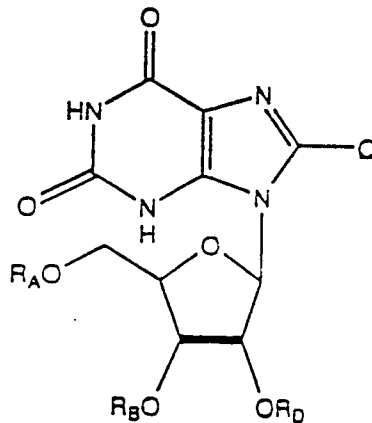
35

b. alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaattista,

edellyttäen, että ryhmät  $R_A$ ,  $R_B$  ja  $R_D$  eivät ole kaikki vetyjä, ja

5  $Q = H$ , halogeeni,  $NHR_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiili-  
atominen asyyli- tai alkyyliryhmä, S on sitoutunut kaksois-  
sidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva  
hiili-tyyppi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän  
tyypeen liittyy silloin H,  $SR_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 -  
10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, O on sitoutunut  
10 kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä  
oleva hiili-tyyppi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja  
tähän tyypeen liittyy silloin H, tai  $OR_H$ , jossa  $R_H$  on H tai  
1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä;

15 (3) ksantosiinin tai sen kanssa samaan ryhmään kuuluvien  
yhdisteiden asyyli- tai alkyyl johdannaiset, joilla on  
kaava:



25 jossa  $R_A$ ,  $R_B$  ja  $R_D$  ovat samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat  
vety tai

30 I. asyyliiryhmä, joka on peräisin

35 a. 6 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta,  
joka on mahdollisesti substituoitu terminaalisesta hiilestä  
hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $NH_2$ , OH,  $OPO_3^-$ ,  $PO_3^-$ ,  $OSO_3^-$   
tai  $SO_3^-$ ,

b. aminohaposta, joka on glysiini, fenyylialaniinin L-muoto, alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-  
5 muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

10

d. nikotiinihaposta tai

e. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta,

15

f. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_3$ , tai

20

ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , jossa  $m = 0 - 3$  ja  $n = 2 - 8$ , tai

II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliryhmä, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ , tai

25

III. asyyliryhmä, joka on peräisin

30

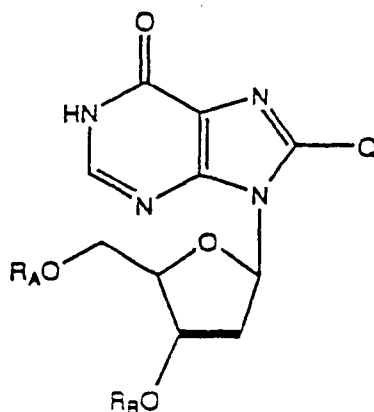
a. alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihaposta tai

b. alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaatista, edellyttäen, että ryhmät  $R_A$ ,  $R_B$  ja  $R_D$  eivät ole kaikki vetyjä, ja

35

Q = H, halogeeni,  $\text{NHR}_F$ , jossa  $R_F$  on H, 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, S on sitoutunut kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-tyyppi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän tyypeen liittyy silloin H,  $\text{SR}_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, O on sitoutunut kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-tyyppi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän tyypeen liittyy silloin H, tai  $\text{OR}_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä;

(4) deoksi-inosiinin tai sen kanssa samaan ryhmään kuuluvien yhdisteiden asyyli- tai alkyylijohdannaiset, joilla on kaava:



jossa  $R_A$  ja  $R_B$  ovat samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat vety tai

I. asyyliiryhmä, joka on peräisin

a. 6 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ , OH,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$ ,  $\text{SO}_3^-$ ,

b. aminohaposta, joka on glysiini, fenyylialaniinin L-muoto, alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-

muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lyysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

5 c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

d. nikotiinihaposta tai

10 e. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta,

f. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

15 i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_3$ , tai

ii. vinyylialkoholien polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , jossa  $m = 0 - 3$  ja  $n = 2 - 8$ , tai

20 II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliryhmä, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalaisesta hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ , tai

25 III. asyyliryhmä, joka on peräisin

a. alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihaposta tai

30 b. alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaattista,

edellyttäen, että ryhmistä  $R_A$  ja  $R_B$  vähintään toinen ei ole vety, ja

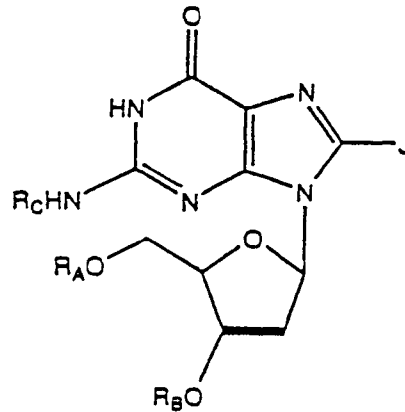
35  $Q = \text{H}$ , halogeeni,  $\text{NHR}_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, S on sitoutunut kaksois-sidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-tyyppi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän

tyypeen liittyy silloin H,  $SR_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, O on sitoutunut kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja

5 tähän tyypeen liittyy silloin H, tai  $OR_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä;

(5) deoksiguanosiinin tai sen kanssa samaan ryhmään kuuluvien yhdisteiden asyyli- tai alkyylijohdannaiset, joilla on

10 kaava:



20 jossa  $R_A$  ja  $R_B$  voivat olla samanlaiset tai erilaiset ja kumpikin on vety tai

I. asyyliiryhmä, joka on peräisin

25 a. 6 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $NH_2$ , OH,  $OPO_3^-$ ,  $PO_3^-$ ,  $OSO_3^-$  tai  $SO_3^-$ ,

30 b. aminohaposta, joka on glysiini, alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto,

35 arginiinin L-muoto, lysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto, fenyylialaniinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

d. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta,

5 e. nikotiinihaposta tai

f. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

10 i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  
 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_3$ , tai

ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  
 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , tai

15 II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliiryhmä, joka  
 on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä  
 hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$ ,  
 $\text{SO}_3^-$ , tai

20 III. asyyliiryhmä, joka on peräisin

a. alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihaposta tai

b. alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaatista,

25 edellyttäen, että ryhmät  $R_A$  ja  $R_B$  eivät molemmat ole vetyjä;  
 ja  $R_C$  on vety tai

I. asyyliiryhmä, joka on peräisin

30 a. 6 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta,  
 joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä  
 hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$   
 tai  $\text{SO}_3^-$ ,

35 b. aminohaposta, joka on glysiini, fenyyialaniinin L-muoto,  
 alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto,

isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lyysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

5

c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

d. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta,

10

e. nikotiinihaposta tai

f. 7 - 22-hiiliatomisesta substituoidusta tai substituomattomasta karboksyylihaposta

15

g. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_3$ , tai

20

ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , jossa  $m = 0 - 3$  ja  $n = 2 - 8$ , tai

25

II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliryhmä, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ ,

30

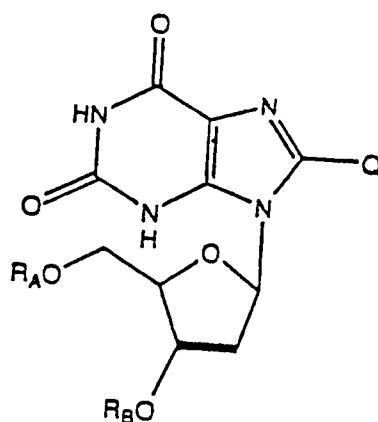
ja silloin kun  $R_C$  ei ole H, niin  $R_A$  ja/tai  $R_B$  voi myös olla asetyyli, ja

35

$J = \text{H}$  tai  $\text{NHR}_1$ , jossa  $R_1$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä;

(6) deoksiksantosiinin tai sen kanssa samaan ryhmään kuuluvien yhdisteiden, asyyli- tai alkyylijohdannaiset, joilla on kaava:

5



10

jossa  $R_A$  ja  $R_B$  ovat samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat vety tai

15

I. asyyliiryhmä, joka on peräisin

20

a. 6 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalaisesta hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $NH_2$ ,  $OH$ ,  $OPO_3^-$ ,  $PO_3^-$ ,  $OSO_3^-$  tai  $SO_3^-$ ,

25

b. aminohaposta, joka on glysiini, fenyylialaniinin L-muoto,alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lyysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

30

c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

d. nikotiinihaposta tai

35

e. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta,

f. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_3$ , tai

5 ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , jossa  $m = 0 - 3$  ja  $n = 2 - 8$ , tai

10 II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliryhmä, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ , tai

III. asyyliiryhmä, joka on peräisin

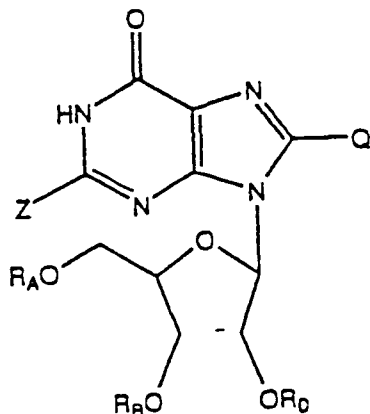
15 a. alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihaposta tai

b. alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaattista,

20 edellyttäen, että vähintään yksi ryhmistä  $R_A$  ja  $R_B$  ei ole vety, ja

25  $Q = \text{H}$ , halogeeni,  $\text{NHR}_F$ , jossa  $R_F$  on  $\text{H}$  tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $S$  on sitoutunut kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-tyyppi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän tyypeen liittyy silloin  $\text{H}$ ,  $\text{SR}_G$ , jossa  $R_G$  on  $\text{H}$  tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $O$  on sitoutunut kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-tyyppi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja 30 tähän tyypeen liittyy silloin  $\text{H}$ , tai  $\text{OR}_H$ , jossa  $R_H$  on  $\text{H}$  tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä;

35 (7) inosiinin asyklisen 2',3'-dialkoholin tai sen kanssa samaan ryhmään kuuluvien yhdisteiden asyyli- tai alkyylijohdannaiset, joilla on kaava:



5

10 jossa  $R_A$ ,  $R_B$  ja  $R_D$  ovat samanlaiset tai erilaiset ja ne ovat vety tai

I. asyyliryhmä, joka on peräisin

15 a. 6 - 22-hiiliatomisesta haaroittumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalaisesta hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $NH_2$ ,  $OH$ ,  $OPO_3^-$ ,  $PO_3^-$ ,  $OSO_3^-$  tai  $SO_3^-$ ,

20 b. aminohaposta, joka on glysiini, fenyylialaniinin L-muoto, alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lyysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

25 c. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylihaposta,

30 d. nikotiinihaposta tai

e. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylihaposta,

f. karboksyylihaposta, joka on puolestaan peräisin

35

i. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  $HOOC-(CH_2)_m-(CH_2CH_2O)_nH$  tai  $HOOC-(CH_2)_m-(CH_2CH_2O)_nCH_3$ , tai

ii. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{H}$  tai  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2\text{CHOH})_n\text{CH}_3$ , jossa  $m = 0 - 3$  ja  $n = 2 - 8$ , tai

5 II. 3 - 22-hiiliatominen haaroittumaton alkyyliryhmä, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalaisesta hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ , tai

10 III. asyyliryhmä, joka on peräisin

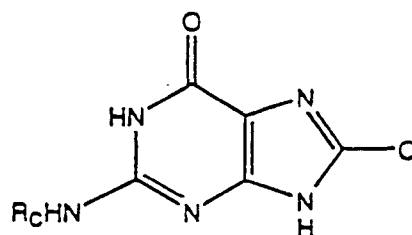
a. alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonihaposta tai

15 b. alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaattista, edellyttäen, että ryhmät  $R_A$ ,  $R_B$  ja  $R_D$  eivät ole kaikki vetyjä, ja

20  $Q = \text{H}$ , halogeeni,  $\text{NHR}_F$ , jossa  $R_F$  on 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $S$  on sitoutunut kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän tyypeen liittyy silloin  $\text{H}$ ,  $\text{SR}_G$ , jossa  $R_G$  on  $\text{H}$  tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä,  $O$  on sitoutunut kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän tyypeen liittyy silloin  $\text{H}$ , tai  $\text{OR}_H$ , jossa  $R_H$  on  $\text{H}$  tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, ja

30  $Z$  on  $\text{H}$ ,  $\text{OH}$ ,  $=\text{O}$  tai  $\text{NHR}_C$ , jossa  $R_C = \text{H}$  tai 2 - 30-hiiliatomisen karboksyylihapon asyyliryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen alkyyliryhmä;

(8) guaniinin tai sen kanssa samaan ryhmään kuuluvien yhdisteiden asyyli- tai alkyyl johdannaiset, joilla on kaava:



jossa  $R_C$  on vety tai asyyliiryhmä, joka on peräisin

5 i. 6 - 22-hiiliatomisesta haarottumattomasta rasvahaposta, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $NH_2$ ,  $OH$ ,  $OPO_3^-$ ,  $PO_3^-$ ,  $OSO_3^-$  tai  $SO_3^-$ ,

10 ii. aminohaposta, joka on glysiini, fenyylialaniinin L-muoto,alaniinin L-muoto, valiinin L-muoto, leusiinin L-muoto, isoleusiinin L-muoto, tyrosiinin L-muoto, proliinin L-muoto, hydroksiproliinin L-muoto, seriinin L-muoto, treoniinin L-muoto, kysteiinin L-muoto, asparagiinihapon L-muoto, glutamiinihapon L-muoto, arginiinin L-muoto, lyysiinin L-muoto, histidiinin L-muoto tai ornitiinin L-muoto,

iii. 3 - 22-hiiliatomisesta dikarboksyylisahaposta,

20 iv. 4 - 22-hiiliatomisesta sykloalkyylikarboksyylisahaposta,

v. nikotiinihaposta tai

vi. 7 - 22-hiiliatomisesta substituoidusta tai substituomattomasta aromaattisesta karboksyylisahaposta,

25

vii. karboksyylisahaposta, joka on puolestaan peräisin

1. etyleeniglykolin polymeerista, jonka rakenne on  $HOOC-(CH_2)_m-(CH_2CH_2O)_nH$  tai  $HOOC-(CH_2)_m-(CH_2CH_2O)_nCH_3$ , tai

30

2. vinyylialkoholin polymeerista, jonka rakenne on  $HOOC-(CH_2)_m-(CH_2CHOH)_nH$  tai  $HOOC-(CH_2)_m-(CH_2CHOH)_nCH_3$ , jossa  $m = 0 - 3$  ja  $n = 2 - 8$ , tai

35

viii. 3 - 22-hiiliatomisesta haarottumattomasta alkyyli-ryhmästä, joka on mahdollisesti substituoitu terminaalista

hiilestä hydrofiilisellä ryhmällä, joka on  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OPO}_3^-$ ,  $\text{PO}_3^-$ ,  $\text{OSO}_3^-$  tai  $\text{SO}_3^-$ , ja

5 Q = H, halogeeni,  $\text{NHR}_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiili-  
atominen asyyli- tai alkyyliryhmä, S on sitoutunut kaksois-  
sidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva  
hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän  
tyypeen liittyy silloin H,  $\text{SR}_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 -  
10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, O on sitoutunut  
10 kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä  
oleva hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja  
tyypeen liittyy silloin H, tai  $\text{OR}_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 -  
10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä.

15 Tämä keksintö kattaa myös edellä mainittujen yhdisteiden  
farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat.

Tämän keksinnön mukaisia edullisia yhdisteitä ovat deoksi-  
guanosiinin, deoksi-inosiinin, guanosiinin, inosiinin, de-  
20 oksiksantosiinin ja ksantosiinin rasvahappoesterit, eri-  
tyisesti ne rasvahappoesterit, joiden asyyli-  
substituentissa (eissä) esiintyy kahdeksan tai tätä suurempi määrä hiili-  
atomeja. Erityisen edullisia yhdisteitä ovat sellaiset de-  
oksiguanosiinin tai deoksi-inosiinin rasvahappoesterit,  
25 jotka sisältävät asyyli-  
substituentissa 12 - 18 hiiliatomeja.  
Erityisen aktiivinen on 3',5'-O-N<sup>2</sup>-tripalmitoyyli-2'-deoksi-  
guanosiini. Yhdisteet, jotka sisältävät polaarisen amino-  
happosubstituentin, esimerkiksi lysiinin tai arginiinin,  
joka on konjugoitu joko aldoosiryhmässä olevaan hyd-  
30 roksyyli-ryhmään tai guanosiinin tai deoksiguanosiinin ren-  
kaan ulkopuolella olevaan aminoryhmään, ja sisältävät mah-  
dollisesti aldoosiryhmässä olevaan hydroksyyli-ryhmään este-  
roityneen rasvahapon, soveltuvat erityisesti formuloitaviksi  
vesipitoisiin kantaja-aineisiin.

35 Tämä keksinnön yhdessä sovellutusmuodossa tämän keksinnön  
mukaisten yhdisteiden veteen helposti liukenevia johdannai-

sia valmistetaan kiinnittämällä puriininukleosidin aldoosiryhmässä olevaan vapaaseen hydroksiryhmään fosfaatti- tai sulfaattiryhmiä.

5 Vielä yhdessä sovellutusmuodossa kiinnitetään edellä kuvattujen yhdisteiden oksipuriiniryhmän 1-, 3- ja/tai 7-asemaan substituentteja, kuten lyhytketjuisia alkyyli- tai substituoituja alkyyliryhmiä, kuten esimerkiksi metyyli, etyyli tai propyyli.

10

Vielä yhdessä tämän keksinnön sovellutusmuodossa voi guanosinin, deoksiguanosiinin tai niiden kanssa samaan ryhmään kuuluvien renkaan ulkopuolinen aminoryhmä sisältää kaksi asyylisubstituenttia, jotka voivat olla samanlaiset tai erilaiset. Näissä tapauksissa asyylisubstituentit ovat jokin sellainen asyyliryhmä, josta guanosinin, deoksiguanosiinin ja niiden kanssa samaan ryhmään kuuluvien yhdisteiden kuvauksissa on käytetty nimitystä  $R_c$ .

15

#### 20 Ionittumattomat pinta-aktiiviset aineet

Useiden erilaisten ionittumattomien pinta-aktiivisten aineiden, joita, mainittuihin kuitenkin rajoittumatta, ovat polyoksietyleenisorbitaaniasyllaatit, esimerkiksi Tween 80 [polyoksietyleenisorbitaanimono-oleaatti], Tween 60 [polyoksietyleenisorbitaanimonostearaatti] ja niin edelleen; polyoksietyleenieetterit, esimerkiksi Brij 96 [polyoksietyleni-10-oleyylietteri] ja Triton X-100; tai etyleenioksidikondensaatit, esimerkiksi Nonidet 40-P [oktyylifenolin ja etyleenioksidin kondensaatti], on havaittu voimistavan tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden vaikutusta hematopoeesiin in vivo -olosuhteissa. Lisäksi nämä pinta-aktiiviset aineet edistävät yksinään hematopoeettisen toiminnan palautumista solujen määrää pienentävien aineiden, kuten syklofosfamidin, aikaansaaman luuydinaurion jälkeen (ks. esimerkki 52). Tämän keksinnön mukaiset uudet koostumukset sisältävät yhtä tai useampaa edellä mainituista ionittumattomista pinta-aktiivisista aineista sekä erytro-

25

30

35

poietiinia, interleukiinia, pesäkestimulaatiotekijää tai jotakin muuta sellaista yhdistettä, joka kykenee stimuloimaan hematopoieesia.

5 Tämän keksinnön mukaiset koostumukset

Yhdessä tämän keksinnön sovellutusmuodossa uudet farmaseuttiset koostumukset sisältävät aktiivisena aineena yhtä tai useampaa oksipuriininukleosidia, jotka ovat guanosiini, inosiini, ksantosiini, deoksikxantosiini, deoksi-inosiini, 10 deoksiguanosiini, näiden oksipuriininukleosidien kanssa samaan ryhmään kuuluvat yhdisteet tai näiden oksipuriininukleosidien ja niiden kanssa samaan ryhmään kuuluvien yhdisteiden asyyli- ja alkyylilohdannaiset, sekä farmaseuttisesti hyväksyttävää kantaja-ainetta.

15

Vielä yhdessä sovellutusmuodossa tämän keksinnön mukaiset yhdisteet sisältävät yhden tai useamman tämän keksinnön mukaisen yhdisteen lisäksi vähintään yhtä hematopoieesiin vaikuttavista yhdisteistä, jotka ovat: ionittumaton pinta-aktiivinen aine, interleukiini, kuten IL-1, -2, -3, -4, -5, 20 -6, -7, -8 (edullisesti IL-1, 3 ja 6), pesäkestimulaatiotekijä, esimerkiksi granulosityttipesäkestimulaatiotekijä (G-CSF), granulosityttimakrofagi-pesäkestimulaatiotekijä (GM-CSF), erytropoietiini (EPO), glukaani, polyinosiini-polysytidiini, tai mitä tahansa muuta hematopoieesia hyödyttävää ainetta. Nämä koostumukset valmistetaan käyttötarkoituksensa mukaan nesteen, suspension, tabletin, kapselin, rakeen, injektiooliuksen, paikalliskäyttöön tarkoitetun liuoksen tai peräpuikon muotoon (ks. alla oleva formulaatiota koskeva tarkastelu).

25

30

Vielä yhdessä tämän keksinnön sovellutusmuodossa koostumus sisältää vähintään yhtä tämän keksinnön mukaista yhdistettä ja säteilyltä suojaavaa yhdistettä.

35

Vielä yhdessä tämän keksinnön sovellutusmuodossa koostumus sisältää vähintään yhtä tämän keksinnön mukaista yhdistettä

ja antiviraalista tai antineoplastista ainetta tai jotakin muuta farmaseuttista ainetta, joka vähentää verisolujen lukumääriä.

5 Tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden ja koostumusten terapeuttiset käyttömuodot

Tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden terapeuttiset aktiivisuudet osuvat vähintään kolmeen sairauksien pääryhmään: sytopeniat tai heikentynyt hematopoieesi, bakteeri-infektio ja tulehdustauti. Esimerkeillä demonstroidaan sellaisia biologisia aktiivisuuksia, jotka osoittavat tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden hyödyllisyyden hoidossa.

Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat käyttökelpoisia modifioimaan, parantamaan tai edistämään hematopoieesi-ilmiötä ja immuunijärjestelmän toimintaa eläimissä. Nämä yhdisteet palauttavat hematopoieesin tai verisolujen lukumäärän kemikaalien, säteilyn tai sairauden aikaansaaman luuytimen vaurioitumisen tai toiminnan heikkenemisen jälkeen; ne suojaavat kemikaalien, säteilyn tai sairauden aikaansaamaa vaurioitumista vastaan; ja modifioivat verisolujen (esimerkiksi leukosyyttien tai verihiutaleiden) lukumääriä tai aktiivisuutta eläimissä. Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat käyttökelpoisia ihmisten hoidossa; tätä keksintöä ei ole kuitenkaan tarkoitettu rajoittamaan tällä tavoin, ja keksinnössä ajatellaan sillä hoidettavan kaikkia eläimiä, joille tämän keksinnön mukaisten aktiivisten yhdisteiden antamisesta on hyödyllinen vaikutus.

30 Niissä tapauksissa, joissa tämän keksinnön mukaista yhdistettä annetaan yhdessä säteilyltä suojaavan yhdisteen kanssa, saadaan ionisoivan säteilyn vaikutukset lievittymään huomattavasti.

35 Tällä keksinnöllä on lisäksi sovellutusmuoto, jossa farmaseuttista yhdistettä tai koostumusta, joka sisältää guanosiniä, deoksiguanosiiniä, inosiiniä, ksantosiiniä, deoksi-

ksantosiinia, deoksi-inosiinia, jotakin näiden nukleosidien kanssa samaan ryhmään kuuluvaa yhdistettä tai jotakin näiden nukleosidien tai niiden kanssa samaan ryhmään kuuluvien yhdisteiden asyyli- ja alkyylijohdannaista, tai joka sisältää näitä erilaisissa yhdistelmissä, annetaan systeemisesti tarkoitukseen, jolla pyritään edistämään hematopoieesia potilaissa, joilla verisolujen lukumäärät ovat alentuneet, luuytimen toimintakyky on heikentynyt tai jotka jollakin muulla tavalla ovat hematopoieettisen aktiivisuuden tehostamisen tarpeessa.

Erityisiä tilanteita, joissa tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden, koostumusten ja menetelmien käytöllä saavutetaan etua, ovat tilanteet, joissa on haluttua tehostaa hematopoieesia. Näitä tilanteita ovat sellaisten eläinten, esimerkiksi humaanipotilaiden, hoitaminen, joille on annettu solujen lukumääriä alentavaa syöpäkemoterapiaa, viruksia vastaan suunnattua kemoterapiaa, joita on altistettu terapeuttisesti tai jotka ovat vahingossa altistuneet ionisoivalle säteilylle, sellaisten eläinten hoitaminen, joilla isännän leukosyyttien välityksellä toimivaa puolustusta infektiota vastaan on tarpeellista tehostaa, sekä sellaisten eläinten hoitaminen, joilla on anemiaa tai joilla esiintyy sairauden tai vahingossa tapahtuneen myrkytyksen aikaansaamaa luuytimen hypoplasiaa. Tämän keksinnön mukaisien yhdisteiden, koostumusten ja menetelmien käytöllä saadaan myös etuja, kun niitä käytetään: leukosyyttien lukumäärien lisäämiseen solulukumääriltään normaaleilla eläimillä esimerkiksi isännän infektiota vastaan suunnatun vastustuskyvyn parantamiseksi, trombosyyttien lukumäärien lisäämiseen solulukumääriltään normaaleilla eläimillä esimerkiksi veren hyytymispotentiaalin parantamiseksi (esimerkiksi ennen leikkausta), sellaisten eläinten etukäteishoitoon, joille on määrää antaa syöpää vastaan tai viruksia vastaan suunnattua kemoterapiaa (tai terapeuttista sädehoitoa), luuydinsiirteen luovuttajien etukäteishoitoon, toimimisen nopeuttamiseen tai edistämiseen luuytimen siirron

jälkeen, viljeltävien luuydinsolujen käsittelyyn ennen siirron suorittamista, viljeltävien luuydinsolujen käsittelyyn (joko tutkimustarkoituksiin tai ennen siirtoa). Keksintöön kuuluvat erityisesti eläinlääketieteelliset sovellutukset, joissa verisolujen lukumääriä on tarpeellista muuttaa.

Sen lisäksi, että tämän keksinnön mukaiset yhdisteet paltauttavat ennalleen solujen lukumääriä sytopenisissä eläimissä, niillä esiintyy bakteeri-infektioita vastustavaa ja tulehdusvasteita heikentävää aktiivisuutta. Kuten esimerkissä XX on osoitettu,

#### Sytopeniat

Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ja koostumukset ovat käyttökelpoisia hoidettaessa sytopenioita, sellaisena kuin nämä on lueteltu ja tarkasteltu alla:

#### A. Neutropenia

Syövästä tai syöpäkemoterapiasta johtuva neutropenia; viruksia vastaan suunnatusta kemoterapiasta johtuva neutropenia; ionisoivalle säteilylle altistumisesta (vahingossa tapahtunut tai terapeutinen altistuminen) johtuva neutropenia; immunosuppressiivisesta kemoterapiasta (esimerkiksi autoimmuunisairauksien, kuten reumaattisen niveltulehduksen, hoito sytotoksisilla lääkeaineilla) johtuva neutropenia; palovammapotilailla esiintyvä neutropenia (neutropeniaa esiintyy yleisesti vakavia palovammoja saaneilla potilailla); virusinfektioista johtuva neutropenia (esimerkiksi pansytopenia, jota esiintyy usein AIDS-potilalla ja jota hoito myelosuppressiivillä lääkeaineilla, kuten AZT:lla, pahentaa); aplastista anemiaa tai myelodysplastista oireyhtymää seuraava neutropenia; myrkytyksestä johtuva neutropenia (esimerkiksi bentseenimyrkytys; myös useilla reseptilääkkeinä toimitettavilla farmaseuttisilla aineilla on lueteltu sivuvaikutuksena agranulosytoosia); idiopaattinen neutropenia; krooninen neutropenia; karvasolu-

leukemioista tai muista lymfosyyttisistä leukemioista johtuva neutropenia; mistä tahansa muusta syystä peräisin oleva neutropenia; muilla eläinlajeilla kuin ihmisillä esiintyvä neutropenia (eläinlääketieteen piiriin kuuluvat sairaudet).

5

### B. Trombosytopenia

Syöpäkemoterapiasta johtuvat pienet trombosyyttien (verihiutaleiden) määrät; viruksia vastaan suunnatusta kemoterapiasta johtuva trombosytopenia; ionisoivalle säteilylle altistumisesta (vahingossa tapahtunut tai terapeutinen altistuminen) johtuva trombosytopenia; immunosuppressiivisesta kemoterapiasta (esimerkiksi autoimmuunisairauksien, kuten reumaattisen niveltulehduksen hoito sytotoksisilla lääkeaineilla) johtuvat trombosyyttien pienet lukumäärät; virusinfektioista (esimerkiksi pansytopenia, jota esiintyy usein AIDS-potilalla ja jota hoito myelosuppressiivilla lääkeaineilla, kuten AZT:lla, pahentaa) johtuva trombosytopenia; aplastista anemiaa, myelodysplastista oireyhtymää tai hypoplastisia luuydinoireyhtymiä seuraava trombosytopenia; mistä tahansa muusta syystä aiheutuva trombosytopenia.

10

15

20

### C. Lymfosytopenia

Syöpäkemoterapiasta johtuvat pienet lymfosyyttien määrät; viruksia vastaan suunnatusta kemoterapiasta johtuva lymfosytopenia; ionisoivalle säteilylle altistumisesta (vahingossa tapahtunut tai terapeutinen altistuminen) johtuva lymfosytopenia; immunosuppressiivisesta kemoterapiasta (esimerkiksi autoimmuunisairauksien, kuten reumaattisen niveltulehduksen, hoito sytotoksisilla lääkeaineilla) johtuvat pienet lymfosyyttien lukumäärät; virusinfektioista, kuten AIDS:sta, johtuva lymfosytopenia; mistä tahansa muusta syystä aiheutuva lymfosytopenia.

25

30

35

### D. Anemia

Munuaisdialyysistä johtuvat pienet erytrosyyttien lukumäärät, munuaisvauriosta johtuvat pienet erytrosyyttien

lukumäärät; aplastinen anemia; virusinfektioista tai myelosuppressiivisista kemoterapeuttisista aineista johtuva anemia; infektion tai sairauden (esimerkiksi malarian) aiheuttama anemia; verenvuodosta johtuva anemia; mistä tahansa muusta syystä johtuva anemia.

Säteilylle altistumiseen liittyvien komplikaatioiden hoito

Kolme tapausta, joissa tämän keksinnön mukaiset aktiiviset yhdisteet voivat olla kliinisesti käyttökelpoisia säteilyvaurion hoitamisessa, ovat 1) vahingossa, kuten ydinonnettomuudessa, tapahtunut altistuminen ionisoivalle säteilylle; 2) radiografian aikana tapahtuva diagnostinen altistuminen säteilylle; ja 3) terapeuttinen altistuminen säteilylle, kuten syövän sädehoidossa.

15

Yhdessä sovellutusmuodossa annetaan ensimmäisessä tapauksessa aktiivisia yhdisteitä formulaatiossa, joka soveltuu injektoitavaksi parenteraalisesti, minkä jälkeen annostelua jatketaan oraalisesti tai parenteraalisesti kerran tai useita kertoja päivässä annoksina, jotka ovat riittävän suuruisia voimistamaan hematopoiesia, esimerkiksi 0,01 - 3 grammaa päivässä sen mukaan, mitä vaikutuksia tällä saadaan aikaan.

20

Toisessa tapauksessa, jossa on kysymys altistumisesta röntgensäteilylle diagnostisen radiografian aikana, annetaan yhdessä sovellutusmuodossa aktiivisia yhdisteitä oraalisesti ennen altistumista ja altistumisen jälkeen.

25

Kolmannessa tapauksessa ovat aktiiviset yhdisteet sädehoidon aikana erityisen käyttökelpoisia luuytimen toiminnan palauttamisessa sen jälkeen, kun tämä on säteilytyksen aikana heikentynyt haitallisesti, miltä ei kuitenkaan voida välttyä.

30

Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä annetaan ennen säteilylle altistumista, tämän aikana ja/tai tämän jälkeen.

35

Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat käyttökelpoisia estämään tai lievittämään ionisoivan säteilyn vaikutuksia niissä tapauksissa, joissa niitä annetaan muiden säteilyltä suojaavien yhdisteiden, kuten WR-2721:n, NAC:n, DDC:n, kysteamiinin, 2-merkaptotaanolin, merkaptoetyyliamiinin, ditiotreitolin, glutationin, 2-merkaptotaanisulfonihapon, WR-1065:n, nikotiiniamidin, 5-hydroksitryptamiinin, 2-beeta-aminoetyyli-isotiouronium-Br-Hbr:n, glukaanien, GLP/BO4:n, GLP/BO5:n, OK-432:n, Biostim'in, PSK:n, Lentinaanin, Schizophyllaanin, Rhodexmaanin, Levaanin, Mannozymin, MVE-3:n, MNR:n, MMZ:n, IL-1:n, IL-2:n, TNF:n, kateenkorvatekijän, TF-5:n, glutationiperoksidaasin, superoksididismutaasin, katalaasin, glutationireduktaasin, glutationitransferaasin, seleenin, CdCl<sub>2</sub>:n, MnCl<sub>2</sub>:n, Zn-asetaatin, A-vitamiinin, beetakaroteenin, prostaglandiinien, tokoferolin ja metyleenisinen ja PABA:n kanssa. Kun näitä suojaavia yhdisteitä annetaan tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden ohella, saadaan aikaan suoja, joka on voimakkaampi kuin siinä tapauksessa, että näitä yhdisteitä tai muita säteilyltä suojaavia aineita annettaisiin yksinään.

#### Syöpäkemoterapiaan liittyvien komplikaatioiden hoito

Tavallisilla antineoplastisilla kemoterapeuttisilla aineilla (esimerkiksi 5-fluorourasiililla, fluorideoksiuridiinilla, vinca-alkaloideilla, syklofosamidilla ja muilla alkyloivilla aineilla, kuten busulfaanilla, heksaleenilla tai melfalaanilla, daunorubisiinilla, doksorubisiinilla, metotreksaatilla, sytosiiniarabinosidilla, 6-merkaptopuriinilla, 6-metyylimerkaptopuriiniribosidilla, tioguanosiinilla, podofyllotoksiineilla, sisplatiinilla, näiden solujen lukumääriä vähentävien aineiden yhdistelmillä tai solujen lukumääriä vähentävillä aineilla ynnä modulaattoreilla, kuten leukovoriinilla, PALA:lla tai WR-2721:llä) hoidettujen potilaiden valkosolujen lukumäärät ja erityisesti neutrofiilien lukumäärät pienentyvät usein voimakkaasti. Kun tämän keksinnön mukaista yhdistettä, kuten palmitoyyli-deoksiganosiinia (tai deoksiganosiinin muita asyyli-

johdannaisia) annetaan tehokas annos (esimerkiksi 0,01 - 3,0 grammaa) useiden päivien ajan päivittäin oraalisesti (tai injektoimalla parenteraalisesti), niin tämä vähentää neutrofiilien lukumäärän laskua, joka muussa tapauksessa tapahtuisi useita päiviä kemoterapian aloittamisen jälkeen, tai se estää tällaisen neutrofiilien lukumäärän laskun kokonaan. Kun kemoterapeuttisia aineita saavia potilaita hoidetaan asyloidulla deoksiguanosiinilla, niin tämä myös lisää valkosolujen, mukaan lukien neutrofiilien ja lymfocyttien, kokonaislukumäärää voimakkaasti seuraavina päivinä verrattuna potilaisiin, joiden hoitoon sisältyy ainoastaan kemoterapeuttista ainetta. Tämä pienentää infektion todennäköisyyttä hoidon kuluessa ja tekee mahdolliseksi sen, että potilaille voidaan antaa suurempia kemoterapeuttisten aineiden määriä ja/tai sen, että annosten antamista voidaan jouduttaa verrattuna verrokkeihin, joita ei ole hoidettu deoksiguanosiini johdannaisella(silla).

Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä annetaan ennen antineoplastisten aineiden antamista, tämän aikana ja/tai tämän jälkeen.

Virusia vastaan suunnattuun kemoterapiaan liittyvien komplikaatioiden hoito

AIDS:n tai AIDS:ään liittyvän kompleksin saaneiden potilaiden hoitoon atsidotymiinillä (AZT) tai muilla antiviraalisilla aineilla, liittyy komplikaationa anemia, neutropenia ja trombosytopenia. Kun tämän keksinnön mukaisen yhdisteen, kuten palmitoyyliguanosiinin (tai jonkin muun guanosiinin asyloidun muodon), sopivia annoksia annetaan useiden päivien ajan (tai virusia vastaan suunnatun hoitotavan mukaan koko tämän hoidon ajan) vähentyvät AZT:n ja/tai ddC:n aikaansaama neutropenia, anemia, trombosytopenia ja muut sivuvaikutukset voimakkaasti. Tämä vähentää septisten komplikaatioiden todennäköisyyttä ja tekee mahdolliseksi antaa potilaille suurempia antiviraalisten yhdisteiden määriä lyhyemmän ajan

kuluessa verrattuna potilaisiin, joille ei anneta lisäksi tämän keksinnön mukaista yhdistettä.

5 Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä annetaan ennen anti-viraalisten aineiden antamista, tämän aikana ja/tai tämän jälkeen.

Myrkytykseen ja useiden eri lääkeaineiden sivuvaikutuksiin liittyvien komplikaatioiden hoito

10 Bentseenimyrkytys tai sivuvaikutukset, joita esiintyy useilla erilaisilla aineilla, joita ovat useat reseptilääkkeet, kuten kilpirauhasen toimintaa hillitsevät lääkkeet, sulfonamidi, fenyyliatiatsiini, fenyylibutatsonit ja aminopyriinit, johtavat agranulosytoosiin/neutropeniaan. Sytopeniaa aiheuttaa myös bentseenimyrkytys ja sinappikaasu ja  
15 näitä muistuttavat alkyloivat aineet. Kun tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä annetaan tällaisen myrkytyksen uhreille tai potilaille, joille tällaisia lääkeaineita annetaan, niin tämä edistää toipumista sen perusteella, että yhdisteet  
20 stimuloivat verisolujen, kuten neutrofiilien, muodostumista.

Useisiin eri sairauksiin liittyvien sytopenioiden hoito

Useisiin sairauksiin liittyy useita erilaisia sytopeniamuotoja. Esimerkiksi karvasoluleukemiaan liittyy neutropenia. Trombosytopeninen purppura ja aplastinen anemia  
25 liittyvät verihiutaleiden pitoisuuksien vähenemiseen. Tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden antaminen lisää neutrofiilien, lymfosyyttien ja verihiutaleiden pitoisuuksia potilaassa, joissa näitä sairauksia esiintyy.

30

HIV-infektioon liittyvien komplikaatioiden hoito

HIV-infektion saaneilla potilailla, erityisesti AIDS:n saaneilla potilailla, esiintyy useita erilaisia oireita ja sairauksia, jotka johtuvat immuunijärjestelmän vakavasti  
35 heikentyneestä toimintakyvystä ja joissakin tapauksissa pahentuvat tämän vaikutuksesta. Monille näille potilaille annetaan viruksia vastaan suunnattuja kemoterapeuttisia

aineita, kuten AZT:tä, jolla on myös ruumiin immuunijärjestelmään kohdistuvia haitallisia vaikutuksia ja joka alentaa vastustuskykyä kaikenlaisia infektioita vastaan. Tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden antaminen - oraalisesti, injektoimalla suonensisäisesti tai parenteraalisesti - kohottaa virusinfektioista johtuvia matalia verisolujen lukumääriä ja ehkäisee AIDS-potilailla havaittua pansytopeniaa. Tällainen hoito kohottaa neutrofiilien, lymfosyyttien ja trombosyyttien pitoisuuksia ja edistää tämän vaikutuksesta immunokompetenssin palautumista ennalleen. Koska suurentunut herkkyys infektioiden saamiseen on annosta ja määrää rajoittava tekijä AIDS-potilaiden kemoterapeuttisessa hoidossa, niin näiden potilaiden hoito näillä yhdisteillä vähentää kemoterapeuttisia sivuvaikutuksia (ja parantaa siten elämänlaatua) ja antaa mahdollisuuden käyttää voimakkaammin vaikuttavaa kemoterapeuttista hoito-ohjelmaa.

Tulehduksellisilla sytokiineilla on HIV-infektion saaneilla potilailla myös osuutta AIDS:ään liittyvässä patologiassa. Kasvainkuoliotekijä (TNF), joka on tulehduksellinen sytokiini, stimuloi viruksen replikaatiota. Kuten esimerkissä 75 on osoitettu, heikentävät tämän keksinnön yhdisteet TNF:n muodostumista, joka tapahtuu vasteena tulehduksellisille ärsykkeille. AIDS:ään liittyviin komplikaatioihin osallistuvat lisäksi muut tulehdukselliset sytokiinit, esimerkiksi interferoni-gamma. Interferoni-gamma myötävaikuttaa kakeksiaan ja neurologisiin ongelmiin AIDS-potilaissa [Brown, et al., Adv. Exp. Med. Biol 294 (1991) 425 - 35]. Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet heikentävät myös interferoni-gamman muodostumista (ks. esimerkki 75).

#### Apoptoosin säätely

Ohjelmoitu solujen kuolema (apoptoosi) liittyy useisiin hematopoieesin, lymfopoieesin ja lymfosyyttien antigeenispesifiseen valikoitumiseen osallistuviin moniin patologiisiin ja fysiologisiin näkökohtiin. Lääkeaineet, kuten kortikosteroidit tai sytotoksiset syöpäkemoterapeuttiset aineet

indusoivat apoptoosia. Solujen kuolema ionisoivalle säteilylle altistumisen jälkeen johtuu osaksi apoptoosista. AIDS:n patogeneesi sisältää lymfosyyttien laajamittaisen apoptoosin. Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet, edullisesti deoksiguanosiinin pitkäketjuiset rasvahappoasyylijohdannaiset, kuten 3',5'-di-O-palmitooylideoksiguanosiini tai N<sup>2</sup>,3',5'-tripalmitooylideoksiguanosiini, säätelevät verisolujen apoptoosia. Se, että apoptoosia kyetään säätelemään, tekee mahdolliseksi modifioida terapeuttisesti verisolujen (mukaan lukien leukosyyttien ja verihiutaleiden) muodostumista ja elossa pysymistä, immuunijärjestelmän sekä muiden solujen ja elinjärjestelmien toimintaa ja aktiivisuutta.

#### 15 Syöpään liittyvien komplikaatioiden hoito

Useisiin syöpätyyppeihin liittyy hematologisia sytopenioita, joilla ei ole riippuvuutta solujen määrää pienentävän kemoterapian aikaansaamasta sytopenioista. Karvasoluleukemiaan liittyy usein neutropeniaa. Neoplastisten solujen tunkeutuminen luuytimeen haittaa usein hematopoiesia. Tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden antaminen kohottaa neutrofiilien ja muiden solutyyppeiden pitoisuuksia potilaissa, joissa näitä sairauksia esiintyy. Joillekin granulosityttisten leukemioiden tyypeille on luonteenomaista epäkypsien erilaistumattomien granulosityttien esiasteiden liikatuotanto. Kuten alla esimerkeissä 41 - 65 on osoitettu, saavat tämän keksinnön mukaiset yhdisteet aikaan neutrofiilien esimuotojen terminaalisen erilaistumisen voimistumisen, mikä viittaa siihen, että ne ovat käyttökelpoisia leukemioiden, kuten granulosityttisen leukemian, hoidossa.

Yleinen syövän komplikaatio on kakeksia, jolle on luonteenomaista painon aleneminen ja kyvyttömyys ravinteiden hyväksikäyttöön. Kakeksiaan liittyy yleisesti tulehdusreaktiinien, kuten TNF:n ja interferoni-gamman, pitoisuuksien kohoamista [Brown, et al., Adv. Exp. Med. Biol. 294 (1991)

425 - 35]. Kuten esimerkissä 75 on osoitettu, heikentävät tämän keksinnön mukaiset yhdisteet näiden tulehdussytokiiniinien muodostumista. Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat käyttökelpoisia näihin sytokiineihin liittyvän kakeksian sekä syövän muiden komplikaatioiden hoitoon.

Tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden käyttö luuydinsiirrossa

Luuytimen siirtoa käytetään niiden potilaiden hoitamiseen, joilla esiintyy vahingossa tapahtuneen säteilyaltistuksen tai terapeuttisen säteilyaltistuksen ja solujen määriä pienentävän kemoterapian (antiviraalisen kemoterapian ja/tai antineoplastisen kemoterapian) vaikutuksia. Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä käytetään useilla erilaisilla tavoilla apuna luuytimen siirrossa. Näiden yhdisteiden antaminen luuydinsiirteen luovuttajille kohottaa useiden erilaisten verisolutyyppeiden, kuten neutrofiilien, lymfosyyttien, megakaryosyyttien ja trombosyyttien (verihiutaleiden), pitoisuuksia perifeeraalisessa veressä ja erityisesti näiden esiasteiden pitoisuuksia itse luuytimessä. Kun näitä yhdisteitä annetaan luuytimen vastaanottajille sen jälkeen kun siirto on tehty, ennen tätä tai sen aikana, niin tämä kiihdyttää hematopoieesin palautumista. Viljeltyjen luuydinsolujen inkubointi tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden kanssa ennen transplantaatiota parantaa lisäksi siirteen laatua.

Yhdisteiden käyttö autologiseen verensiirtoon

Autologisella verensiirrolla eli potilaan oman veren tarkoituksellisella varastoinnilla myöhempää verensiirtoa varten, esimerkiksi ennen valikoivaa leikkausta tai varotoimenpiteenä verensiirtoa vaativien odottamattomien tilanteiden varalta, on merkitystä sinä suhteessa, että muilta luovuttajilta saatava veri olisi mahdollisesti virusten, kuten HIV:n tai hepatiittivirusten, kontaminoimaa. Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet soveltuvat käytettäväksi verisolujen lukumäärien palauttamisessa ennalleen silloin, kun

näitä annetaan sen jälkeen kun potilaalta on otettu omaa verta varastointia varten. Vaihtoehtoisesti näitä yhdisteitä voidaan antaa solujen lukumäärien kohottamiseksi ennen veren talteenottamista. Kuten esimerkissä 76 on osoitettu, mobilisoivat tämän keksinnön mukaiset yhdisteet luuytimestä peräisin olevia hematopoeettisia kantasoluja perifeeraaliseen verenkiertoon. Tämä edistää sitä, että saadaan talteen riittävä määrä hematopoeettisia esiastesoluja perifeeraalisesta verestä, millä vältetään kivuliaalta ja epä mukavalta kantasolujen imulta potilaan luuytimestä.

#### Tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden profylaktinen käyttö

On olemassa useita kliinisiä ja eläinlääketieteellisiä tapauksia, joissa on haluttua tehostaa tai modifioida muulla tavoin hematopoeettisen järjestelmän eri puolia useiden eri odottamattomien tilanteiden varalta.

On esimerkiksi olemassa useita tapauksia, joissa on hyödyllistä parantaa vastustuskykyä infektioita kohtaan esimerkiksi tulevien leikkausten varalta tai siltä varalta, että potilas saattaisi saada virus- tai bakteeri-infektioita. Tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden antaminen eläimelle, jonka solujen lukumäärät ovat normaaleja, lisää leukosyyttien lukumääriä ja parantaa isännän vastustuskykyä infektiota vastaan.

On olemassa tapauksia, joissa on käyttökelpoista parantaa eläimen veren hyytymispotentiaalia, esimerkiksi ennen leikkausta. Tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden antaminen ennen leikkausta kohottaa trombosyyttien lukumääriä ja tämän avulla parantaa veren hyytymispotentiaalia.

Tapauksissa, joissa odotetaan luuytimen ja/tai hematopoeettisen järjestelmän vaurioitumista, kuten annettaessa kemoterapiaa syöpää tai viruksia vastaan tai käytettäessä sädehoitoa, on edullista parantaa tai tehostaa hematopoeettista toimintaa. Kun eläintä, jota on määrää hoitaa

tällä tavoin, käsitellään etukäteen tämän keksinnön mukaisilla yhdisteillä, niin tämä kiihdyttää valkosolujen ja verihiutaleiden muodostumista ja/tai vähentää verisolujen esiasteisiin kohdistuvia vaurioita. Nämä yhdisteet modifioivat hematopoieettista järjestelmää positiivisella tavalla ennakoita ehkäisevästi.

Näiden yhdisteiden antaminen luuytimen luovuttajille ennen luovutusta kohottaa useiden eri verisolutyyppeiden, kuten neutrofiilien, lymfosyyttien, megakaryosyyttien ja trombosyyttien (verihiutaleiden), pitoisuuksia perifeeraalisessa veressä ja tämä kohottaa hematopoieettisten kantasolujen määrää itse luuytimessä.

#### 15 Infektion hoito tai ehkäiseminen

Kuten esimerkissä 73 on osoitettu, tämän keksinnön mukaiset yhdisteet parantavat voimakkaasti eloonjäämistä vakavissa suolistobakteerien aikaansaamissa polymikrobi-infektioissa. Tässä infektiomallissa esiintyy sekä gramnegatiivisia että grampositiivisia bakteereita. Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat käyttökelpoisia bakteeri-infektion vastustamisessa usein eri tavoin. Profylaktista hoitoa käytetään ennen leikkausta, johon sisältyy suuria riskejä, tai potilailla, jotka ovat vaarassa saada infektioita siitä syystä, että he joutuvat alttiiksi patogeeneille tai että heidän immuunijärjestelmänsä toiminta on heikentynyt. Tämä hoito estää infektion (heikentää bakteerien lisääntymistä, minkä vaikutuksesta infektion eteneminen ei pääse kehittymään sairauden asteelle). Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat myös käyttökelpoisia annettavaksi potilaille, jotka ovat joutuneet täyteen mittaan puhjenneita infektioita ja näitä käytetään mahdollisesti antibioottisten lääkeaineiden, kuten penisilliinin, erytromysiinin, kefalosporiinien, gentamysiinin tai metronidatsolin, yhteydessä. Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet tehostavat elimistön omia endogeenisiä mekanismeja bakteerien poistamiseksi elimistöstä ja ne myös heikentävät bakteereista peräisin

olevia tulehduskomponentteja vastaan suunnattuja haitallisia vasteita (ks. esimerkki 74). Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat myös käyttökelpoisia sieni-infektion hoitamiseen tai sen ehkäisemiseen.

5

Katsomatta siihen, onko infektion hoitaminen ennakolta ehkäisevää vai suoritetaanko tämä potilaan jo valmiiksi saaman infektion jälkeen, annetaan tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden tehokkaita annoksia infektion hoitamiseksi oraalisesti tai parenteraalisesti sopivissa formulaatioissa. Annokset, jotka ovat yhdestä milligrammasta korkeintaan yhteen grammaan, valitaan halutun terapeuttisen vaikutuksen mukaan. Annoksia annetaan sairauden vakavuuden ja potilaan hoitovasteen mukaan yhdestä kerrasta viikossa useisiin kertoihin päivässä.

10

15

#### Tulehdustautien hoito tai lievittäminen

20

Tämän keksinnön mukaisilla yhdisteillä on myös terapeuttista aktiivisuutta tulehdustaudissa. Kuten esimerkissä 74 on osoitettu, on tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä käyttäen eläinten mahdollista jäädä eloon letaalien bakteeri-endotoksiinimäärien antamisen jälkeen. Endotoksiini, joka on bakteerien soluseinämien lipopolysakkaridikomponentti, on voimakas tulehdusärsyke, joka saa aikaan tulehduksellisten sytokiinien ja muiden tulehdusvälittäjäaineiden erittymisen. Endotoksiinin tulehduksellinen aktiivisuus johtuu näistä tulehdusvälittäjäaineista, joita ovat kasvainkuoliotekijä (TNF), interleukiini-1, interleukiini-6, gamma-interferoni, leukotrieenit ja muut aineet. Nämä makrofageista, lymfosyyteistä ja muista solutyypeistä vapautuvat tulehdusvälittäjäaineet osallistuvat myös useiden eri tulehdussairaustilojen patogeneesiin vieläpä silloinkin, kun endotoksiini ei sisälly tähän tapahtumaan primaarisena ärsykkeenä.

25

30

35

Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet moduloivat sytokiinien vapautumista, mikä tapahtuu vasteena tulehduksellisiin

ärsykkeisiin, joita ovat endotoksiini, mutta jotka eivät rajoitu tähän. Muita tulehduksellisia ärsykejä ovat bakteerien, sienten tai virusten komponentit. Kuten esimerkissä 75 on osoitettu, pienentävät tämän keksinnön mukaiset yhdisteet seerumin sytokiinipitoisuuksia, jotka ovat muodostuneet vasteena endotoksiinikäsittelylle. Tämä anti-inflammatorinen aktiivisuus ja huomattava eloonjäämisen tehostuminen letaalin endotoksiiniannoksen jälkeen tapahtuvat yhtäaikaisesti (ks. esimerkki 74).

10

Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat käyttökelpoisia sairaustiloissa, joissa joko endotoksiini tai tulehdukselliset sytokiinit myötävaikuttavat patogeneesiin. Näitä sairaustiloja ovat autoimmuunisairaudet, infektiota seuraava tulehdus tai idiopaattiset tulehdustilat. Autoimmuunisairauksia, joissa esiintyy tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden sytokiineja, ovat, mainittuihin kuitenkin rajoittumatta, psoriaasi, multippeliskleroosi, reumaattinen niveltulehdus, autoimmuunihepatiitti ja lupus. Tulehduks-tiloja, joihin tällaiset sytokiinit osallistuvat, ovat, mainittuihin kuitenkin rajoittumatta, virus-, bakteeri- tai sieni-infektioon vasteeksi syntynyt tulehdus, mukaan lukien systeeminen tulehdusoireyhtymä (verenmyrkytys), sekä kudoksen paikallinen tulehtuminen että vaurioituminen sairauksissa, kuten virushepatiitti, AIDS (esimerkiksi kakeksia ja neuropatia) ja poliomyeliitti. Samalla tavoin katsotaan tulehduksellisten sytokiinien aiheuttavan syöpäpotilailla esiintyvää kakeksiaa sekä allogeenisen elimen tai kudossiirteiden hyljintää.

25

30

Tulehduksellisten ihosairauksien hoitoon formuloidaan tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä annettavaksi paikallisesti ja niitä levitetään yhdestä kerrasta viikossa useisiin kertoihin päivässä. Paikallisformulaatioissa käytettävät konsentraatiot ovat alueella 0,01 - 50 mg/ml.

35

Systeemisen tulehdussairauden hoitoon annetaan tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden tehokkaita annoksia oraalisesti tai parenteraalisesti sopivissa formulaatioissa. Annokset, jotka ovat yhdestä milligrammasta korkeintaan yhteen grammaan, valitaan halutun terapeuttisen vaikutuksen mukaan. Annoksia annetaan sairauden vakavuuden mukaan yhdestä kerrasta viikossa useisiin kertoihin päivässä. Samanlaiset annokset ja hoito-ohjelmat ovat sopivia infektiosairausten hoitoon.

D. Tämän keksinnön mukaista yhdisteiden ja koostumusten antaminen

Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä ja koostumuksia annetaan oraalisesti, injektoimalla parenteraalisesti, suonensisäisesti, antamalla paikallisesti tai käyttämällä jotakin muuta keinoa kysymyksessä olevan hoidettavan sairauden mukaisesti.

Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä ja koostumuksia annetaan jatkuvasti tai tietyin aikaväleihin. Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä ja koostumuksia annetaan ennen sellaista tapahtumaa (esimerkiksi säteilytystä tai altistamista solujen määrää pienentäville kemoterapeuttisille aineille), joka vaurioittaa hematopoieettista järjestelmää, tällaisen aikana tai tämän jälkeen. Siinä tapauksessa, että hoito annetaan kyseessä olevan tapahtuman jälkeen, annetaan tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä tai koostumuksia ennen kuin verisolujen tai luuydinsolujen määrät ovat pienentyneet pienimmilleen ja/tai niitä annetaan tämän jälkeen.

Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä formuloidaan biologisesti hajoaviin, biologisesti erodoituviin tai muihin lääkeainetta hitaasti vapauttaviin matrikseihin lääkeaineen vapauttamiseksi pitkän ajan kuluessa sen jälkeen kun niitä on annettu oraalisesti tai niitä annetaan ihonalaisen siirteiden muodossa. Siinä tapauksessa, että näitä yhdisteitä

annetaan injektoimalla suonensisäisesti tai lihaksensisäisesti, ne formuloidaan mahdollisesti liposomeihin.

5 Farmakologisesti aktiiviset yhdisteet yhdistetään mahdollisesti sopiviin farmaseuttisesti hyväksyttäviin kantaja-  
aineisiin, jotka sisältävät aktiivisten yhdisteiden käsittelyä tehostavia lisäaineita ja apuaineita. Näitä annetaan  
tabletteina, drageina, kapseleina ja peräpuikkoina. Koostumuksia annetaan esimerkiksi oraalisesti, peräsuolen kautta,  
10 emättimen kautta tai niiden annetaan vapautua poskiontelosta ja niitä voidaan antaa liuoksen muodossa injektoimalla,  
antamalla oraalisesti tai antamalla paikallisesti. Koostumukset voivat sisältää noin 0,1 - 99 %, edullisesti noin  
50 - 90 %, aktiivista(ia) yhdistettä(eitä) lisäaineeseen(eisiin) yhdistettynä.  
15

Kun aktiivisia yhdisteitä on tarkoitus antaa parenteraalisesti injektoimalla tai infusoimalla suonensisäisesti, nämä  
suspendoidaan tai liuotetaan vesipitoiseen mediumiin, kuten  
20 steriiliin veteen tai fysiologiseen suolaliuokseen. Injektioliuokset tai -suspensiot sisältävät mahdollisesti  
pinta-aktiivista ainetta, kuten polyoksietyleenisorbitaani-estereitä, sorbitaaniestereitä, polyoksietyleenieettereitä,  
tai fosfolipidejä tai solubilisointiaineita, kuten propyleeniglykolia tai etanolia. Yksi sopiva formulaatio valmistetaan  
25 liuottamalla tämän keksinnön mukaista yhdistettä etanoliin ja lisäämällä se tämän jälkeen fysiologiseen suolaliuokseen  
käsittelemällä sitä samalla ultraäänellä tai sekoittamalla voimakkaasti siten, että lopullinen etanolikonsentraatio on  
30 alueella noin 0,5 - 20 %. Koostumukseen lisätään mahdollisesti pinta-aktiivista ainetta, kuten Tween 80:tä tai fosfatidyylikoliinia.  
Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä suspendoidaan tai liuotetaan mahdollisesti rasvapitoisiin injektioemulsioihin parenteraalisesti  
35 annettavaksi. Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä formuloidaan mahdollisesti myös fosfolipidikomplekseihin. Liuos tai  
suspensio sisältää tyypillisesti 0,01 - 5 % aktiivisia yh-

disteitä. Aktiivisia yhdisteitä liuotetaan mahdollisesti farmaseuttista laatuluokkaa olevaan kasviöljyyn lihaksensisäistä injeksiota varten. Tällaiset preparaattit sisältävät noin 1 - 50 % aktiivista yhdistettä(eitä) öljyyn valmistettuna.

5

Sopivia lisäaineita ovat täyteaineet, kuten sokerit, esimerkiksi laktoosi, sakkaroosi, mannitoli tai sorbitoli, selluloosapreparaatit ja/tai kalsiumfosfaatit, esimerkiksi trikalsiumfosfaatti tai kalsiumvetyfosfaatti, sekä sideaineet, kuten tärkkelystahna, johon käytetään esimerkiksi maissitärkkelystä, vehnätärkkelystä, riisitärkkelystä tai perunatärkkelystä, gelatiini, tragantti, metyyliiselluloosa, hydroksipropyylimetyyliiselluloosa, natriumkarboksimeetyyliiselluloosa ja/tai polyvinyylipyrrolidoni.

10

15

Apuaineita ovat juoksevuutta parantavat aineet ja voiteluaineet, kuten esimerkiksi silika, talkki, steariinihappo tai tämän suolat, kuten magnesiumstearaatti tai kalsiumstearaatti, ja/tai polyetyleeniglykoli. Drageiden ytimiä muodostetaan käyttämällä sopivia päällysteitä, jotka haluttaessa kestävät mahanestettä. Tähän tarkoitukseen käytetään väkeviä sokeriliuoksia, jotka mahdollisesti sisältävät arabikumia, talkkia, polyvinyylipyrrolidonia, polyetyleeniglykolia ja/tai titaanidioksidia, lakkaliuoksia ja sopivia orgaanisia liuottimia tai liuotinseoksia. Mahanesteitä kestävien päällysteiden valmistamiseksi käytetään liuoksia, jotka sisältävät sopivia selluloosapreparaatteja, kuten asetyyliiselluloosaftalaattia tai hydroksipropyylimetyyliiselluloosaftalaattia. Tablettien tai drageiden päällyksiin lisätään mahdollisesti väriaineita tai pigmenttejä esimerkiksi tunnistamista varten tai yhdisteen eri määrien karakterisoimiseksi.

20

25

30

35

Tämän keksinnön mukaisia farmaseuttisia preparaatteja valmistetaan sinänsä tunnetulla tavalla esimerkiksi käyttämällä tavanomaisia sekoitus-, rakeistus-, drageiden valmistus-,

liuotus- tai lyofilisointimenetelmiä. Oraalista käyttöä varten tarkoitettuja farmaseuttisia valmisteita saadaan yhdistämällä aktiivinen(iset) yhdiste(et) kiinteisiin lisäaineisiin, mahdollisesti jauhattamalla aikaansaattava seos ja muokkaamalla seos sopivien lisäaineiden lisäyksen jälkeen rakeiksi, silloin kun tämä on haluttua tai tarpeellista tablettien tai drageiden ydinten aikaansaamiseksi.

Muita farmaseuttisia valmisteita, jotka ovat käyttökelpoisia annosteluun suun kautta, ovat yhteentyöntämällä suljettavat gelatiinista valmistetut kapselit sekä pehmeinä suljettavat gelatiinista valmistetut kapselit ja pehmitinaineet, kuten glyseroli tai sorbitoli. Yhteentyöntämällä suljettavat kapselit sisältävät aktiivista(ia) yhdistettä(eitä) rakeiden muodossa, jotka mahdollisesti yhdistetään täyteaineisiin, kuten laktoosiin, sideaineisiin, tärkkelyksiin ja/tai voiteluaineisiin, kuten talkkiin tai magnesiumstearaattiin, ja mahdollisesti stabilointiaineisiin. Pehmeiden kapselien sisältämät aktiiviset yhdisteet liuotetaan tai suspendoidaan edullisesti sopiviin nesteisiin, kuten rasvaöljyihin, nestemäiseen parafiiniin tai polyetyleeniglykoleihin. Tämän lisäksi lisätään mahdollisesti stabilointiaineita.

Vielä yhdessä sovellutusmuodossa tämän keksinnön mukaiset yhdisteet formuloidaan annettavaksi oraalisesti fosfolipidikomplekseina, liposomeina tai lipidien ja pinta-aktiivisten aineiden muodostamina yhdistettyinä miselleinä. Misellikomponentteja ovat mainittuihin kuitenkin rajoittumatta diglyseridit, rasvahapot (tyydyttämättömät tai tyydyttyneet rasvahapot), fosfolipidit, mukaan lukien fosfatidyylikoliini ja fosfatidyliseriini, sappihapot ja synteettiset ionittumattomat pinta-aktiiviset aineet. Lipideihin ja pinta-aktiivisiin aineisiin perustuvat misellit edistävät tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden pääsyä suolen imusuonistoon oraalisesta antamisesta jälkeen.

Rektaalisesti käytettäviä farmaseuttisia valmisteita ovat esimerkiksi peräpuikot, jotka koostuvat aktiivisia yhdisteitä sekä peräpuikkojen perusmassaa sisältävästä yhdistelmästä. Sopivia peräpuikkojen perusmassoja ovat esimerkiksi luonnosta peräisin olevat tai synteettiset triglyseridit, parafiinihiilivedyt, polyetyleeniglykolit ja ylemmät alkanolit. Käyttökelpoisia ovat lisäksi gelatiinista valmistetut rektaalikapselit, jotka muodostuvat aktiivisia yhdisteitä sekä perusmassaa sisältävästä yhdistelmästä. Perusmassaa muodostavia materiaaleja ovat esimerkiksi nestemäiset triglyseridit, polyetyleeniglykolit tai parafiinihiilivedyt.

Sopivia formulaatioita parenteraalista antamista varten ovat vesipitoiset liuokset, jotka sisältävät aktiivisia yhdisteitä vesiliukoisessa muodossa, esimerkiksi vesiliukoisina suoloina. Lisäksi annetaan suspensioita tai liuoksia, jotka sisältävät sopivia aktiivisia yhdisteitä öljymäisissä injektio-kantaja-aineissa, liuottimissa, kuten propyleeni-glykoli tai lipidin ja vesipitoisten yhdisteiden emulsiot. Sopivia lipofiilisiä liuottimia tai kantaja-aineita ovat rasvaöljyt, esimerkiksi seesamöljy, tai synteettiset rasvahappoesterit, esimerkiksi etyylioleaatti tai triglyseridit. Vesipitoiset injektiosuspensiot sisältävät mahdollisesti aineita, jotka kohottavat suspension viskositeettia ja joita ovat esimerkiksi natriumkarboksimeytyyliselluloosa, sorbitoli ja/tai dekstraani. Suspensio sisältää mahdollisesti stabilointiaineita.

Vielä yhdessä sovellutusmuodossa aktiiviset yhdisteet formuloidaan paikallista antamista varten ihovedeksi. Sopivia lipofiilisiä liuottimia tai kantaja-aineita ovat rasvaöljyt, esimerkiksi seesamöljy tai kookosöljy tai synteettiset rasvahappoesterit, esimerkiksi etyylioleaatti tai triglyseridit.

E. Tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden synteesi

Oksipuriininukleosidien asyloituja johdannaisia syntetoidaan saattamalla oksipuriininukleosidi tai tämän kanssa samaan ryhmään kuuluva yhdiste reagoimaan aktivoitun karboksyylihapon kanssa. Aktivoitu karboksyylihapo on karboksyylihapo, jota on käsitelty sopivilla reagensseilla, jotka muuttavat sen karboksylaattihiilen herkemäksi nukleo-  
 5 fiilistä hyökkäystä kohtaan verrattuna siihen, mikä on asianlaita alkuperäisen karboksyylihapon kyseessä ollessa. Esimerkkejä tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden synte-  
 10 tointiin soveltuvista käyttökelpoisista aktivoituista karboksyylihapoista ovat happokloridit, happoanhydridit, N-hydroksisukkinimidiesterit tai BOP-DC:lla aktivoitut karboksyylihapot. Karboksyylihapoja voidaan myös yhdistää oksipuriininukleosideihin tai näiden kanssa samaan ryhmään  
 15 kuuluviin yhdisteisiin käyttämällä kytkentäreagensseja, kuten disykloheksyylikarbodi-imidiä (DCC).

Silloin kun halutun asyylijohdannaisen happolähtöaine sisältää asylointireaktioita häiritseviä ryhmiä, esimerkiksi  
 20 hydroksyyli- tai aminoryhmiä, näiden ryhmien reagointi estetään ennen anhydridin valmistusta tämän keksinnön mukaisia asyyliyhdisteitä valmistettaessa suojaavilla ryhmillä, esimerkiksi t-butyylidimetyylisilylyliettereillä tai t-BOC-ryhmillä, mainitussa järjestyksessä ilmoitettuna. Maito-  
 25 happo muunnetaan esimerkiksi 2-t-butyylidimetyylisiloksi-  
 propionihapoksi t-butyylidimetyylikloorisilaanilla, minkä jälkeen tulokseksi saatava silyyliesteri hydrolysoi-  
 daan vesipitoisella emäksellä. Anhydridi muodostetaan saattamalla suojattu happo reagoimaan DCC:n kanssa. Aminohap-  
 30 jen kyseessä ollessa valmistetaan N-t-BOC-johdannainen vakiomenetelmiä käyttäen, joka johdannainen muutetaan sitten anhydridiksi DCC:lla. Sellaisten happojen kyseessä ollessa, jotka sisältävät useamman kuin yhden karboksylaattiryhmän (esimerkiksi meripihkahappo, fumaarihappo tai adipiinihapo)  
 35 saatetaan halutun dikarboksyylihapon happoanhydridi reagoimaan oksipuriininukleosidin tai tämän kanssa samaan ryhmään kuuluvan yhdisteen kanssa pyridiinissä tai

pyridiinissä ynnä dimetyyli-formamidissa tai dimetyyli-asetamidissa.

5 Aminohappoja kytketään guanosiinin ja deoksiguanosiinin renkaan ulkopuolisiin aminoryhmiin ja oksipuriininukleosidien tai niiden kanssa samaan ryhmään kuuluvien yhdisteiden aldoosiryhmissä sijaitseviin hydroksyyli-ryhmiin vakio-

10 menetelmin käyttäen DCC:tä sopivassa liuottimessa, erityisesti seoksessa, joka sisältää (i) metyleenikloridia ja (ii) dimetyyliasetamidia tai dimetyyli-formamidia.

Seuraavat esimerkit ovat kuvaavia esimerkkejä tämän keksinnön mukaisista menetelmistä ja koostumuksista, mutta eivät ole keksintöä rajoittavia. Muut sopivat modifikaatiot ja

15 muunnelmat, joihin sisältyy useita erilaisia kliinisessä hoidossa tavallisesti esiintyviä olosuhteita ja muuttujia, kuuluvat tämän keksinnön henkeen ja suojapiiriin.

#### Esimerkit

20 Seuraavat esimerkit liittyvät tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden valmistamiseen.

#### Esimerkki 1: Oktanoyyli-guanosiinin valmistus

100 ml:n pulloon lisättiin guanosiinia (2,0 g, 7,06 mmol) ja

25 N,N-dimetyyli-4-aminopyridiiniä (0,017 g, 0,14 mmol). Pulloon lisättiin kanyylin kautta seosta samalla sekoittaen N,N-dimetyyli-formamidia (25 ml), sen läpi johdettiin argonkaasua ja siihen lisättiin kanyylin kautta pyridiiniä (14 ml). Lietteen annettiin jäähtyä 10 minuuttia jää/NaCl-

30 hauteella ja seokseen lisättiin pisaroittain oktanoyylikloridia (1,6 ml, 9,2 mmol). Seos jätettiin sekoittumaan lämmittäen se samalla hitaasti 25 °C:een. Seos yhdistettiin 18 h kuluttua 300 ml:aan jääkylmää 0,1 M natriumvetykarbonaattiliuosta, mistä saatiin valkeaa kiinteää ainetta, joka eristettiin imusuodattamalla, pestiin 3 x 100 ml:lla kuumaa vettä, ilmakeivattiin ja kiteytettiin uudelleen kuumasta metanolista.

Esimerkki 2: Lauroyyliquanosiinien valmistus

100 ml:n pulloon lisättiin guanosiinia (2,0 g, 7,06 mmol) ja N,N-dimetyyli-4-aminopyridiiniä (0,017 g, 0,14 mmol). Pulloon lisättiin kanyylin kautta seosta samalla sekoittaen

5 N,N-dimetyyliformamidia (25 ml), sen läpi johdettiin argonkaasua ja seokseen lisättiin kanyylin kautta pyridiiniä (14 ml). Lietteen annettiin jäähtyä 10 minuuttia jää/NaCl-hauteessa ja seokseen lisättiin pisaroittain lauroylylkloridia (2,12 ml, 9,2 mmol). Seos jätettiin sekoittumaan ja

10 se lämmitettiin samalla hitaasti 25 °C:een. Seos yhdistettiin 18 h kuluttua 300 ml:aan jääkylmää 0,1 M natriumvetykarbonaattiliuosta, mistä saatiin valkeaa kiinteää ainetta, joka eristettiin imusuodattamalla, pestiin 3 x 100 ml:lla kuumaa vettä, ilmakeivattiin ja kiteytettiin

15 uudelleen kuumasta metanolista.

Esimerkki 3: Palmitoyyliquanosiinien valmistus

100 ml:n pulloon lisättiin guanosiinia (2,0 g, 7,06 mmol) ja N,N-dimetyyli-4-aminopyridiiniä (0,017 g, 0,14 mmol).

20 Pulloon lisättiin kanyylin kautta seosta samalla sekoittaen N,N-dimetyyliformamidia (25 ml), sen läpi johdettiin argonkaasua ja siihen lisättiin kanyylin kautta pyridiiniä (14 ml). Lietteen annettiin jäähtyä 10 minuuttia jää/NaCl-hauteessa ja seokseen lisättiin pisaroittain palmitoylylkloridia (2,8 ml, 9,2 mmol). Seos jätettiin sekoittumaan ja se lämmitettiin samalla hitaasti 25 °C:een. Seos yhdistettiin 18 h kuluttua 300 ml:aan jääkylmä 0,1 x natriumvetykarbonaattiliuosta, mistä saatiin valkeaa kiinteää ainetta, joka eristettiin imusuodattamalla, pestiin 3 x 100 ml:lla

30 kuumaa vettä, ilmakeivattiin ja kiteytettiin uudelleen kuumasta 2-metoksietanolista.

Esimerkki 4: Bentsoyyliquanosiinien valmistus

100 ml:n pulloon lisättiin guanosiinia (2,0 g, 7,06 mmol) ja N,N-dimetyyli-4-aminopyridiiniä (0,017 g, 0,14 mmol).

35 Pulloon lisättiin kanyylin kautta seosta samalla sekoittaen N,N-dimetyyliformamidia (30 ml), sen läpi johdettiin argon-

kaasua ja siihen lisättiin kanyylin kautta pyridiiniä  
 (16 ml). Lietteen annettiin jäähtyä 10 minuuttia jää/NaCl-  
 hauteessa ja seokseen lisättiin pisaroittain bentsoyyli-  
 kloridia (1,2 ml, 8,5 mmol). Seos jätettiin sekoittumaan ja  
 5 se lämmitettiin samalla hitaasti 25 °C:een. Seos yhdistet-  
 tiin 72 h kuluttua 300 ml:aan 0,1 M natriumvetykarbonaatti-  
 liuosta (tämä oli lämmitetty 60 °C:een), mistä saatiin  
 valkeaa kiinteää ainetta, joka eristettiin imusuodattamalla  
 (käyttäen huokoskooltaan keskikokoa olevaa sintteri-  
 10 suodatinta), pestiin 3 x 100 ml:lla kuumaa vettä ja ilma-  
 kuivattiin.

#### Esimerkki 5: Palmitoyyliksansosiinin valmistus

50 ml:n pulloon lisättiin ksantosiinidihydraattia (1,0 g,  
 15 3,52 mmol) ja N,N-dimetyyli-4-aminopyridiiniä (0,0086 g,  
 0,07 mmol). Pulloon lisättiin kanyylin kautta seosta samalla  
 sekoittaen N,N-dimetyyliformamidia (16 ml), pullon läpi  
 johdettiin argonkaasua ja seokseen lisättiin kanyylin kautta  
 pyridiiniä (8 ml). Lietteen annettiin jäähtyä 10 minuuttia  
 20 jää/NaCl-hauteessa ja siihen lisättiin pisaroittain  
 palmitoyylikloridia (1,6 ml, 9,2 mmol). Seos jätettiin se-  
 koittumaan ja se lämmitettiin samalla hitaasti 25 °C:een.  
 Seos yhdistettiin 18 h kuluttua 300 ml:aan jääkylmää 0,1 M  
 natriumvetykarbonaattiliuosta, mistä saatiin valkeaa kiin-  
 25 teää ainetta, joka eristettiin imusuodattamalla, pestiin 3 x  
 100 ml:lla kuumaa vettä, ilmakeivattiin ja kiteytettiin  
 uudelleen kuumasta metanolista.

#### Esimerkki 6: Palmitoyyli-inosiinin valmistus

30 50 ml:n vetoiseen pulloon lisättiin inosiinia (1,0 g,  
 3,73 mmol) ja N,N-dimetyyli-4-aminopyridiiniä (0,017 g,  
 0,074 mmol). Pulloon lisättiin kanyylin kautta seosta sa-  
 malla sekoittaen N,N-dimetyyliformamidia (16 ml), pullon  
 läpi johdettiin argonkaasua ja seokseen lisättiin kanyylin  
 kautta pyridiiniä (8 ml). Lietteen annettiin jäähtyä 10 mi-  
 35 nuuttia jää/NaCl-hauteessa ja siihen lisättiin pisaroittain  
 palmitoyylikloridia (1,3 ml, 4,1 mmol). Seos jätettiin se-

koittumaan ja se lämmitettiin samalla hitaasti 25 °C:een. Reaktio lopetettiin 18 tunnin kuluttua pienen jääkokkareen avulla ja liuottimet haihdutettiin, mistä jäi jäljelle valkeaa kumimaista materiaalia. Tolueeni (20 ml) haihdutettiin tästä kumimaisesta materiaalista, joka trituroitiin sitten perusteellisesti suhteessa 1 : 1 valmistetulla etyyliasetaatilla ja dietyylieetterin seoksella. Supernatantti eristettiin imusuodattamalla ja liuottimet haihdutettiin, mistä jäi jäljelle siirappimaista materiaalia, joka muuttui pehmeäksi amorfiseksi kiinteäksi aineeksi oltuaan 24 h vakuumieksikaattorissa.

#### Esimerkki 7: Palmitoyylideoksi-inosiinin valmistus

100 ml:n vetoiseen pulloon lisättiin deoksi-inosiinia (1,5 g, 5,95 mmol) ja N,N-dimetyyli-4-aminopyridiiniä (0,036 g, 0,297 mmol). Seokseen lisättiin kanyylin kautta sitä samalla sekoittaen N,N-dimetyyliformamidia (35 ml), pullon läpi johdettiin argonkaasua ja seokseen lisättiin kanyylin kautta pyridiiniä (15 ml). Lietteeseen annettiin jäähtyä 10 minuuttia jää/NaCl-hauteessa ja siihen lisättiin pisaroittain palmitoyylikloridia (2,0 ml, 6,54 mmol). Seos jätettiin sekoittumaan ja se lämmitettiin samalla hitaasti 25 °C:een. Seos yhdistettiin 18 tunnin kuluttua 300 ml:aan jääkylmää 0,1 M natriumvetykarbonaattiliuosta, mistä saatiin valkeaa kiinteää ainetta, joka eristettiin imusuodattamalla, pestiin 100 ml:lla vettä ja kuivattiin yön yli vakuumieksikaattorissa, mistä saatiin 2,72 g (93 %) palmitoyylideoksi-inosiinia.

#### Esimerkki 8: (5-karboksipentanoyyli)guanosiinin valmistus

500 mg:aan guanosiinia, joka oli valmistettu vedettömään pyridiiniin, lisättiin adipiinihappoa (5 mol eq) ja bis(2-okso-3-oksatsolidinyyli)-fosfiinikloridia (BOPDC) (1,0 mol eq). Seos jätettiin sekoittumaan huoneenlämpöön 18 h ajaksi ja liuotin poistettiin sitten vakuumissa. Jäännös lisättiin 100 ml:aan jäällä jäähdytettyä vettä ja vesipitoisen kerroksen pH säädettiin arvoon 3,0, ja seos uutettiin sitten

kolme kertaa 60 ml:lla etyyliasettaattia. Yhdistetyt uutteen kuivataan vedettömän magnesiumsulfaatin päällä ja haihdutetaan vakuuissa. Jäännökselle suoritettiin kromatografia silikageelikolonissa ja kolonni eluointiin kloroformin ja etanolin seoksella, minkä jälkeen eluaatti haihdutettiin vakuuissa.

Esimerkit 9 - 11: (5-karboksiheksanoyyli)guanosiinin, (5-karboksiheptanoyyli)guanosiinin ja (5-karboksinonanoyyli)guanosiinin valmistus

(5-karboksiheksanoyyli)guanosiinia, (5-karboksiheptanoyyli)guanosiinia ja (5-karboksinonanoyyli)guanosiinia valmistettiin guanosiinista käyttäen pimeliinihappoa, korkkihappoa ja sebasiinihappoa, mainitussa järjestyksessä ilmoitettuna, menetellen samoin kuin miten meneteltiin (5-karboksi-pentanoyyli)guanosiinin valmistuksen kyseessä ollessa.

Esimerkki 12: 3',5'-O,0-bis-(5-karboksipentanoyyli)guanosiinin valmistus

500 mg:aan guanosiinia, joka oli valmistettu vedettömään pyridiiniin, lisättiin adipiinihappoa (10 mol eq) ja bis(2-okso-3-oksatsolidinyyli)fosfiniini-kloridia (BOPDC) (2,0 mol eq). Seoksen annettiin jäädä sekoittumaan huoneenlämpöön 18 tunniksi, minkä jälkeen liuotin poistettiin vakuuissa. Jäännös lisättiin 100 ml:aan jäällä jäädytettyä vettä ja vesipitoisen kerroksen pH säädettiin arvoon 3,0, ja seos uutettiin sitten kolme kertaa 60 ml:lla etyyliasettaattia. Yhdistetyt uutteen kuivatettiin vedettömän magnesiumsulfaatin päällä ja haihdutettiin vakuuissa. Jäännökselle suoritettiin kromatografia silikageelikolonissa ja kolonni eluointiin kloroformin ja etanolin seoksella, minkä jälkeen eluaatti haihdutettiin vakuuissa.

Esimerkit 13 - 15: 3',5'-O,0-bis(5-karboksiheksanoyyli)-  
guanosiinin, 3',5'-O,0-bis-(5-karboksiheptanoyyli)gano-  
siinin ja 3',5'-O,0-bis-(5-karboksinonanoyyli)guanosiinin  
valmistus

5 3',5'-O,0-bis-(5-karboksiheksanoyyli)guanosiinia, 3',5'-O,0-  
bis-(5-karboksiheptanoyyli)guanosiinia ja 3',5'-O,0-bis-(5-  
karboksinonanoyyli)guanosiinia valmistettiin guanosiinista  
käyttäen pimeliinihappoa, korkkihappoa ja sebaasiinihappoa,  
mainitussa järjestyksessä ilmoitettuna, menetellen samoin  
10 kuin miten meneteltiin (5-karboksipentanoyyli)guanosiinin  
valmistuksen kyseessä ollessa.

Esimerkki 16: (Na-FMOC-Ne-CBZ-lysyyl)guanosiinin valmistus

15 500 mg:aan guanosiinia, joka oli valmistettu vedettömään  
pyridiiniin, lisättiin Na-FMOC-Ne-CBZ-lysiiniä (2 mol eq,  
Sigma-yhtiöstä) ja disykloheksyylikarbodi-imidiä (DCC)  
(1,0 mol eq). Seos jätettiin sekoittumaan huoneenlämpöön  
18 h ajaksi, minkä jälkeen liuotin poistettiin vakuudessa.  
Jäännös lisättiin 100 ml:aan jäällä jäähdytettyä vettä ja  
20 vesipitoisen kerroksen pH säädettiin arvoon 3,0, ja seos  
uutettiin sitten kolme kertaa 60 ml:lla etyyliasetaatia.  
Yhdistetyt uutteen kuivattiin vedettömän magnesiumsulfaatin  
päällä ja haihdutettiin vakuudessa. Jäännökselle suoritet-  
tiin kromatografia silikageelikolonissa ja kolonni eluoi-  
25 tiin kloroformin ja etanolin seoksella, minkä jälkeen  
eluaatti haihdutettiin vakuudessa.

Esimerkki 17: (N $\alpha$ -FMOC-N $\epsilon$ -CBZ-lysyyl)-2',3'-O-isopropyli-  
deeniguanosiinin valmistus

30 2,0 g:aan 2',3'-O-isopropylideeniguanosiinia (Sigma-yhtiös-  
tä), joka oli valmistettu vedettömään pyridiiniin, lisättiin  
N $\alpha$ -FMOC-N $\epsilon$ -CBZ-lysiiniä (2 mol eq, Sigma-yhtiöstä) ja  
disykloheksyylikarbodi-imidiä (DCC) (1,0 mol eq). Seos jä-  
tettiin sekoittumaan huoneenlämpöön 18 h alaksi, minkä  
35 jälkeen liuotin poistettiin vakuudessa. Jäännös lisättiin  
100 ml:aan jäällä jäähdytettyä vettä ja vesipitoisen ker-  
roksen pH säädettiin arvoon 3,0, ja seos uutettiin sitten

kolme kertaa 60 ml:lla etyyliasettaattia. Yhdistetyt uutteen  
 kuivattiin vedettömän magnesiumsulfaatin päällä ja haihdu-  
 tettiin vakuuissa. Jäännökselle suoritettiin kromatografia  
 silikageelikolonissa ja kolonni eluoiitiin kloroformin ja  
 5 etanolin seoksella, minkä jälkeen eluaatti haihdutettiin  
 vakuuissa.

Esimerkki 18: (N $\alpha$ -FMOC-N $\epsilon$ -CBZ-lysyili)guanosiinin valmistus  
 Liuoksen, joka sisälsi 1,5 g (N $\alpha$ -FMOC-N $\epsilon$ -CBZ-lysyili)-2',3'-  
 10 O-isopropylideeniguanosiinia 18 ml:ssa 50-%:ista  
 vesipitoista HCO<sub>2</sub>H:ta, annettiin jäädä paikoilleen 20 h  
 ajaksi huoneenlämpöön. Liuos haihdutettiin kuivaksi, mistä  
 saatiin jäännös, joka kiteytettiin uudelleen MeOH:n ja  
 EtOAc:n seoksesta.

Esimerkki 19: (N $\alpha$ -FMOC-lysyili)guanosiinin valmistus  
 Liuosta, joka sisälsi 1,0 g (N $\alpha$ -FMOC-N $\epsilon$ -CBZ-lysyili)guano-  
 siinia 150 ml:ssa DMF:ää, vedytettiin 3,5 h 330 kPa:n  
 (48 psi) paineessa käyttäen 0,7 g 10-%:ista Pd/C:tä. Seos  
 20 suodatettiin ja suodos haihdutettiin ja materiaalia käsitel-  
 tiin tämän jälkeen 30 ml:lla EtOH:a ja sitten 20 ml:lla  
 H<sub>2</sub>O:ta. Tulokseksi saatu kiinteä aine kiteytettiin uudelleen  
 MeOH:n ja EtOAc:n seoksesta.

Esimerkki 20: Lysyyliguanosiinin valmistus

Liuokseen, joka sisälsi 800 mg (N $\alpha$ -FMOC-lysyili)guanosiinia,  
 joka oli valmistettu vedettömään pyridiiniin, lisättiin  
 seosta samalla sekoittaen vedetöntä piperidiiniä (4 mol eq).  
 Seos jätettiin sekoittumaan 0 °C:een 5 h ajaksi ja se  
 30 haihdutettiin sitten kuivaksi. Jäännös liuotettiin DMF:ään  
 ja puhdistettiin lisäämällä DMF-liuos hitaasti EtOH:sta ja  
 Et<sub>2</sub>O:sta valmistettuun liuokseen tätä samalla nopeasti  
 sekoittaen, mistä muodostui saostuma.

Esimerkki 21: Palmitoyyli-2'-deoksiguanosiinin valmistus

250 ml:n vetoiseen pulloon lisättiin 2'-deoksiguano-  
 siinimonohydraattia (5,0 g, 17,5 mmol), trietyyliamiinia

(3,13 ml, 22,4 mmol) ja N,N-dimetyyli-4-aminopyridiiniä (0,046 g, 0,37 mmol). Pulloon lisättiin kanyylin kautta seosta samalla sekoittaen N,N-dimetyyliformamidia (130 ml) ja pullon läpi johdettiin argonkaasua. Lietteeseen annettiin  
 5 jäähtyä 10 minuuttia jää/NaCl-hauteessa ja seokseen lisättiin pisaroittain palmitoyylikloridia (6,3 ml, 20,6 mmol). Seos jätettiin sekoittumaan ja se lämmitettiin samalla hitaasti 25 °C:een. Seos yhdistettiin 72 tunnin kuluttua seosta samalla sekoittaen 400 ml:aan noin 60 °C:een lämmitettyä ja suhteessa 1 : 1 valmistettua veden ja kylläisen vesipitoisen natriumvetykarbonaatin liuosta. Tulokseksi saatu valkea kiinteä aine eristettiin imusuodattamalla, pestiin vedellä ja kuivattiin.

15 Esimerkki 22: 3'-O-palmitoyyli-2'-deoksiguanosiinin valmistus

Tätä yhdistettä valmistettiin palmitoyyli-2'-deoksiguanosiinille käytetyllä menetelmällä käyttämällä 2'-deoksiguanosiinimonohydraatin tilalla sopiva määrä 5'-O-dimetoksitriitylideoksiguanosiinia ja poistamalla 5'-hydroksyyli-ryhmän suojaus seuraavasti: dimetoksitriityli-ryhmä poistetaan sekoittamalla seosta 80-%:isessä vesipitoisessa etikkahapossa 25 °C:ssa yhden tunnin ajan, raakatuote eristetään suodattamalla, raakatuotetta trituroidaan yhden tunnin ajan metanolissa, tuote otetaan talteen suodattamalla ja kuivaamalla.

25  
 30 Esimerkki 23: 3,5'-O,0-dipalmitoyyli-2'-deoksiguanosiinin valmistus

Tämä yhdiste saatiin edellä olevalla tavalla suoritettuna 5'-O-palmitoyyli-2'-deoksiguanosiinin valmistuksen sivutuotteena ja se eristettiin seuraavasti: raakatuote suspendoidaan tolueeniin silikageelin kanssa, tolueeni haihdutetaan, tulokseksi saatua kiinteää ainetta käsitellään silikageelikolonissa, jonka täytteen päälle on valmistettu matala alumiinioksidikerros, kolonni eluoidaan kloroformin

ja metanolin seoksella ja asiaankuuluvat fraktiot haihdutetaan.

Esimerkki 24: Oktanoyyli-2'-deoksiguanosiinin valmistus

5 Tätä yhdistettä valmistettiin palmitoyyli-2'-deoksiguanosiinille käytetyllä menetelmällä siten, että palmitoyylikloridin tilalla käytettiin sopivaa määrää oktanoyylikloridia.

10 Esimerkki 25: Lauroyyli-2'-deoksiguanosiinin valmistus

Tätä yhdistettä valmistettiin palmitoyyli-2'-deoksiguanosiinille käytetyllä menetelmällä siten, että palmitoyylikloridin tilalla käytettiin sopivaa määrää oktanoyylikloridia.

15 Esimerkki 26: Bentsooyli-2'-deoksiguanosiinin valmistus

Tätä yhdistettä valmistettiin palmitoyyli-2'-deoksiguanosiinille käytetyllä menetelmällä siten, että palmitoyylikloridin tilalla käytettiin sopivaa määrää bentsooyylikloridia ja kyseisessä jatkokäsittelyssä käytetyn seoksen tilalla käytettiin suhteessa 1 : 1 valmistettua jääveden ja kyläläisen vesipitoisen natriumvetykarbonaattiliuoksen seosta.

25 Esimerkki 27: Butyryyli-2'-deoksiguanosiinin valmistus

Tätä yhdistettä valmistettiin palmitoyyli-2'-deoksiguanosiinille käytetyllä menetelmällä siten, että palmitoyylikloridin tilalla käytettiin sopivaa määrää butyryylikloridia ja eristys suoritettiin seuraavasti: liuotin haihdutettiin 72 tunnin kuluttua, tulokseksi saatu materiaali trituroitiin suhteessa 1 : 1 valmistetussa dietyylieetterin ja etyyliasetaatin seoksessa ja tuote otettiin talteen suodattamalla.

35 Esimerkki 28: Palmitoyyli-8-bromi-2'-deoksiguanosiinin valmistus

Tätä yhdistettä valmistettiin palmitoyyli-2'-deoksiguanosiinille käytetyllä menetelmällä siten, että 2'-deoksiguanosi-

siinimonohydraatin tilalla käytettiin sopiva määrä 8-bromiguanosiinia.

Esimerkki 29: Palmitoyyli-8-merkaptio-2'-deoksiguanosiinin valmistus

Tätä yhdistettä valmistettiin palmitoyyli-2'-deoksiguanosiinille käytetyllä menetelmällä siten, että 2'-deoksiguanosiinimonohydraatin tilalla käytettiin sopiva määrä 8-merkaptoguanosiinia.

Esimerkki 30: Palmitoyyli-8-merkaptio-2'-deoksiguanosiinin asyklisen 2,3'-dialkoholin valmistus

Tätä yhdistettä valmistettiin palmitoyyli-2'-deoksiguanosiinille käytetyllä menetelmällä siten, että 2'-deoksiguanosiinimonohydraatin tilalla käytettiin sopiva määrä guanosinin asyklistä 2',3'-dialkoholia.

Esimerkki 31: 3',5'-O-N<sup>2</sup>-tripalmitoyyli-2'-deoksiguanosiinin synteesi

Lämpökaapissa kuivattuun 500 ml:n vetoiseen keittopulloon lisättiin 2'-deoksiguanosiinimonohydraattia (1,0 g, 1 eq). Keittopulloon lisättiin kanyylin kautta pulloa samalla pyöritellen kuivaa N,N-dimetyyliformamidia (DMF, 100 ml) ja seosta pyöriteltiin sitä samalla kuumentuen (lämpöpuhallinta käyttäen) kunnes kiinteä materiaali oli liuennut kokonaan. Tämän jälkeen DMF poistettiin haihduttamalla pyöröhaihduttajan avulla, jotta lähtöaineen hydraatiovesi olisi saatu poistettua. Pulloon asetettiin magneettisekoittajan sauva, pullo suljettiin septalla ja siihen lisättiin kanyylin kautta pulloa samalla pyöritellen ja sekoittaen kuivaa dimetyyliasetamidia (DMA, 120 ml) ja kuivaa pyridiiniä (60 ml). Pullon läpi johdettiin argonkaasua, lietteen annettiin jäähtyä 10 minuuttia jäähauteessa ja siihen lisättiin pisaroittain 15 minuutin aikana palmitoyylikloridia (3,1 eq). Seos jätettiin sekoittumaan ja se lämmitettiin samalla hitaasti 25 °C:een. Seos yhdistettiin 18 h kuluttua 800 ml:aan 0,5 M natriumvetykarbonaattiliuosta, mistä

saatiin valkeaa kiinteää ainetta, joka eristettiin imusuodattamalla, pestiin 3 x 100 ml:lla H<sub>2</sub>O:ta, ilma-kuivattiin ja kuivattiin lopuksi suuressa vakuuimissa, mistä saatiin valkeaa, hieman vahamaista jauhetta. Tämä raakatuote puhdistettiin kaksi kertaa käyttäen pikakromatografiaa (silikageelikerros, kerros eluointiin kloroformin ja metanolin seoksella), mistä saatiin läpinäkyvää amorfista materiaalia, jonka sp. oli 59 °C. <sup>1</sup>H-NMR- ja alkuaine-analyysikoetulokset olivat yhdenmukaiset yhdisteelle annetun rakenteen suhteen.

Esimerkki 32: 3',5'-O-N<sup>2</sup>-tripalmitoyyli-2'-deoksiguanosiinin vaihtoehtoinen syntetointitapa

1 g 2'-deoksiguanosiinia ja 15 ml kuivaa N'N'-dimetyyli-formamidia lisättiin 100 ml:n vetoiseen kuivaan keittopulloon. Dietyyliformamidi poistettiin kahden peräkkäisen haihdutuksen avulla käyttäen pyöröhaihduttajaa, mistä saatiin kuivaa 2'-deoksiguanosiinia. 0,56 g (2 mM) kuivaa 2'-deoksiguanosiinia lisättiin 100 ml:n keittopulloon, johon oli kiinnitetty palautusjäähdytyslauhdutin ja keittopulloon lisättiin 10 ml kuivaa dimetyyliformamidia. Seokseen lisättiin tämän jälkeen 3 ml kuivaa pyridiiniä ja 2,9 g (6 mM) palmitiinihappoanhydridiä ja reaktioseosta palautusjäähdytettiin öljyhauteella 6 h ajan. Seoksen annettiin sitten jäähtyä huoneenlämmössä ja dimetyyli-formamidi ja pyridiini poistettiin pyöröhaihduttamalla. Seokseen lisättiin jäävettä ja tulokseksi saatua seosta sekoitettiin 15 minuuttia. Jäännös suodatettiin käyttäen Buchner-suppiloa ja se pestiin kolme kertaa vedellä (30 ml:n suuruiset erät). Jäännös siirrettiin tämän jälkeen 100 ml:n vetoiseen dekantointilasiin, joka sisälsi 40 - 50 ml kuivaa eetteriä, seosta sekoitettiin 5 - 7 minuuttia, materiaali eristettiin suodattamalla ja se pestiin kolme kertaa eetterillä (25 ml:n suuruiset erät). Tulokseksi saatu yhdiste puhdistettiin kromatografisesti kolonnissa silikageelissä (230 - 240 mesh-yksikköä) käyttäen liuottimena kloroformin ja metanolin seosta (98 : 2) (1,5 litraa).

Rf-arvoiltaan identtistä materiaalia sisältävät fraktiot yhdistettiin ja konsentroitiin ja tulokseksi saatu materiaali jatkopuhdistettiin preparatiivisella TLC:llä (silikageeli, 0,5 mm, fluoresoiva) käyttäen kloroformin ja metanolin seosta (9 : 1). Eristettiin materiaalia, jonka Rf-arvo oli 0,689; sp. 59 °C. <sup>1</sup>H-NMR- ja alkuaineanalyysikoetulokset olivat yhdenmukaiset yhdisteelle annetun rakenteen suhteen.

10 Esimerkki 33: 5'-O-N<sup>2</sup>-tripalmitoyyli-2'-deoksiguanosiinin synteesi

Lämpökaapissa kuivattuun 100 ml:n vetoiseen keittopulloon, joka sisälsi sekoitussauvan, lisättiin N<sup>2</sup>-palmitoyyli-2'-deoksiguanosiinia (0,75 g, 1 eq). Pulloon kiinnitettiin septa ja pulloon lisättiin kanyylin kautta kuivaa dimetyyliasetamidia (DMA, 32 ml) ja kuivaa pyridiiniä (16 ml) sisältöä samalla pyörätellen ja sekoittaen. Pullon läpi johdettiin argonkaasua, lietteen annettiin jäähtyä 10 minuuttia jäähauteessa ja seokseen lisättiin pisaroittain 5 minuutin aikana palmitoyylikloridia (1,1 eq). Seos jätettiin sekoittumaan ja se lämmitettiin samalla hitaasti 25 °C:een. Seos jäähdytettiin 88 h kuluttua uudelleen ja siihen lisättiin vielä 0,8 eq palmitoyylikloridia; seoksen annettiin jäädä taas sekoittumaan ja se lämmitettiin samalla hitaasti 25 °C:een. Seos yhdistettiin 5 tunnin kuluttua 200 ml:aan 0,5 M kaliumvetykarbonaattiliuosta, mistä saatiin valkeaa kiinteää ainetta, joka eristettiin imusuodattamalla, pestiin 3 x 30 ml:lla H<sub>2</sub>O:ta, ilmakuvattiin ja kuivattiin lopuksi suuressa vakuumissa, mistä saatiin valkeaa jauhetta. Tämä raakatuote puhdistettiin pikakromatografiaa käyttäen (silikageelikerros, kerros eluoiitiin kloroformin ja metanolin seoksella), mistä saatiin valkeaa jauhetta. <sup>1</sup>H-NMR- ja alkuaineanalyysikoetulokset olivat yhdenmukaiset yhdisteelle annetun rakenteen suhteen.

35

Esimerkki 34: 5'-O-palmitoyyli-N<sup>2</sup>-isobutyryyli-2'-deoksi-  
guanosiinin synteesi

Lämpökaapissa kuivattuun 100 ml:n vetoiseen keittopulloon, joka sisälsi sekoitussauvan, lisättiin N<sup>2</sup>-isobutyryyli-2'-  
 5 deoksiguanosiinia (0,75 g, 1 eq). Pulloon kiinnitettiin septa ja seokseen lisättiin kanyylin kautta seosta samalla pyörittelenn ja sekoittaen kuivaa dimetyyliasetamidia (DMA, 32 ml) ja kuivaa pyridiiniä (16 ml). Pullon läpi johdettiin argonkaasua, lietteen annettiin jäähtyä 10 minuuttia  
 10 jäähauteessa ja siihen lisättiin pisaroittain 5 minuutin aikana palmitoyylikloridia (2,5 eq). Seos jätettiin sekoittumaan ja se lämmitettiin samalla hitaasti 25 °C:een. Seos yhdistettiin 24 tunnin kuluttua 200 ml:aan 0,5 M kaliumvetykarbonaattiliuosta, mistä saatiin valkeaa kiinteää  
 15 ainetta, joka eristettiin imusuodattamalla, pestiin 3 x 30 ml:lla H<sub>2</sub>O:ta, ilmakeivattiin ja kuivattiin lopuksi suuressa vakuumissa, mistä saatiin valkeaa jauhetta. Tämä raakatuote puhdistettiin pikakromatografiaa käyttäen (silikageelikerros, kerros eluoiitiin kloroformin ja meta-  
 20 nolin seoksella), mistä saatiin valkeaa jauhetta. <sup>1</sup>H-NMR- ja alkuaineanalyysikoetulokset olivat yhdenmukaiset yhdisteelle annetun rakenteen suhteen.

Esimerkki 35: 3', 5'-O-N<sup>2</sup>-trioleyyli-2'-deoksiguanosiinin  
synteesi

25 1 g 2'-deoksiguanosiinia ja 15 ml kuivaa N',N'-dimetyyli-  
 30 formamidia lisättiin 100 ml:n vetoiseen kuivaan keittopulloon. Dietyyliformamidi poistettiin kahdella peräkkäisellä haihdutuksella käyttäen pyöröhaihduttajaa, mistä saatiin kuivaa 2'-deoksiguanosiinia. 0,56 g (2 mM) kuivaa 2'-deoksiguanosiinia lisättiin 100 ml:n vetoiseen keittopulloon, johon oli kiinnitetty palautusjäähdytyslauhnutin ja keittopulloon lisättiin 10 ml kuivaa dimetyyliformamidia. Seokseen lisättiin tämän jälkeen 3 ml kuivaa pyridiiniä ja  
 35 3,27 g (6 mM) palmitiinihappoanhydridiä ja reaktioseosta palautusjäähdytettiin öljyhauteella 6 h. Tämän jälkeen seoksen annettiin jäähtyä huoneenlämmössä ja

dimetyyliformamidi ja pyridiini poistettiin pyöröhaihduttamalla. Materiaaliin lisättiin jäävettä ja tulokseksi saatua seosta sekoitettiin 15 minuuttia. Reaktioseos uutettiin kaksi kertaa 30 ml:lla kloroformia, minkä jälkeen kloroformiuutteet pestiin kaksi kertaa (kylläisellä)  $\text{NaHCO}_3$ :lla ja vedellä (25 ml). Kloroformiuute kuivattiin sitten vedettömällä natriumsulfaatilla, suodatettiin ja haihdutettiin. Tulokseksi saatu jäännös puhdistettiin kromatografisesti kolonnissa silikageelissä (230 - 240 mesh) käyttäen liuottimena kloroformin ja metanolin (98 : 2) seosta (1,5 litraa).

Rf-arvoiltaan identtistä materiaalia sisältävät fraktiot yhdistettiin ja konsentroidtiin ja tulokseksi saatu materiaali jatkopuhdistettiin preparatiivisella TLC:llä (silikaageeli, 0,5 mm, fluoresoivaa) kloroformin ja metanolin seoksessa (9 : 1). Eristettiin materiaali, jonka Rf-arvo oli 0,689.  $^1\text{H-NMR}$ - ja alkuaineanalyysikoetulokset olivat yhdenmukaiset yhdisteelle annetun rakenteen suhteen.

Esimerkki 36: 3',5'-O-N<sup>2</sup>-tristearyyli-2'-deoksiguanosiinin synteesi

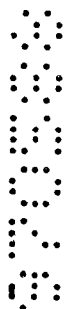
1 g 2'-deoksiguanosiinia ja 15 ml kuivaa N'N'-dimetyyliformamidia lisättiin 100 ml:n vetoiseen kuivaan keittopulloon. Dietyyliformamidi poistettiin kahdella peräkkäisellä haihdutuksella käyttäen pyöröhaihduttajaa, mistä saatiin kuivaa 2'-deoksiguanosiinia. 0,56 g (2 mM) kuivaa 2'-deoksiguanosiinia lisättiin 100 ml:n vetoiseen keittopulloon, johon oli kiinnitetty palautusjäähdytyslauhdutin ja keittopulloon lisättiin 10 ml kuivaa dimetyyliformamidia. Reaktioseokseen lisättiin sitten 3 ml kuivaa pyridiiniä ja 3,3 g (6 mM) palmitiinihappoanhydridiä ja sitä palautusjäähdytettiin öljyhauteella 6 h. Seoksen annettiin sitten jäähtyä huoneenlämmössä, ja dimetyyliformamidi ja pyridiini poistettiin haihduttamalla pyöröhaihduttajan avulla. Seokseen lisättiin jäävettä ja tulokseksi saatua seosta sekoitettiin 15 minuuttia. Jäännös suodatettiin

käyttäen Buchner-suppiloa ja se pestiin kolme kertaa vedellä (30 ml:n suuruiset erät). Jäännös siirrettiin sitten 100 ml:n vetoiseen dekantointilasiin, joka sisälsi 40 - 50 ml kuivaa eetteriä, seosta sekoitettiin 5 - 7 minuuttia, eristettiin suodattamalla ja pestiin kolme kertaa eetterillä (25 ml:n suuruiset erät). Tulokseksi saatu yhdiste puhdistettiin kromatografisesti kolonnissa silikageelissä (230 - 240 mesh) käyttäen liuottimena kloroformin ja metanolin seosta (98 : 2) (1,5 litraa).

10

Rf-arvoiltaan identtistä materiaalia sisältävät fraktiot yhdistettiin ja konsentroitiin ja tulokseksi saatu materiaali jatkopuhdistettiin preparatiivisella TLC:llä (silikageeli, 0,5 mm, fluoresoivaa) kloroformin ja metanolin seoksessa (9 : 1). Eristettiin materiaali, jonka Rf-arvo oli 0,689, <sup>1</sup>H-NMR- ja alkuaineanalyysikoetulokset olivat yhdenmukaiset yhdisteelle annetun rakenteen suhteen.

15



Seuraavat esimerkit esittävät tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden etuja in vivo -olosuhteissa.

Esimerkki 37: Guanosiini ja guaniini edistävät hematopoieettisen järjestelmän toiminnan palautumista syklofosfamidin jälkeen

5 Syklofosfamidia (CP) (275 mg/kg, i.p.) annettiin 30 naaraspuoliselle Balb/C-hiirelle, jotka kukin painoivat noin 20 grammaa. Kahdenkymmenen tunnin kuluttua ja kunakin 10 päivänä tämän jälkeen yhteensä kuuden päivän ajan hiirille annettiin 0,4 ml suuruisia i.p.-injektioita joko fysiologista suolaliuosta (kontrollit), guaniinia (5  $\mu$ mol/hiiri päivässä) tai guanosiinia (5  $\mu$ mol/hiiri päivässä). Kaikista 15 kussakin kolmessa ryhmässä olevista kymmenestä hiiristä otettiin 7. päivänä verta ja hiiret lopetettiin taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyypin määrät laskettiin.

20 Käsittelystä joko guaniinilla tai guanosiinilla oli tuloksena, että pernat olivat merkittävässä määrin painavampia kuin fysiologisella suolaliuoksella käsitellyissä kontroleissa (kuvio 1). Käsittelystä guaniinilla tai guanosiinilla oli samalla tavoin tuloksena, että valkosolujen ja neutrofiilien kokonaismäärät perifeeraalisessa veressä olivat 25 merkittävästi suuremmat (kuviot 2 ja 3, mainituissa järjestyksessä ilmoitettuna). Hiirten käsittely guaniinilla tai guanosiinilla CP:lla aiheutetun vaurion jälkeen kiihdyttää siten selvästi myelopoieesin uudentumista.

30 Esimerkki 38: Guanosiinin asyyli substituentin ketjun pituuden vaikutus hematopoieesin palautumiseen ennalleen syklofosfamidin jälkeen

35 Syklofosfamidia (CP) (275 mg/kg, i.p.) annettiin 70 naaraspuoliselle Balb/C-hiirelle, joista kukin painoi noin 20 grammaa. Hiirille annettiin kahdenkymmenen tunnin kuluttua ja kunakin päivänä tämän jälkeen yhteensä 6 päivän ajan 0,4 ml:n suuruisina i.p.-injektioina fysiologista

suolaliuosta (kontrollit) Tween 80:tä (0,2 %), guanosiinia (0,5  $\mu\text{mol}$ /hiiri päivässä 0,2-%:iseen Tween 80:een valmistettuna) tai yhtä seuraavista asyloiduista guanosiinijohdannaisista, joita käytettiin 2,5  $\mu\text{mol}$  hiirtä kohti päivässä, jotka oli valmistettu 0,2-%:iseen Tween 80:een ja jotka olivat triasetyyliguanosiini, oktanoyyliguanosiini, laurooyyliguanosiini tai palmitoyyliguanosiini. Kustakin seitsemästä hiirten ryhmästä peräisin olevista kaikista kymmenestä eläimestä otettiin 7. päivänä CP:n antamisen jälkeen verta ja eläimet lopetettiin sitten taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyyppeiden lukumäärät laskettiin.

Fysiologisella suolaliuoksella, Tween 80:lla tai asyloimattomalla guanosiinilla käsiteltyjen ryhmien välillä ei havaittu esiintyvän merkittäviä eroja. Hiirten käsittelystä asetyyliguanosiinilla, oktanoyyliguanosiinilla, laurooyyliguanosiinilla tai palmitoyyliguanosiinilla oli taas tuloksena se, että pernojen koko 7. päivänä oli merkittävästi suurempi kuin kontrolleilla (kuvio 4). Tässä ja tätä seuraavissa esimerkeissä aiheutti käsittely asyloiduilla oksipuriininukleosideilla tai niiden kanssa samaan ryhmään kuuluvilla yhdisteillä toisinaan erytrosyyttien lukumäärien väliaikaista pienentymistä (noin 10 %). Käsittely joka ainoalla näistä yhdisteistä sai aikaan valkosolujen määrän (WBC) huomattavan kohoamisen. Tässä kokeessa tutkittujen yhdisteiden valikoimassa WBC:hen kohdistuva vaikutus lisääntyi asyyliryhmän ketjun pituuden kasvamisen myötä. Suurin vaikutus valkosolujen kokonaismääriin oli tässä kokeessa palmitoyyliguanosiinilla (kuvio 5); samanlainen suhde asyyliryhmän ketjun pituuden ja hematopoieettisen vasteen voimakkuuden välillä havaittiin myös neutrofiilien kokonaismäärien kyseessä ollessa (kuvio 6).

Esimerkki 39: Palmitoyylyguanosiini edistää säteilytettyjen hiirten eloonjäämistä

Kolmeakymmentä naaraspuolista Balb/C-hiirtä, jotka kukin painoivat 20 grammaa, säteilytettiin koboltti 60 -gamma-säteilyllä käyttäen annosmääränä 0,073 Gy (7,3 radia) minuutissa. Kokonaisannos oli 7,0, 7,25 tai 7,5 Gy (700, 725 tai 750 radia). 24 tunnin kuluttua ja kunakin päivänä tämän jälkeen yhteensä kuuden päivän ajan näihin hiiriin injektoitiin i.p. joko fysiologista suolaliuosta (kontrollit) tai 50 mg/kg palmitoyylyguanosiinia. Eloon jääneiden eläinten lukumäärää kussakin ryhmässä tarkasteltiin kolmenkymmenen päivän aikana.

Kuten taulukossa 1 on esitetty, kuolivat kolmenkymmenen päivän tarkkailujaksona kaikki fysiologisella suolaliuoksella käsitellyt hiiret jopa pienimmällä säteilyannoksella. Tästä huomattavasti poiketen jäivät kaikki palmitoyylyguanosiinillä käsitellyt hiiret eloon (palmitoyylyguanosiinilla käsitellyt hiiret tutkittiin ainoastaan kahdella suuremmalla säteilyannoksella).

Tästä syystä hiirten käsittely säteilytyksen jälkeen palmitoyylyguanosiinilla lisää eloonjäämistä silmiinpistävästi.

Myös hiirten esikäsitteleminen palmitoyylyguanosiinilla ennen säteilytystä edisti eloonjäämistä.

Taulukko 1

Käsittely	Säteilyannos		
	7 Gy (700 R)	7,25 Gy (725 R)	7,5 Gy (750 R)
Fysiologinen suolaliuos (kontrolli)	0/10	0/5	0/5
Palmitoyylyguanosiini	-	5/5	5/5

Arvot tarkoittavat niiden hiirten lukumäärää, jotka olivat elossa 30 päivää säteilytyksestä, suhteessa säteilytettyjen hiirten lukumäärään.

Esimerkki 40: Palmitoyylyguanosini kohottaa pesäkkeitä muodostavien yksikköjen määrää syklofosfamidihoitosta toipumassa olevien hiirten luuytimessä

5        Seitsemällekympmenellekahdelle naaraspuoliselle Balb/C-hiirille, jotka kukin painoivat noin 20 grammaa, annettiin syklofosfamidia (275 mg/kg) injektoimalla sitä intraperitoneaalisesti (i.p.). 24 tunnin kuluttua ja kunakin päivänä tämän jälkeen hiiriin injektoitiin i.p. 0,4 ml joko fysiologista suolaliuosta (kontrolli) tai palmitoyylyguanosinia (2,5  $\mu\text{mol}$ /hiiri päivässä 0,2-%:iseen Tween 80:een valmistettuna). 3., 5., 7. ja 10. päivänä CP:n antamisesta kustakin ryhmästä lopetettiin kuusi eläintä taittamalla niskasta ja kunkin eläimen vasen reisiluu otettiin talteen steriileissä olosuhteissa. Luuydinsolut huuhdeltiin reisuista 15        23-numeroisella injektioneulalla McCoy's 5a Modified-mediumia käyttäen. Samaan ryhmään kuuluvista reisuista peräisin olevat solut yhdistettiin, dispergoitiin pyörresekoittamalla lyhytaikaisesti ja solut laskettiin hemosytometriä käyttäen. Solususpensiot lisättiin McCoy's Modified 20        5a -mediumiin, joka sisälsi 15 % nautaeläimen vasikan seerumia, 1 x kanamysiiniä, 0,3 % agarria ja 3 % endotoksiinilla stimuloitua seerumia. Tämän jälkeen suspensiot maljattiin solutiheyteen  $1,2 \times 10^5$  solua/ml lukuun ottamatta 3. päivänä suoritettuja toimenpiteitä, jolloin tänä ajankohtana esiintyneiden pienehköjen solumäärien johdosta maljauksessa 25        käytetty solutiheys oli  $1,0 \times 10^5$ . Kukin ryhmä maljattiin neljänä rinnakkaisena näytteenä. Kun soluja oli viljelty 7 päivää (37 °C:ssa 5-%:isessä CO<sub>2</sub>:ssa ja kosteutetussa ilmassa), laskettiin 50 solua tai tätä useampia soluja sisältävien aggregaattien ("pesäkkeiden") määrät käyttäen 30        preparointimikroskooppia 25-kertaisella suurennoksella.

35        Palmitoyylyguanosiinilla käsitellyistä hiiristä havaittujen pesäkkeiden lukumäärä yhtä reisuuta kohti oli kullakin ajankohdalla merkittävästi suurempi kuin pesäkkeiden lukumäärä fysiologisella suolaliuoksella käsitellyistä ryhmästä

(kuvio 7 ja taulukko 2). Suurin ero näiden ryhmien välillä havaittiin 5. päivänä.

Taulukko 2

	3. päivä	5. päivä	7. päivä	10. päivä	
5					
	Fysiologinen suolaliuos (kontrolli)	460 ± 22	714 ± 63	949 ± 61	253 ± 18
10	Palmitoyyli-guanosiini	645 ± 26	2327 ± 121	1328 ± 140	647 ± 25

Lukuarvot tarkoittavat pesäkkeitä muodostavien yksikköjen lukumäärää reisiluuta kohti hiirillä useina eri ajankohtina syklofosfamidin antamisen jälkeen.

15

Esimerkki 41: Palmitoyyli-guanosiinin antamisen ajoituksen vaikutus hematopoieettisen aktiivisuuden palautumiseen syklofosfamidin jälkeen

20

Syklofosfamidia (CP) (275 mg/kg, i.p.) annettiin 81 naaraspuoliselle Balb/C-hiirelle, jotka kukin painoivat noin 20 grammaa. Käsittely aloitettiin kahdenkymmenenneljän tunnin kuluttua. Hiirille annettiin i.p.-injektiona 0,4 ml joko fysiologista suolaliuosta (kontrollit), Tween 80:tä (0,2 %) tai palmitoyyli-guanosiinia (5 µmol/hiiri päivässä 0,2-%:iseen Tween 80:een valmistettuna). Käsittelyn ajoitusta vaihdeltiin ryhmien kesken. Kontrolliryhmälle annettiin fysiologista suolaliuosta 1. - 6. päivänä. Hiiriä, joille annettiin Tween 80:tä, käsiteltiin 1. - 4., 4. - 6. tai 1. - 6. päivänä. Palmitoyyli-guanosiinilla käsiteltyjä hiiriä käsiteltiin 1. - 2., 1. - 4., 3. - 5., 4. - 6. tai 1. - 6. päivänä. Jos hiirille ei tiettyinä nimenomaisena päivänä annettu Tween 80:tä tai palmitoyyli-guanosiinia, niin niille annettiin fysiologista suolaliuosta injektoimalla tätä i.p. Ryhmiä oli siten 9 ja niissä kaikissa oli 9 eläintä. 7. päivänä CP:n antamisen jälkeen otettiin kaikista eläimistä verta ja ne lopetettiin sitten taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyypien määrät määritettiin.

25

30

35

Pernan paino nousi fysiologisella suolaliuoksella käsiteltyihin kontrolleihin verrattuna kaikissa käsittelyryhmissä lukuun ottamatta ryhmiä, joille annettiin Tween 80:tä ainoastaan 1. - 4. päivänä (kuvio 8). Palmitoyylyguanosiinin antaminen minkä tahansa tutkitun aikavälin ajan, mukaan lukien sen, että eläimiä käsiteltiin ainoastaan 1. ja 2. päivänä, lisäsi merkittävästi pernan painoa kontrolleihin verrattuna (myös kuvio 8). Lisäksi palmitoyylyguanosiinikäsittely (käytetyn aikavälin pituuteen katsomatta) lisäsi pernojen kokoa verrattuna hiiriin, joita oli käsitelty ainoastaan Tween 80:lla. Suurin vaikutus pernan painoon oli käsittely palmitoyylyguanosiinilla 1. - 4. tai 1. - 6. päivänä.

Valkosolujen (WBC) kokonaismäärät olivat kussakin niistä ryhmistä, joille annettiin palmitoyylyguanosiinia, merkittävästi suuremmat kuin kontrolleilla, joille annettiin fysiologista suolaliuosta (kuvio 9). Lisäksi kaikista palmitoyylyguanosiinilla käsitellyistä hiiristä määritettyjen valkosolujen lukumäärät ainoastaan 4. - 6. päivänä käsitellyjä hiiriä lukuun ottamatta olivat merkittävästi suuremmat kuin hiirillä, joita oli käsitelty Tween 80:lla minkä tahansa pituinen aika. Suurin vaikutus havaittiin hiirissä, joita oli käsitelty 1.- 6. päivänä palmitoyylyguanosiinilla. Valkosolujen lukumäärä tässä ryhmässä oli myös merkittävästi suurempi kuin millään muulla palmitoyylyguanosiinilla käsitellyistä ryhmistä. Neutrofiileistä saadut koetulokset (kuvio 10) heijastivat valkosoluja koskevien tulosten yleisilmettä, ja tämä oli sellainen, että 1. - 6. päivänä suoritettu palmitoyylyguanosiinikäsittely suurensi eniten neutrofiilien kokonaislukumäärää. Hiirten käsittely ainoastaan 1. ja 2. päivänä palmitoyylyguanosiinilla lisäsi merkittävästi neutrofiilien kokonaismäärää joko fysiologisella suolaliuoksella käsiteltyihin kontrolleihin tai Tween 80:lla käsiteltyihin hiiriin verrattuna.

Käsittely Tween 80:lla (tai fysiologisella suolaliuoksella) ei vaikuttanut lymfosyyttien lukumääriin minkään aikavälin kyseessä ollessa. Hiirten käsittely ainoastaan 1. - 2. päivänä tai 1. - 6. päivänä palmitoyyliquanosiinilla (tälläkin kerralla suurin vaikutus) sai aikaan lymfosyyttien lukumäärien kohoamisen (kuvio 11).

Esimerkki 42: Palmitoyyliquanosiini parantaa hematopoieesin palautumista 5-fluoriurasiilikäsittelyn jälkeen

5-fluoriurasiilia (5-FU) (150 mg/kg, i.p.) annettiin neljälle kymmenelle naaraspuolisella Balb/C-hiirille, joista kukin painoi noin 20 g. Kaksikymmentäneljä tuntia myöhemmin ja kunakin päivänä tämän jälkeen yhteensä 8 päivän ajan hiirille annettiin i.p.-injektiona 0,4 ml joko fysiologista suolaliuosta (kontrollit) tai 5'-O-palmitoyyliquanosiinia (2,5  $\mu$ mol/hiiri päivässä 0,2-%:iseen Tween 80:een valmistettuna). 7. ja 14. päivänä 5-FU:n antamisen jälkeen otettiin puolelta kustakin ryhmästä peräisin olevia eläimiä verta, minkä jälkeen ne lopetettiin taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja suoritettiin täydellinen verisolujen lukumäärän laskenta.

Palmitoyyliquanosiinilla käsitellyssä ryhmässä havaittiin 7. päivänä pieni mutta tilastollisesti merkittävä pernan painon nousu (kuvio 12). 7. päivänä ei kontrollieläinten ja käsiteltyjen eläinten välillä havaittu esiintyvän mitään muita eroja. Palmitoyyliquanosiinia saaneilla eläimillä olivat 14. päivänä leukosyyttien, lymfosyyttien, neutrofiilien ja verihiutaleiden kokonaislukumäärät kuitenkin merkittävästi suurempia, minkä lisäksi niiden pernat olivat merkittävästi painavampia (kuviot 13 - 15).

Esimerkki 43: Palmitoyyliquanosiini parantaa hematopoieesin palautumista 5-fluoriurasiilin antamisen jälkeen

5-fluoriurasiilia (5-FU) (150 mg/kg, i.p.) annettiin viidelle kymmenellen neljälle naaraspuolisella Balb/C-hiirille, joista kukin painoi noin 20 g. Kahdenkymmenen tunnin

kuluttua ja kunakin päivänä tämän jälkeen yhteensä 7 päivän ajan hiirille annettiin i.p.-injektiona 0,4 ml joko fysiologista suolaliuosta (kontrollit) tai palmitoyyliyguanosiinia (2,5  $\mu\text{mol}$ /hiiri päivässä 0,2-%:iseen Tween 80:een valmistettuna). 8., 10. ja 12. päivänä 5-FU:n antamisen jälkeen otettiin kustakin ryhmästä peräisin olevalta yhdeksältä eläimeltä verta, minkä jälkeen eläimet lopetettiin taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyyppeiden lukumäärät laskettiin.

10

8. päivänä oli verihiutaleiden lukumäärä palmitoyyliyguanosiinilla käsitellyistä hiiristä peräisin olevissa verinäytteissä merkittävästi suurempi kuin kontrolliryhmässä havaittu lukumäärä (kuvio 16). Ryhmien välillä ei 8. päivänä havaittu esiintyvän mitään muuta tilastollisesti merkittävää eroa. 10. päivänä, sen lisäksi, että käsitellyssä ryhmässä havaittiin verihiutaleiden lukumäärien olevan suuremmat, olivat myös palmitoyyliyguanosiinia saavista hiiristä peräisin olevat pernat merkittävästi suurempia kuin pernat hiirillä, jolle oli annettu ainoastaan fysiologista suolaliuosta (kuvio 17). Käsitellyissä ryhmissä olevien eläinten pernan paino oli 12. päivänä yli kaksinkertainen kontrollihiirissä havaittuun painoon verrattuna ja käsitellyn ryhmän veressä havaittavien neutrofiilien lukumäärä oli 3 kertaa suurempi kuin kontrollinäytteissä (kuviot 17 ja 18). Valkosolujen lukumäärä on myös esitetty (kuvio 19).

15

20

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

Esimerkki 44: Palmitoyylideoksi-inosiini ja palmitoyyliyguanosiini voimistavat hematopoiesia normaaleissa hiirissä  
Normaaleille ja muulla tavoin käsittelemättömille naaraspuolisille Balb/C-hiirille, joiden paino oli noin 20 g, annettiin kullekin yhteensä 4 tai 9 0,4 ml:n suuruista intraperitoneaalista injeksiota (yksi päivää kohti), Tween-80:tä (0,2 %) (kontrolli), palmitoyyliyguanosiinia (2,5  $\mu\text{mol}$ /hiiri päivässä) tai palmitoyylideoksi-inosiinia (2,5  $\mu\text{mol}$ /hiiri päivässä). Kahdenkymmenen neljän tunnin ku-

luttua 4. tai 9. käsittelystä otettiin kustakin kolmesta ryhmästä peräisin olevalta viideltä tai kuudelta eläimeltä verta ja nämä lopetettiin sitten taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyypien lukumäärät laskettiin.

5

Pernojen painot olivat 5. päivänä palmitoyyli-  
guanosiinilla ja palmitoyylideoksi-  
inosiinilla käsitellyillä hiirillä merkittävästi suurempia kuin hiirillä, joita oli käsitelty fysiologisella suolaliuoksella (kuvio 20). Pernojen painot, leukosyyttien kokonaislukumäärät ja neutrofiilien lukumäärät olivat 10. päivänä merkittävästi suurempia palmitoyylideoksi-  
inosiinilla käsitellyillä hiirillä kuin Tween 80-kontrolleilla (kuviot 20 - 22). Leukosyyttien kokonaislukumäärät olivat palmitoyyli-  
guanosiinilla käsitellyillä hiirillä myös merkittävästi kohonneita kontrolleihin verrattuna.

10

15

Esimerkki 45: Oktanoyyli-  
guanosiinin annosvaste hematopoieettisessä palautumisen tehostamisessa syklofosfamidikäsittelyn jälkeen

20

Syklofosfamidia (CP) (275 mg/kg, i.p.) annettiin 45:lle naaraspuoliselle Balb/C-hiirille, jotka kukin painoivat noin 20 g. Kahdenkymmenen neljän tunnin kuluttua ja kunakin päivänä tämän jälkeen yhteensä 6 päivän ajan hiirille annettiin i.p.-injektiona 0,4 ml fysiologista suolaliuosta (kontrollit) tai yhtä kolmesta erilaisesta oktanoyyli-  
guanosiiniannoksesta (0,5, 2,5 tai 5  $\mu$ mol/hiiri päivässä 0,5-%:iseen Tween 80:een valmistettuna). 7. päivänä CP:n antamisesta otettiin kaikilta viidestä ryhmästä peräisin olevalta yhdeksältä eläimeltä verta ja ne lopetettiin tämän jälkeen taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyypien määrät laskettiin.

25

30

35

Kun näitä CP-käsittelyn heikentämiä hiiriä käsiteltiin Tween 80:lla, niin pernan keskimääräinen paino lisääntyi jonkin verran mutta kullakin tutkitulla konsentraatiolla suoritettu

oktanoyyliquanososiinikäsittely sai aikaan merkittävästi suuremmat pernat kuin kontrolleissa ja jotka olivat suurempia kuin Tween 80:lla käsitellyissä hiirissä (kuvio 23). Hiirillä, joita oli käsitelty suurimmalla oktanoyyliquanososiiniannoksella (10  $\mu\text{mol}$ ), olivat pernat suurimmat (tuloksia ei ole esitetty). Sitäkin tärkeämpää on panna merkille, että leukosyyttien kokonaislukumäärä ja neutrofiilien kokonaislukumäärä suurenivat merkittävästi yli kontrolliarvojen annoksesta riippuvaisella tavalla (kuviot 24 ja 25). Hematopoieesin palautumisen nopeuttamisen kyseessä ollessa oli keskimäinen oktanoyyliquanososiiniannos (2,5  $\mu\text{mol}$ ) kuitenkin lähes yhtä tehokas kuin suurin annos.

Esimerkki 46: Syklofosfamidin jälkeen oktanoyyliquanososiinilla käsitellyistä hiiristä peräisin olevien pernojen histologinen tarkastelu.

Syklofosfamidia (CP) (275 mg/kg, i.p.) annettiin 30:lle naaraspuoliselle Balb/C-hiirille, jotka kukin painoivat noin 20 g. Kahdenkymmenenneljän tunnin kuluttua ja kunakin päivänä tämän jälkeen yhteensä 6 päivän ajan hiirille annettiin i.p.-injektiona 0,4 ml fysiologista suolaliuosta (kontrollit), Tween 80:tä (0,5 %) tai oktanoyyliquanososiinia (5  $\mu\text{mol}$ /hiiri päivässä 0,5-%:iseen Tween 80:een valmistettuna). 7. päivänä CP:n antamisesta kustakin ryhmästä peräisin olevilta 10 eläimeltä otettiin verta ja ne lopetettiin tämän jälkeen taittamalla niskasta. Pernet poistettiin, punnittiin ja kiinnitettiin 10-%:iseen formaliiniin niiden myöhemmin suoritettavaa histologista tarkastelua varten. Talteen otetusta verestä laskettiin kaikkien verisolutyyppeiden lukumäärät.

Pelkällä Tween 80:lla suoritettuna käsitellyn tuloksena oli hiirten pernojen painon lisääntyminen vaatimatonta luokkaa fysiologisella suolaliuoksella käsiteltyihin kontrolleihin verrattuna. Oktanoyyliquanososiinikäsittelyn tuottamat pernojen painot olivat merkittävästi suuremmat kuin joko fysiologisella suolaliuoksella käsitellyissä kontrolleissa tai

Tween-80:lla käsitellyissä hiirissä (kuvio 26). Kun pernoja tutkittiin histologisesti, tästä kävi ilmi, että kudokset olivat histologisesti normaaleja kaikissa käsittelyryhmissä ja oktanoyyliguanosiinilla käsiteltyjen hiirien pernoissa esiintyi paljon voimakkaampaa lymfopoieesia (valkoisen ytimen määrän lisääntyminen) ja myelopoieesia (punaisen ytimen määrän lisääntyminen) verrattuna fysiologisella suolaliuoksella käsiteltyihin kontrolleihin ja hiiriin, joita oli käsitelty Tween 80:lla (kuvio 27). Nämä havainnot osoittavat, että CP-käsittelyn heikentämien hiirien käsittely oktanoyyliguanosiinilla kiihdyttää sekä myelopoieesia että lymfopoieesia ainakin pernan tasolla.

Hiirten käsittely oktanoyyliguanosiinilla sai myös selvästi aikaan sen, että perifeeraalisen veren valkosolujen (WBC) ja neutrofiilien lukumäärät olivat merkittävästi suuremmat kuin mitä havaittiin joko kontrollissa tai Tween 80:lla käsitellyissä hiirissä (kuviot 28 ja 29, mainitussa järjestyksessä ilmoitettuna).

Esimerkki 47: Bentsoyyliguanosiini tehostaa hematopoieesin palautumista syklofosfamidin jälkeen

Syklofosfamidia (CP) (275 mg/kg, i.p.) annettiin 48:lle naaraspuoliselle Balb/C-hiirille, jotka kukin painoivat noin 20 g. Kahdenkymmenenneljän tunnin kuluttua ja kunakin päivänä tämän jälkeen yhteensä 6 päivän ajan hiirille annettiin i.p.-injektiona 0,4 ml fysiologista suolaliuosta (kontrollit), bentsoyyliguanosiinia (2,5  $\mu\text{mol}$ /hiiri päivässä 0,2-%:iseen Tween 80:een valmistettuna) tai palmi-toyyliguanosiinia (2,5  $\mu\text{mol}$ /hiiri päivässä) päivässä 0,2-%:iseen Tween 80:een valmistettuna). 7. ja 10. päivänä CP:n antamisesta otettiin kaikilta kolmesta ryhmästä peräisin olevalta kahdeksalta eläimeltä verta ja eläimet lopetettiin tämän jälkeen taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyyppien lukumäärät laskettiin.

7. päivänä olivat valkosolujen kokonaislukumäärä, neutrofiilien kokonaislukumäärä ja pernan paino merkittävästi kontrolleja suurempia sekä bentsoyylyguanosiinilla käsitellyissä että palmitoyylyguanosiinilla käsitellyissä hiirissä (kuviot 30 - 32, mainitussa järjestyksessä ilmoitettuna). Näiden kahden käsittelyryhmän välillä olevat erot eivät olleet tilastollisesti merkittäviä. 10. päivänä oli verihiutaleiden lukumäärä kummassakin asyloidulla guanosiinilla käsitellyssä ryhmässä merkittävästi suurempi kuin kontrolliryhmässä (kuvio 33).

Esimerkki 48: Palmitoyylyksantosiini ja palmitoyylydeoksiinosiini edistävät hematopoieesin palautumista syklofosfamidin jälkeen

Syklofosfamidia (CP) (275 mg/kg, i.p.) annettiin 36:lle naaraspuoliselle Balb/C-hiirille, jotka kukin painoivat noin 20 g. Kahdenkymmenenneljän tunnin kuluttua ja kunakin päivänä tämän jälkeen yhteensä 4 tai 6 päivän ajan hiirille annettiin i.p.-injektiona 0,4 ml fysiologista suolaliuosta (kontrollit), palmitoyylydeoksiinosiinia (2,5  $\mu\text{mol}$ /hiiri) tai palmitoyylyksantosiinia (2,5  $\mu\text{mol}$ /hiiri). 5. ja 7. päivänä CP:n antamisesta otettiin kuudelta eläimeltä kussakin kolmessa ryhmässä olevien 12 eläimen joukosta verta ja eläimet lopetettiin tämän jälkeen taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyyppeiden lukumäärät laskettiin.

Pernan paino, leukosyyttien kokonaislukumäärät ja neutrofiilien kokonaislukumäärä olivat 5. päivänä kohonneet merkittävästi palmitoyylydeoksiinosiinilla käsitellyssä ryhmässä kontrolleihin verrattuna (kuviot 34, 35 ja 36, mainitussa järjestyksessä ilmoitettuna). Leukosyyttien kokonaislukumäärä ja neutrofiilien kokonaislukumäärä olivat myös tällä ajankohdalla merkittävästi korkeammalla kuin vastaavat arvot palmitoyylyksantosiinilla käsitellyissä hiirissä.

7. päivänä CP:n antamisesta olivat pernan paino, leukosyyttien kokonaislukumäärä ja neutrofiilien lukumäärä merkittävästi suurempia kuin kontrolleissa ja sekä palmitoyylik-santosiinilla käsitellyissä että palmitoyylideoksi-ino-siinilla käsitellyissä ryhmissä (kuviot 34, 35 ja 36).

Esimerkki 49: Palmitoyyli-inosiini parantaa hematopoieesin palautumista syklofosfamidin jälkeen

Syklofosfamidia (CP) (275 mg/kg, i.p.) annettiin 48:lle naaraspuoliselle Balb/C-hiirille, jotka kukin painoivat noin 20 g. Kahdenkymmenenneljän tunnin kuluttua ja kunakin päivänä tämän jälkeen yhteensä 6 päivän ajan hiirille annettiin i.p.-injektiona 0,4 ml fysiologista suolaliuosta (kontrollit), oktanoyyliguanosiinia (2,5  $\mu\text{mol}$ /hiiri), lau-royyliguanosiinia (2,5  $\mu\text{mol}$ /hiiri), palmitoyyliguanosiinia (2,5  $\mu\text{mol}$ /hiiri), palmitoyyli-inosiinia (2,5  $\mu\text{mol}$ /hiiri) tai palmitoyylik-santosiinia (2,5  $\mu\text{mol}$ /hiiri). 7. päivänä CP:n antamisesta otettiin kussakin kuudessa ryhmässä olevilta kahdeksalta eläimeltä verta ja eläimet lopetettiin tämän jälkeen taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyyppeiden lukumäärät lasket-tiin.

Pernan paino, leukosyyttien kokonaislukumäärä ja neutrofiilien kokonaislukumäärä olivat kohonneet merkittävästi kussakin viidestä käsittelyryhmästä kontrolleihin verrattuna (kuviot 37, 38 ja 39, mainitussa järjestyksessä ilmoitettuna). Tällä ajankohdalla ei viittä käsittelyryhmää ver-rattaessa havaittu mitään tilastollisesti merkittäviä eroja.

Esimerkki 50: Oksipuriininukleosidien kanssa samaan ryhmään kuuluvien yhdisteiden asyylijohdannaiset tehostavat hemato-poieesin palautumista syklofosfamidin jälkeen

Syklofosfamidia (CP) (275 mg/kg, i.p.) annettiin 96:lle naaraspuoliselle Balb/C-hiirille, jotka kukin painoivat noin 20 g. Kahdenkymmenenneljän tunnin kuluttua ja kunakin päivänä tämän jälkeen yhteensä 6 päivän ajan hiirille an-

nettiin i.p.-injektiona 0,4 ml Tween 80:tä (0,2 %) (kontrollit), palmitoyylideoksiguanosiinia (2  $\mu\text{mol}$ /hiiri), palmitoyylideoksi-inosiinia (2  $\mu\text{mol}$ /hiiri), palmitoyyliasykloviiria (2  $\mu\text{mol}$ /hiiri), palmitoyyliarabinosyyli-  
 5 guanosiniä (2  $\mu\text{mol}$ /hiiri), palmitoyyliarabinosyylihypoksantiinia (2  $\mu\text{mol}$ /hiiri), monopalmitoyyli-  
 guanosinin asyklistä 2',3'-dialkoholia (2  $\mu\text{mol}$ /hiiri) ja palmitoyyli-8-tioguanosiinia (2  $\mu\text{mol}$ /hiiri). 5. ja 7. päivänä CP:n antamisesta otettiin  
 10 kussakin kahdeksassa ryhmässä olevilta kuudelta eläimeltä verta ja eläimet lopetettiin tämän jälkeen taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyyppien lukumäärät laskettiin.

Kaikissa tähän esimerkkiin liittyvissä kuvioissa (40 - 42)  
 15 käytetään seuraavia lyhenteitä:

Tw = Tween-80

ACV = palmitoyyliasykloviiri

AHx = palmitoyyliarabinosyylihypoksantiini

20 8TG = palmitoyyli-S-tioguanosiini

PdG = palmitoyylideoksiguanosiini

AG = palmitoyyliarabinosyyli-  
 guaniini

dI = palmitoyylideoksi-inosiini

ACG = monopalmitoyyli-  
 25 guanosinin asyklinen 2',3'-dialkoholi

Neutrofiilien kokonaislukumäärät olivat 5. ja 7. päivinä merkittävästi suurempia kontrolleihin verrattuna kaikissa kahdeksassa käsittelyryhmässä (kuvio 40).

30 Valkosolujen lukumäärä oli merkittävästi kontrolleja suurempi kaikissa paitsi yhdessä käsittelyryhmässä (1-0-palmitoyyliasykloviiri) 5. päivänä ja kaikissa kahdeksassa ryhmässä 7. päivänä (kuvio 41).

35 Pernan paino oli 5. päivänä merkittävästi korkeampi kuin kontrolleissa seuraavissa ryhmissä: monopalmitoyyli-  
 guanosinin asyklinen 2',3'-dialkoholi, palmitoyylideoksi-ino-

siini ja palmitoyyli-*guanosini*. Se oli kohonnut merkittävästi 7. päivänä kaikissa käsittelyryhmissä lukuunottamatta palmitoyyliarabinosyyli-*guanosini* ja palmitoyyliarabinosyylihypoksantiinia (kuvio 42).

5

Esimerkki 51: Deoksiguanosiinin asyylijohdannaiset teho-  
tavat hematopoieesin palautumista syklofosfamidin jälkeen

Syklofosfamidia (CP) (275 mg/kg, i.p.) annettiin 88:lle naaraspuoliselle Balb/C-hiirille, jotka kukin painoivat noin 20 g. Kahdenkymmenen neljän tunnin kuluttua ja kunakin päivänä tämän jälkeen ajan hiirille annettiin i.p.-injektiona 0,4 ml Tween 80:tä (0,2 %) (kontrollit), 3'-O-palmitoyylideoksiguanosiinia (2  $\mu\text{mol}$ /hiiri), butyryylideoksiguanosiinia (2  $\mu\text{mol}$ /hiiri), palmitoyyli-N-isobutyryylideoksiguanosiinia (2  $\mu\text{mol}$ /hiiri), lauryylideoksiguanosiinia (2  $\mu\text{mol}$ /hiiri) ja oktanoyylideoksiguanosiinia (2  $\mu\text{mol}$ /hiiri) ja palmitoyylideoksiguanosiinia (2  $\mu\text{mol}$ /hiiri). 5. ja 7. päivänä CP:n antamisesta otettiin kussakin seitsemässä ryhmässä olevilta kuudelta tai seitsemältä eläimeltä verta ja eläimet lopetettiin tämän jälkeen taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyyppeiden lukumäärät laskettiin.

Pernan paino ja neutrofiilien kokonaislukumäärät olivat 5. päivänä koonneet kontrolleihin verrattuna merkittävästi käsittelyryhmissä, jotka olivat 3'-O-palmitoyylideoksiguanosiini, palmitoyyli-N-isobutyryylideoksiguanosiini ja palmitoyylideoksiguanosiini (kuviot 43 ja 44). Pernan paino ja neutrofiilien kokonaislukumäärät olivat 7. päivänä koonneet kaikissa käsittelyryhmissä merkittävästi kontrolleihin verrattuna.

Valkosolujen lukumäärät olivat koonneet 5. päivänä palmitoyylideoksiguanosiiniryhmissä merkittävästi. Valkosolujen lukumäärät olivat 7. päivänä koonneet merkittävästi kaikissa käsittelyryhmissä kontrolleihin verrattuna (kuvio 45).

Esimerkki 52: Palmitoyylideoksiguanosiinin annosvaste-  
ominaisuudet hematopoieesin tehostamisessa syklofosfamidin  
jälkeen

5 Syklofosfamidia (CP) (275 mg/kg, i.p.) annettiin 85:lle  
naaraspuoliselle Balb/C-hiirille, jotka kukin painoivat noin  
20 g. Kahdenkymmenenneljän tunnin kuluttua ja kunakin  
päivänä tämän jälkeen hiirille annettiin i.p.-injektiona  
0,4 ml fysiologista suolaliuosta (kontrollit), palmitoyyli-  
deoksiguanosiinia yhtenä neljästä eri annoksesta: 0,2, 0,4,  
10 1,0 tai 2,0  $\mu\text{mol}$ /hiiri). 5. ja 7. päivänä CP:n antamisesta  
otettiin kussakin viidessä ryhmässä olevilta yhdeksältä ja  
kahdeksalta eläimeltä, mainitussa järjestyksessä ilmoitet-  
tuna, verta ja eläimet lopetettiin tämän jälkeen taittamalla  
niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien  
15 verisolutyyppeiden lukumäärät laskettiin.

Pernan paino, valkosolujen lukumäärät ja neutrofiilien  
kokonaislukumäärät olivat 5. päivänä ja 7. päivän kohonneet  
kontrolleihin verrattuna merkittävästi kaikissa neljästä  
20 käsittelyryhmästä lukuun ottamatta 5. päivän tulosta palmi-  
toyylideoksiguanosiinin pienimmällä annoksella (0,2) (kuviot  
46, 47 ja 48). Havaittiin selvä annosvaste ja pernojen paino  
ja solujen lukumäärät kohosivat annosten suurenemisen myötä.

25 Esimerkki 53: Niiden palmitoyylideoksiguanosiinin ja palmi-  
toyyliguanosiinin annos-vaste-ominaisuuksien vertailu, jotka  
koskevat hematopoieesin palautumisen tehostamista  
syklofosfamidikäsittelyn jälkeen

30 Syklofosfamidia (CP) (275 mg/kg, i.p.) annettiin 96:lle  
naaraspuoliselle Balb/C-hiirille, jotka kukin painoivat noin  
20 g. Kahdenkymmenenneljän tunnin kuluttua ja kunakin  
päivänä tämän jälkeen hiirille annettiin i.p.-injektiona  
0,4 ml fysiologista suolaliuosta (kontrollit), palmitoyyli-  
guanosiinia yhtenä neljästä eri annoksesta: 0,2, 0,4, 1,0  
35 tai 2,0  $\mu\text{mol}$ /hiiri) ja palmitoyylideoksiguanosiinia annokse-  
na 1,0  $\mu\text{mol}$ /hiiri. 5. ja 7. päivänä CP:n antamisesta  
otettiin kustakin kuudesta ryhmästä peräisin olevilta kah-

deksalta eläimeltä verta ja eläimet lopetettiin tämän jälkeen taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyyppeiden lukumäärät laskettiin.

5 Pernan paino, valkosolujen lukumäärät ja neutrofiilien kokonaislukumäärät olivat 5. päivänä merkittävästi suuremmat kuin kontrolleilla palmitoyylyguanosiinin suurimmalla  
 10 tutkitulla annoksella (2,0  $\mu\text{mol}$ /hiiri) ja palmitoyylideoksiguanosiiniryhmässä (kuviot 49, 50 ja 51). Palmitoyylyguanosiini nosti myös 5. päivänä merkittävästi neutrofiilien kokonaismäärää annoksella 1,0  $\mu\text{mol}$ /hiiri. Pernan paino, leukosyyttien kokonaislukumäärä ja neutrofiilien kokonaislukumäärä olivat 7. päivänä kohonneet merkittävästi kontrolleihin verrattuna ryhmissä, joille annettiin 1,0 ja  
 15 2,0  $\mu\text{mol}$ /hiiri palmitoyylyguanosiinia ja palmitoyylideoksiguanosiinia. Havaittiin selvä annosvastepyrkimys ja palmitoyylyguanosiiniannosten suurentaminen sai aikaan pernojen painon ja solujen lukumäärien lisääntymisen. Palmitoyylideoksiguanosiini näytti kohottavan näitä muuttujien arvoja  
 20 voimakkaammin kuin sama tai jopa kaksi kertaa suurempi palmitoyylyguanosiiniannos.

Esimerkki 54: Palmitoyylideoksiguanosiinin annosvaste-  
 ominaisuudet hematopoieesin tehostamisessa syklofosfamidin  
 jälkeen

25 Syklofosfamidia (CP) (275 mg/kg, i.p.) annettiin 112:lle naaraspuoliselle Balb/C-hiirille, jotka kukin painoivat noin 20 g. Kahdenkymmenenneljän tunnin kuluttua ja kunakin päivänä tämän jälkeen hiirille annettiin i.p.-injektiona  
 30 0,4 ml joko fysiologista suolaliuosta (kontrollit) tai palmitoyylideoksiguanosiinia yhtenä kuudesta eri annoksesta: 0,04, 0,08, 0,2, 0,4, 0,6 tai 0,8  $\mu\text{mol}$ /hiiri). 5. ja 7. päivänä CP:n antamisesta otettiin kussakin seitsemässä ryhmässä olevilta kahdeksalta eläimeltä verta ja eläimet  
 35 lopetettiin tämän jälkeen taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyyppeiden lukumäärät laskettiin.

Pernan paino oli 5. päivänä kohonnut kontrolleihin verrattuna merkittävästi kaikissa niistä palmitoyylideoksiguanosiiniryhmistä, joille annetut annokset olivat 0,2  $\mu\text{mol}$ /hiiri tai tätä suurempia, ja 7. päivänä kaikissa näistä ryhmistä lukuun ottamatta niitä, joille annettu annos oli vain 0,04  $\mu\text{mol}$ /hiiri (kuvio 52).

Valkosolujen lukumäärät olivat 5. päivänä kohonneet kontrolleihin verrattuna merkittävästi kaikissa niistä palmitoyylideoksiguanosiiniryhmistä, joille annetut annokset olivat 0,4  $\mu\text{mol}$ /hiiri tai tätä suurempia (kuvio 53). 7. päivänä havaittiin kaikilla annoksilla tilastollisesti merkittäviä eroja.

Neutrofiilien kokonaislukumäärät olivat sekä 5. että 7. päivänä kohonneet kontrolleihin verrattuna merkittävästi kaikilla tutkitulla kuudella annoksella (kuvio 54).

Havaittiin selvä annosvastepyrkimys ja annosten suurentaminen sai aikaan pernojen painon ja solujen lukumäärien lisääntymisen.

Esimerkki 55: Palmitoyylideoksiguanosiini tehostaa neutrofiilien, verihiutaleiden ja lymfosyyttien lukumäärien palautumista rotilla syklofosfamidin jälkeen

Syklofosfamidia (CP) (40 mg/kg, i.p.) annettiin 16:lle naaraspuoliselle F344-rotalle, jotka kukin painoivat noin 200 g. Kahdenkymmenenneljän tunnin kuluttua ja kunakin päivänä tämän jälkeen rotille annettiin i.p.-injektiona 0,5 ml joko fysiologista suolaliuosta (kontrollit) tai palmitoyylideoksiguanosiinia annoksena 10  $\mu\text{mol}$ /rotta. 5., 7. ja 10. päivänä CP:n antamisesta otettiin molemmista ryhmistä peräisin olevilta kaikilta kahdeksalta eläimeltä verta ja kaikkien verisolutyyppeiden lukumäärät laskettiin. Kaikki rotat lopetettiin 10. päivänä ja niiden pernat poistettiin ja punnittiin.

Valkosolujen lukumäärät ja neutrofiilien kokonaislukumäärät olivat kaikkina kolmena ajankohtana merkittävästi suuremmat palmitoyylideoksiguanosiinilla käsitellyissä rotissa verrattuna fysiologisella suolaliuoksella käsiteltyihin rottiin (kuviot 55 ja 56). Verihiutaleiden ja lymfosyyttien määrät olivat 10. päivänä kohonneet merkittävästi palmitoyylideoksiguanosiinilla käsitellyssä ryhmässä (kuviot 57 ja 58). Käsiteltyjen rottien pernojen paino oli merkittävästi suurempi kuin kontrolleilla.

10

Nämä rotilla saadut tulokset varmistavat ja laajentavat niitä edellä mainittuja hiirillä tehtyjä havaintoja, että puriininukleosidien asyloidut johdannaiset edistävät silmiinpistävästi kemiallisesti syntyneen vaurion jälkeen tapahtuvaa hematopoieettisen toiminnan palautumista ennalleen. Erityisen huomattavaa tässä kokeessa on se, että leukosyyttien lukumäärä palmitoyylideoksiguanosiinikäsitelyn lopettamisen jälkeen pysyy korkealla.

20

Esimerkki 56: Oksipuriininukleosidien kanssa samaan ryhmään kuuluvien yhdisteiden asyyljohdannaiset tehostavat hematopoiesia normaaleissa hiirissä

Normaaleille naaraspuolisille Balb/C-hiirille, jotka kukin painoivat noin 20 g, annettiin päivittäin i.p.-injektiona 4 päivän ajan 0,4 ml joko fysiologista suolaliuosta (kontrollit), palmitoyyliguanosiinia (2,6  $\mu\text{mol}$ /hiiri), palmitoyylideoksiguanosiinia (2,6  $\mu\text{mol}$ /hiiri), monopalmitoyyliguanosiinin asyklistä 2',3'-dialkoholia (2,6  $\mu\text{mol}$ /hiiri) ja palmitoyyli-8-bromiguanosiinia (2,6  $\mu\text{mol}$ /hiiri). Viidentenä päivänä kaikilta kolmelta eläimeltä kussakin viidestä käsittelyryhmästä otettiin verta ja eläimet lopetettiin tämän jälkeen taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyyppeiden lukumäärät laskettiin. Kustakin hiirestä otettiin talteen reisiluun ydintä ja ytimen sivelyvalmisteista suoritettiin soluerottelulaskenta.

35

Kussakin tähän esimerkkiin liittyvistä kuvioista (59 - 61) on käytetty seuraavia lyhenteitä:

P8BG = palmitoyyli-8-bromiguanosiini

5 PG-Cl = monopalmitoyyliguanosiinin asyklinen 2',3'-alkoholi

PG = palmitoyyliguanosiini

PdG = Palmitoyylideoksiguanosiini

10 Pernan paino oli kohonnut merkittävästi kontrolleihin verrattuna seuraavissa ryhmissä palmitoyyliguanosiinin asyklinen 2',3'-dialkoholi, palmitoyylideoksiguanosiini ja palmitoyyliguanosiini (kuvio 59).

15 Verihiutaleiden lukumäärät olivat merkittävästi kohonneet kaikissa käsittelyryhmissä, lukuun ottamatta palmitoyyliguanosiinin asyklistä 2',3'-dialkoholia (kuvio 60).

20 Myelosyyttien (neutrofiilien pakolliset esimuodot) lukumäärä oli myös merkittävästi kontrolleja suurempi monopalmitoyyliguanosiinin asyklistä 2',3'-dialkoholia koskevassa ryhmässä, palmitoyylideoksiguanosiiniryhmässä ja palmitoyyli-8-bromiguanosiiniryhmässä (kuvio 61).

25 Nämä tulokset osoittavat useiden mainituista yhdisteistä olevan tehokkaita modifioimaan positiivisesti hematopoiesia normaaleissa eläimissä. Todisteet osoittavat selvästi, että nämä yhdisteet ovat tehokkaita luuytimen tasolla.

Esimerkki 57: Hiirten esikäsitteily palmitoyylideoksiguanosiinilla parantaa hematopoieettisen toiminnan palautumista ennalleen fluoriurasiilikäsittelystä

Kahdellekymmenellekahdeksalle naaraspuoliselle Balb/C-hiirille, jotka kukin painoivat noin 20 g, annettiin päivittäin kolmen päivän ajan i.p.-injektiona 0,4 ml joko fysiologista suolaliuosta (kontrollit) tai palmitoyylideoksiguanosiinia (1  $\mu$ mol/hiiri). Neljäntenä päivänä kaikille 28 eläimelle annettiin 5-fluoriurasiilia (150 mg/kg, i.p.). 5., 8. ja 11. päivänä 5-FU:n antamisesta otettiin verta kustakin ryhmästä peräisin olevasta neljästä (5. päivä) tai viidestä (8. ja 11. päivä) eläimestä, minkä jälkeen nämä lopetettiin taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyypin lukumäärät laskettiin.

5. päivänä olivat verihiutaleiden lukumäärät merkittävästi korkeampia käsitellyssä ryhmässä kuin kontrolliryhmässä. 8. päivänä olivat pernan paino, verihiutaleiden lukumäärät ja neutrofiilien kokonaislukumäärät merkittävästi suurempia palmitoyylideoksiguanosiinilla esikäsitellyssä ryhmässä. 11. päivänä oli palmitoyyliguanosiinilla esikäsiteltyjen eläinten pernojen painot, valkosolujen kokonaismäärät, verihiutaleiden määrät, neutrofiilien kokonaismäärät ja lymfosyyttien määrät merkittävästi korkeampia kuin fysiologista suolaliuosta saaneilla kontrolleilla (kuviot 62, 63, 64 ja 65).

Nämä tulokset osoittavat, että eläimen esikäsitteily palmitoyylideoksiguanosiinilla lievittää silmiinpistävästi 5-FU:n vaikutuksia immuunijärjestelmään ja verisolujen lukumääriin.

Esimerkki 58: Tween 80 tehostaa hematopoieesin palautumista syklofosfamidin jälkeen ja voimistaa oktanoyylyguanosiinin vaikutusta

5 Syklofosfamidia (CP) (275 mg/kg, i.p.) annettiin 45 naaras-  
 puolisolulle Balb/C-hiirelle, joista kukin painoi noin  
 20 grammaa. Kahdenkymmenen neljän tunnin kuluttua ja yhteensä  
 6 päivän ajan tämän jälkeen hiiret jaettiin seitsemään  
 ryhmään ja niille annettiin i.p.-injektiona 0,4 ml fysiolo-  
 10 gista suolaliuosta (kontrollit), Tween 80:tä kunakin kol-  
 mesta konsentraatiosta (0,02 %, 0,2 % ja 1 %) tai okta-  
 noyylyguanosiinia (50 mg/kg/hiiri) valmistettuna kolmeen eri  
 Tween 80 -konsentraatioon (0,02 %, 0,2 % ja 1 %). 7. päivänä  
 CP:n antamisesta otettiin kaikilta kustakin viidestä  
 15 ryhmästä peräisin olevalta 9 eläimeltä verta, minkä jälkeen  
 nämä lopetettiin taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja  
 punnittiin ja kaikkien verisolutyyppeiden lukumäärät  
 laskettiin.

20 Neutrofiilien lukumäärät olivat seitsemän päivää syklo-  
 fosfamidin antamisesta kohonneet kaikissa käsittelyryhmistä  
 verrattuna hiiriin, joille annettiin syklofosfamidin jälkeen  
 pelkästään fysiologista suolaliuosta, ja nämä poikkesivat  
 merkittävästi kontroleista niillä hiirillä, joita oli  
 käsitelty pelkällä 1,0-%:isella Tween'illä ja 0,02-%:iseen  
 25 ja 0,2-%:iseen Tween 80:een valmistetulla oktanoyylygano-  
 siinilla (kuvio 66). Neutrofiilien lukumäärät eläimissä,  
 joille annettiin 50 mg/kg oktanoyylyguanosiinia, joka oli  
 valmistettu 0,2-%:iseen Tween 80:een, olivat merkittävästi  
 suuremmat kuin eläimissä, joille annettiin sama oktanoyyli-  
 30 guanosiiniannos 0,02-%:iseen Tween 80:een valmistettuna.

Useat erilaiset muut ionittumattomat pinta-aktiiviset ai-  
 neet, mukaan lukien Tween 20, Tween 40, Nonidet P-40, Brij  
 96 ja Triton X-100, tehostivat myös verisolujen lukumäärien  
 35 palautumista ennalleen syklofosfamidilla käsitellyissä  
 hiirissä.

Esimerkki 59: Palmitoyyli-8-aminoguanosiini tehostaa hemato-  
poieesin palautumista syklofosfamidin jälkeen

Syklofosfamidia (CP) (275 mg/kg, i.p.) annettiin 28 naaras-  
 puoliselle Balb/C-hiirelle, joista kukin painoi noin  
 5 20 grammaa. Kahdenkymmenenneljän tunnin kuluttua ja kunakin  
 päivänä 4 päivän ajan tämän jälkeen hiirille annettiin  
 i.p.-injektiona 0,4 ml fysiologista suolaliuosta (kontrol-  
 lit) tai palmitoyyli-8-aminoguanosiinia (25 mg/kg päivässä  
 0,2-%:iseen Tween 80:een valmistettuna). 5. ja 7. päivänä  
 10 CP:n antamisesta otettiin kummastakin kahdesta ryhmästä  
 peräisin olevalta 7 eläimeltä verta, minkä jälkeen nämä  
 lopetettiin taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja  
 punnittiin ja kaikkien verisolutyyppeiden lukumäärät lasket-  
 tiin.

15

Neutrofiilien lukumäärä ja pernan paino olivat 5. ja 7.  
 päivänä merkittävästi kontrolleja suuremmat hiirillä, joita  
 oli käsitelty palmitoyyli-8-aminoguanosiinilla (kuviot 67 -  
 68, vastaavassa järjestyksessä ilmoitettuna).

20

Esimerkki 60: N<sup>2</sup>-palmitoyyliquaniini edistää pernan, veri-  
hiutaleiden ja leukosyyttien palautumista ennalleen ennen 5-  
fluoriurasiilia annettuna

Kahdelletoista naaraspuoliselle Balb/C-hiirelle, joiden  
 25 paino oli noin 20 g, annettiin kullekin i.p.-injektiona  
 kerran päivässä 3 päivän ajan 0,4 ml joko N-palmitoyyli-  
 guaniinia (25 mg/kg käsittelyä kohti) valmistettuna Tween-  
 DMSO-kantaja-aineeseen (0,2 % Tween 80:tä ja 7,5 % DMSO:ta  
 fysiologisessa suolaliuoksessa) tai pelkkää kantaja-ainetta.  
 30 Neljäntenä päivänä kaikille 12 eläimelle annettiin 5-  
 fluoriurasiiliä (5-FU; 150 mg/kg i.p.). 7. päivänä 5-FU:n  
 antamisesta otettiin kaikilta 12 eläimeltä verta, minkä  
 jälkeen ne lopetettiin taittamalla niskasta. Kuudesta kä-  
 sittelemättömästä hiirestä otettiin myös verta ja ne lope-  
 tettiin normaaliarvojen (perustason arvojen) saamiseksi.  
 35 Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolu-  
 tyyppien määrät laskettiin.

Pernan paino, valkosolujen lukumäärät, verihiutaleiden lukumäärät ja lymfosyyttien lukumäärät olivat kukin merkittävästi suurempia N-palmitoyylyguaniinilla esikäsitellyissä eläimissä kuin pelkällä kantaja-aineella esikäsitellyissä eläimissä (kontrollit) (taulukko 3).

Taulukko 3. N<sup>2</sup>-palmitoyylyguaniinin vaikutus verisolujen lukumääriin 7 päivää 5-FU:n jälkeen

	Perna	WBC	Lymfosyytit	Verihiutaleet
Perustaso	96 ± 4 mg	6,1 ± 0,2	4,4 ± 0,4	834 ± 45
5FU (kontrolli)	64 ± 3	2,8 ± 0,3	2,8 ± 0,3	407 ± 52
5FU + NPG	79 ± 3*	4,6 ± 0,5*	4,5 ± 0,5*	787 ± 72*

Kaikki verisolujen lukumäärän yksiköt ovat K/μl

\* = suurempi kuin kontrolli (pelkkä 5FU) P < 0,01

Esimerkki 61: N<sup>2</sup>-palmitoyylyguaniini edistää pernan ja lymfosyyttien palautumista ennalleen syklofosfamidin jälkeen annettuna

Kahdelletoista naaraspuoliselle Balb/C-hiirelle, jotka kukin painoivat noin 20 g, annettiin kullekin ensin yksi injektio syklofosfamidia (CP) (250 mg/kg, i.p.), minkä jälkeen niille annettiin i.p.-injektiona kerran päivässä viiden päivän ajan 0,4 ml joko N-palmitoyylyguaniinia (25 mg/kg käsittelyä kohti) valmistettuna Tween-DMSO-kantaja-aineeseen (0,2 % Tween 80:tä ja 7,5 % DMSO:ta fysiologisessa suolaliuoksessa) tai pelkkää kantaja-ainetta. 7. päivänä CP:n antamisesta otettiin kaikilta 12 eläimeltä verta, minkä jälkeen ne lopetettiin taivuttamalla niskasta. Kuudesta käsittelemättömästä hiirestä otettiin myös verta ja ne lopetettiin normaaliarvojen (perustason arvojen) saamiseksi. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyypin määrät laskettiin.

Pernan paino, valkosolujen lukumäärät ja neutrofiilien lukumäärät olivat kukin merkittävästi suurempia niissä eläi-

missä, joita oli käsitelty N-palmitoyylyguaniinilla, kuin hiirissä jotka oli käsitelty pelkällä kantaja-aineella (kontrollit). Tulokset on esitetty taulukossa 4. Myös verihiutaleiden määrät N-palmitoyylyguaniinilla käsitellyissä hiirissä olivat kontrollieläimissä havaittuja määriä suuremmat mutta tilastollinen merkittävyys jäi saavuttamatta suurimmaksi osaksi kontrolliryhmässä esiintyneen vaihtelevuuden johdosta.

10 Taulukko 4. N<sup>2</sup>-palmitoyylyguaniinin vaikutus verisolujen lukumääriin seitsemän päivää syklofosfamidin jälkeen

	Perna	WBC	Neutrofiilit	Verihiutaleet
Perustaso	96 ± 4 mg	6,1 ± 0,2	1,4 ± 0,1	834 ± 45
CP (kontrolli)	50 ± 7	2,9 ± 0,6	1,4 ± 0,3	650 ± 100
15 CP + NPG	145 ± 13*	7,3 ± 6*	5,5 ± 0,5*	774 ± 734

Kaikki verisolujen lukumäärän yksiköt ovat K/μl

\* = suurempi kuin kontrolli (pelkkä CP) P < 0,01

20 Esimerkki 62: Tripalmitoyyli- ja dipalmitoyylideoksiguanosiini edistävät hematopoieesin palautumista syklofosfamidin jälkeen annettuna

Kolmellekymmenellekuudelle naaraspuoliselle Balb/C-hiirelle annettiin ensin yksi injektio syklofosfamidia (CP) (250 mg/kg, i.p.), minkä jälkeen niille annettiin i.p.-injektiona kerran päivässä viiden päivän ajan 0,4 ml 3',5'-O-N<sup>2</sup>-tripalmitoyyli-2'-deoksiguanosiinia (triPdG) käyttäen annoksena 25 mg/kg käsittelyä kohti tai 3',5'-O-dipalmitoyyli-2'-deoksiguanosiinia (diPdG) käyttäen annosta, joka vastasi mooliekvivalenttimäärältään 25 mg/kg tripalmitoyylideoksiguanosiinia, valmistettuna Tween-DMSO-kantaja-aineeseen (0,2 % Tween-80:tä ja 7,5 % DMSO:ta fysiologisessa suolaliuoksessa) tai pelkkää kantaja-ainetta. 5. ja 7. päivänä CP:n antamisesta kustakin näistä kolmesta ryhmästä peräisin olevalta kuudelta eläimeltä otettiin 35 verta, minkä jälkeen ne lopetettiin taittamalla niskasta. Kuudesta käsittelemättömästä hiirestä otettiin myös verta ja

ne lopetettiin normaaliarvojen (perustason arvojen) saamiseksi. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyyppeiden määrät laskettiin.

5 Pernan paino ja neutrofiilien kokonaislukumäärät olivat 5. päivänä merkittävästi suuremmat kummassakin käsittelyryhmässä verrattuna vastaaviin arvoihin kantaja-ainekontrolleissa (taulukko 5). TriPdG:llä käsiteltyjen hiirten valkosolujen lukumäärät olivat merkittävästi kontrolleja  
10 suuremmat tällä samalla ajankohdalla.

Pernan paino, valkosolujen lukumäärät ja neutrofiilien kokonaislukumäärät sekä diPdG:llä että triPdG:llä käsitellyissä eläimissä olivat 7. päivänä merkittävästi suurempia  
15 kuin vastaavat määrät kontrollihiirissä (taulukko 6). Myös verihiutaleiden lukumäärät olivat triPdG:llä käsitellyissä hiirissä 7. päivänä merkittävästi kontrolliarvoja suurempia.

20 Taulukko 5. Dipalmitoyylideoksiguanosiinin ja tripalmitoyylideoksiguanosiinin vaikutus verisolujen lukumääriin 5 päivää syklofosfamidin jälkeen

	Perna	WBC	Neutrofiilit
Perustaso	100 ± 4 mg	6,1 ± 0,2	1,5 ± 0,2
CP (kontrolli)	35 ± 2	1,4 ± 0,1	0,03 ± 0,02
25 CP + TriPdG	77 ± 7*	4,1 ± 0,4*	2,5 ± 0,3*
CP + DiPdG	44 ± 1*	1,5 ± 0,2	0,5 ± 0,1*

Kaikki verisolujen lukumäärän yksiköt ovat K/ $\mu$ l

\* = suurempi kuin kontrolli (pelkkä CP) P < 0,01

30

Taulukko 6. Dipalmitoyylideoksiguanosiinin ja tripalmitoyylideoksiguanosiinin vaikutus verisolujen lukumääriin 7 päivää syklofosfamidin jälkeen

	Perna	WBC	Neutrofiilit	Verihiutaleet
5 Perustaso	100 ± 4 mg	7,6 ± 0,4	1,5 ± 0,2	784 ± 58
CP (kontrolli)	55 ± 3	5,0 ± 0,3	2,3 ± 0,3	455 ± 22
CP + TriPdG	156 ± 12*	13,4 ± 0,4*	9,9 ± 0,9*	549 ± 25*
CP + DiPdG	99 ± 7*	8,4 ± 0,7*	6,7 ± 0,7*	432 ± 15

10 Kaikki verisolujen lukumäärän yksiköt ovat K/ $\mu$ l

\* = suurempi kuin kontrolli (pelkkä CP) P < 0,01

Esimerkki 63: Deoksiguanosiinin asyloidut johdannaiset edistävät hematopoieesin palautumista annettuna syklofosfamidin jälkeen

15

Viidellekymmenellekahdeksalle naaraspuoliselle Balb-C-hiirille, jotka kukin painoivat noin 20 g, annettiin yksi syklofosfamidi-injektio (250 mg/kg, i.p.) ja ne jaettiin kantaja-ainekontrolliryhmään (0,2 % Tween-80:tä + 7,5 % DMSO:ta fysiologisessa suolaliuoksessa; n = 12) tai yhteen viidestä käsittelyryhmästä:

20

TriPdG - 3',5'-O-N<sup>2</sup>-tripalmitoyyli-2'-deoksiguanosiini, n = 10

25

TriOdG - 3',5'-O-N<sup>2</sup>-trioleyyli-2'-deoksiguanosiini, n = 8

TriSdG - 3',5'-O-N<sup>2</sup>-tristearyyli-2'-deoksiguanosiini, n = 8

30

DiPdG - 5'-O-N<sup>2</sup>-dipalmitoyyli-2'-deoksiguanosiini, n = 10

NibuPdG - N<sup>2</sup>-isobutyryyli-5'-O-palmitoyyli-2'-deoksiguanosiini, n = 10

35

Kantaja-ainetta tai käsittelyainetta annettiin hiirille 0,4 ml:n tilavuudessa i.p. -injektiona kerran päivässä viiden päivän ajan. TriPdG:tä annettiin käyttäen annoksena

25 mg/kg käsittelyä kohti. Muita neljää ainetta annettiin annoksina, jotka mooliekvivalenttimäärältään vastasivat 25 mg/kg TriPdG:tä käsittelyä kohti. 5. ja 7. päivänä CP:n antamisesta otettiin puolelta kustakin kuudesta ryhmästä peräisin olevista eläimistä verta, minkä jälkeen ne lopetettiin taittamalla niskasta. Viideltä käsittelemättömältä hiireltä otettiin myös verta ja ne lopetettiin normaaliarvoja (perustasoarvoja) koskevien koetulosten saamiseksi. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyypin lukumäärät laskettiin.

Pernan paino, valkosolujen lukumäärät, verihiutaleiden lukumäärät ja neutrofiilien lukumäärät olivat 5. päivää vastaavalla ajankohdalla merkittävästi suurempia triPdG:lla (3',5'-O-N<sup>2</sup>-tripalmitoyyli-2'-deoksiguanosiinilla) käsitellyissä hiirissä kuin kantaja-ainekontrollieläimissä (taulukko 7). Myös diPdG:lla (5'-O-N<sup>2</sup>-dipalmitoyyli-2'-deoksiguanosiinilla) käsiteltyjen eläinten pernan paino oli 5. päivän kohdalla merkittävästi suurempi kuin kontrollien pernan paino.

7. päivään mennessä CP:n antamisesta oli kukin viidestä käsittelyaineesta parantanut merkittävästi vähintään kahta hematopoieesin palautumista kuvaavaa muuttujaa kontrolliarvoihin verrattuna (taulukko 8). TriOdG (3',5'-O-N<sup>2</sup>-trioleyyli-2'-deoksiguanosiini) lisäsi sekä verihiutaleiden että lymfosyyttien lukumääriä kun taas NibuPdG (N<sup>2</sup>-isobutyryyli-5'-O-palmitoyyli-2'-deoksiguanosiini) paransi merkittävästi pernan painoa ja verihiutaleiden lukumääriä. Kukin yhdisteistä TriPdG, TriSdG (3',5'-N<sup>2</sup>-tristearyyli-2'-deoksiguanosiini) ja DiPdG (5'-O-N<sup>2</sup>-dipalmitoyyli-2'-deoksiguanosiini) lisäsivät merkittävästi pernan painoa, valkosolujen lukumääriä ja neutrofiilien kokonaislukumääriä kontrolliarvoihin verrattuna. TriPdG lisäsi myös merkittävästi verihiutaleiden lukumääriä.

Taulukko 7. Deoksiguanosiinin asyylijohdannaisten vaikutus verisolujen määriin 5 päivää syklofosfamidin jälkeen

	Perna	WBC	Neutrofiilit	Verihiutaleet
5 Perustaso	117 ± 5 mg	10,5 ± 0,5	1,8 ± 0,5	1041 ± 65
CP (kontrolli)	33 ± 2	1,5 ± 0,3	0,002 ± 0,002	602 ± 19
CP + TriPdG	73 ± 3*	3,6 ± 0,4*	0,6 ± 0,1*	330 ± 19
CP + DiPdG	39 ± 2*	1,6 ± 0,2	0,46 ± 0,03*	527 ± 15

10 Kaikki verisolujen lukumäärän yksiköt ovat K/ $\mu$ l

\* = suurempi kuin kontrolli (pelkkä CP) P < 0,01

Taulukko 8. Deoksiguanosiinin asyylijohdannaisten vaikutus verisolujen lukumääriin 7 päivää syklofosfamidin jälkeen

	Perna	WBC	Neutrofiilit	Verihiutaleet
15 Perustaso	117 ± 5 mg	10,5 ± 0,5	1,8 ± 0,5	1041 ± 65
CP (kontrolli)	53 ± 4	4,2 ± 0,4	2,3 ± 0,25	562 ± 25
CP + TriPdG	198 ± 23*	3,6 ± 0,4*	7,3 ± 0,3*	674 ± 37*
20 CP + DiPdG	77 ± 5*	7,6 ± 0,6*	5,8 ± 0,6*	562 ± 17
CP + TriOdG	59 ± 5	5,2 ± 0,4	2,7 ± 0,4	741 ± 54*
CP + TriSdG	85 ± 9*	7,6 ± 0,4*	5,4 ± 0,5*	498 ± 27
CP + NibuPdG	69 ± 6*	4,4 ± 0,5	2,2 ± 0,5	649 ± 23*

25 Kaikki verisolujen lukumäärän yksiköt ovat K/ $\mu$ l

\* = suurempi kuin kontrolli (pelkkä CP) P < 0,01

Esimerkki 64: N-isobutyryylideoksiguanosiini edistää hematopoieesin palautumista annettuna syklofosfamidin jälkeen

30 Neljälletoista naaraspuoliselle Balb/C-hiirelle, jotka kukin painoivat noin 20 g, annettiin yksi injektio syklofosfamidia (CP) (250 mg/kg, i.p.), minkä jälkeen niille annettiin kerran päivässä viiden päivän ajan i.p.-injektiona 0,4 ml joko N-isobutyryylideoksiguanosiinia (50 mg/kg käsittelyä kohti) valmistettuna Tween-kantaja-aineeseen (0,2 % Tween-80:tä fysiologisessa suolaliuoksessa) tai pelkkää kantaja-ainetta 7. päivänä CP:n antamisesta otettiin

35

kaikilta neljältätoista eläimeltä verta ja ne lopetettiin sitten taittamalla niskasta. Pernat poistettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyypin lukumäärät laskettiin.

5

N-isobutyryylideoksiguanosiini kiihdytti kontrolleihin verrattuna merkittävästi hematopoieesin palautumista syklofosfamidin aikaansaamasta vaurioitumisesta. Pernan paino ( $116,3 \pm 8,0$  vs.  $72,7 \pm 2,7$ ,  $p < 0,001$ ), valkosolujen lukumäärät ( $8,9 \pm 0,5$  vs.  $4,6 \pm 0,5$ , neutrofiilien kokonaislukumäärät ( $6,6 \pm 0,5$  vs.  $3,3 \pm 0,4$ ,  $p < 0,001$ ) ja lymfocyttien lukumäärät ( $2,1 \pm 0,2$  vs.  $1,2 \pm 0,2$ ,  $p < 0,02$ ) olivat kaikki merkittävästi suurempia N-isobutyryylideoksiguanosiinilla käsitellyissä eläimissä kuin niissä hiirissä, joille annettiin pelkkää kantaja-ainetta.

10

15

Esimerkki 65: Tripalmitoyylideoksiguanosiini parantaa hematopoieesin palautumista annoksesta riippuvaisella tavalla annettuna ennen 5-fluoriurasiilia

20

Kuusikymmentä naaraspuolista Balb/C-hiirtä, joiden kunkin paino oli noin 20 g, jaettiin yhteen viidestä käsittelyryhmästä ja käsiteltiin kerran päivässä kolmen päivän ajan antamalla niille i.p.-injektiona 3',5'-O-N<sup>2</sup>-tripalmitoyyli-2'-deoksiguanosiinia käyttäen annosta, joka oli 1, 5, 10, 25 tai 50 mg/kg käsittelyä kohti, Tween-DMSO-kantaja-aineeseen (0,2 % Tween-80:tä ja 7,5 % DMSO:ta fysiologisessa suolaliuoksessa) valmistettuna. Injektiotilavuus oli 0,4 ml. Vielä muille 12 eläimelle (kontrollit) annettiin näinä kolmena päivänä pelkkää kantaja-ainetta. Neljäntenä päivänä kaikille 72 eläimelle annettiin yksi i.p.-injektio 5-fluoriurasiiliä (5-FU) käyttäen annoksena 150 mg/kg. 7. ja 10. päivänä 5-FU:n antamisesta otettiin kustakin ryhmästä peräisin olevalta kuudelta hiireltä verta ja ne lopetettiin sitten taittamalla niskasta. Kuudelta käsittelemättömältä hiireltä otettiin myös verta ja ne lopetettiin normaaliarvojen (perustason arvojen) saamiseksi. Pernat pois-

25

30

35

tettiin ja punnittiin ja kaikkien verisolutyyppeiden lukumäärät laskettiin.

5 Tuloksena tripalmitooylideoksiguanosiiniannosten suurentamisesta oli 7. päivänä vastaava pernan painon kohoaminen (taulukko 9). Annoksella 10 mg/kg ja tätä suuremmilla annoksilla saavutettiin kontroliarvoihin verrattuna tilastollisesti merkittäviä eroja pernan painossa. Annosten ollessa 5 mg/kg ja tätä suurempia osoittautuivat myös verihiutaleiden lukumäärät nousseet merkittävästi kontrolleja suuremmiksi. Suurimmat arvot, vaikkakaan nämä eivät eronneet tilastollisesti merkittävästi suuremmista annosmääristä, olivat käsittelyryhmässä, jossa annos oli 5 mg/kg.

15 10. päivänä havaittiin pernan painon, valkosolujen lukumäärien, neutrofiilien kokonaislukumäärien ja lymfosyyttien lukumäärien suhteen selvä annoksesta riippuvainen kehitys (taulukko 10). Kaikkien näiden muuttujien arvot vaikuttivat kuitenkin olevat suurimmat silloin kun käytetyn tripalmitooylideoksiguanosiinin annos oli 25 mg/kg.

Taulukko 9. Tripalmitooylideoksiguanosiinin vaikutus verisolujen lukumääriin 7 päivää 5-fluoriurasiilin jälkeen: annosvaste

	Perna	Verihiutaleet
Perustaso	104 ± 5 mg	820 ± 417
5FU (kontrolli)	68 ± 3	432 ± 15
TriPDG 1 mg/kg	74 ± 3	457 ± 36
TriPDG 5 mg/kg	78 ± 4	682 ± 66*
TriPDG 10 mg/kg	83 ± 6*	571 ± 41*
TriPDG 25 mg/kg	93 ± 5*	587 ± 19*
TriPDG 50 mg/kg	102 ± 4*	596 ± 43*

Kaikki verisolujen lukumäärän yksiköt ovat K/ $\mu$ l

\* = suurempi kuin kontrolli (pelkkä 5FU) P < 0,01

Taulukko 10. Tripalmitoyylideoksiguanosiinin vaikutus verisolujen lukumääriin 10 päivää 5-fluoriurasiilin jälkeen: annosvaste

	Perna	WBC	Neutrofiilit	Lymfosyytit	
5	Perustaso	104 ± 5 mg	9,2 ± 0,7	2,0 ± 0,2	6,8 ± 0,6
	5FU (kontrolli)	96 ± 9	6,1 ± 0,5	0,2 ± 0,03	5,8 ± 0,5
	TriPDG 1 mg/kg	96 ± 13	6,2 ± 0,4	0,4 ± 0,2	5,7 ± 0,2
10	TriPDG 5 mg/kg	157 ± 13*	8,2 ± 0,9	1,6 ± 0,4*	6,3 ± 0,7
	TriPDG 10 mg/kg	169 ± 24*	7,7 ± 0,6	1,8 ± 0,4*	5,7 ± 0,4
15	TriPDG 25 mg/kg	293 ± 17*	11,4 ± 0,6*	2,9 ± 0,4*	8,3 ± 0,4*
	TriPDG 50 mg/kg	320 ± 39*	10,8 ± 1,6*	2,2 ± 0,5*	8,3 ± 1,0*

Kaikki verisolujen lukumäärän yksiköt ovat K/ $\mu$ l

20 \* = suurempi kuin kontrolli (pelkkä 5FU) P < 0,01

Esimerkki 66: Palmitoyylideoksiguanosiinilla suoritettu esikäsitteily antaa suojan kortikosteroidien aikaansaamaa apoptoosia vastaa hiiren kateenkorvassa

25 Kateenkorvan lymfosyytit eli tymosyytit käyvät läpi solun omaan kuolemaan johtavan tapahtumasarjan, josta käytetään nimitystä apoptoosi eli ohjelmoitu solukuolema, vasteena useille erilaisille ärsykkeille, mukaan lukien ionisoiva säteily, kalsiumionoforit, glukokortikoidihormonit ja muut aineet. Apoptoosi kuuluu myös osana normaaliin yksilönkehityksen fysiologiseen kulkuun sekä lymfosyyttien (ja muiden solujen) selektioon. Käyttäen tunnettua glukokortikoidien aikaan saaman ohjelmoidun solukuoleman mallia osoittavat alla olevat tulokset, että palmitoyylideoksiguanosiiniesikäsitteily antaa suojan hiiren kateenkorvassa tapahtuvaa kortikosteroidien aikaansaamaa apoptoosia vastaan.

35 Kahdeksalle koiraspuoliselle B6D2F1-hiirelle, joiden paino oli noin 25 g, annettiin yksi injektio, johon käytettiin

joko palmitoyylideoksiguanosiinia (25 mg/kg, i.p.) Tween-DMSO-kantaja-aineessa (fysiologiseen suolaliuokseen valmistettu 0,02-%:inen Tween ja 7,5-%:inen DMSO) tai pelkkää kantaja-ainetta. Näille hiirille annettiin i.p.-injektiona 48 tuntia myöhemmin pitkävaikutteista kortikosteroidia, metyyliprednisoloniasetaattia (Depo-Medrol; 250 mg/kg). 48 tuntia kortikosteroidin antamisesta nämä kaikki 8 eläintä ja 4 muuta käsittelemätöntä eläintä (perustasot) lopetettiin taittamalla niskasta, kateenkorvat ja pernat poistettiin ja punnittiin ja kateenkorvan solujen lukumäärät ja niiden elinkyky määritettiin vakiomenetelmin. Vaikkakin kateenkorvan ja pernan painot pienentyivät silmiinpistävästi kummassakin kortikosteroidilla käsitellystä ryhmistä, lisääntyi solujen lukumäärä kateenkorvaa kohti ja kateenkorvan solujen elinkyky merkittävästi niissä hiirissä, joita oli esikäsitelty palmitoyylideoksiguanosiinilla (taulukko 11).

Taulukko 11. Palmitoyylideoksiguanosiinin vaikutus kortikosteroidikäsitellyllä aikaansaatuun tyimosyyttien apoptoosiin

	Pernan paino	Kateenkorvan paino	Solumäärä/kateenkorva	% elinkykyisiä
Perustaso	78 ± 3 mg	53 ± 5 mg	200 ± 20 (x 10 <sup>6</sup> )	93 ± 3 %
Depo-Medrol (DM)	51 ± 9	13 ± 1	27 ± 4	39 ± 6
DH + PDG	61 ± 11	16 ± 1	64 ± 12*	87 ± 3*

\* = suurempi kuin kontrolli (ryhmä 2; pelkkä Depo-Medrol) P < 0,01

Esimerkki 67: Palmitoyylideoksiguanosiini estää IL-3:sta riippuvaisen luuydinsolujen apoptoosin in vitro -olosuhteissa

Kun interleukiini-3 (IL-3) jätetään pois IL-3:sta riippuvaisten solujen viljelmistä, niin tämä johtaa apoptoosiin eli ohjelmoituun solukuolemaan. Tämä koe osoittaa, että palmitoyylideoksiguanosiinin lisääminen IL-3:sta riippuvaisten solujen viljelmiin, joista IL-3 on jätetty pois, estää ohjelmoitun solukuoleman.

Luuydinsolut saatiin käyttöön huuhtelemalla kolmen koiraspuolisen B6D2F1-hiiren reisiluut. Soluja maljattiin solutiheydessä  $5,0 \times 10^5$ /ml MEM:een, joka sisälsi 10 % fetaalista vasikanseerumia ja 25 yksikköä yhdistelmä-IL-3:a millilitrassa 24 - 48 tunnin ajan. Tämän jälkeen tarttumattomat solut erotettiin maljaan tarttuneista soluista ja niitä kasvatettiin vielä 12 päivää. IL-3 pestiin soluista ja solut maljattiin MEM:een, joka sisälsi 10 % fetaalista vasikanseerumia, IL-3:n läsnäollessa tai tämän puuttuessa lisäämällä palmitoyylideoksiguanosiinia (10 mikrogrammaa millilitrassa) tai deoksiguanosiinia (10 mikrogrammaa millilitrassa) tai jättämällä nämä lisäykset suorittamatta. Solut laskettiin käyttäen menetelmää, joka perustui trypaanisinen jäämiseen solujen ulkopuolelle ja kuolleiden solujen osuus (trypaanisinipositiiviset solut) määritettiin 24, 40, 60 ja 84 tuntia pesun jälkeen. Solujen kuoleman mekanismin osoitettiin DNA-fragmentaatioanalyysin perusteella olevan apoptoosin.

Kuolleiden solujen osuus viljelmissä, joissa käytettiin IL-3:a, ulottui pesun jälkeen 24 tunnin kohdalla havaitusta 7,5 %:sta 84 tunnin kohdalla havaittuun 13,0 %:iin. Kuolleiden solujen osuus lisääntyi tasaisesti ja merkittävästi viljelmissä, joista IL-3 oli jätetty pois, 24 tunnin kohdalla havaitusta 18,5 prosentista 84 tunnin kohdalla havaittuun 75,3 prosenttiin (taulukko 12). Palmitoyylideoksiguanosiinin lisääminen viljelmiin, joista IL-3 oli jätetty pois, vähensi merkittävästi kuolleiden solujen osuutta, kun taas pelkän deoksiguanosiinin lisääminen ei vaikuttanut IL-3:n pois jättämisestä johtuvaa apoptoottista solukuolemaa estävällä tavalla.

Nämä koetulokset osoittavat, että palmitoyylideoksiguanosiinin lisääminen IL-3:sta riippuvaisten solujen viljelmiin, joista IL-3 on jätetty pois, estää ohjelmoidun solukuoleman.

Taulukko 12. Palmitoyylideoksiguanosiinin vaikutus interleukiini-3:sta riippuvaisten luuydinsolujen apoptoosiin

Aika (h)	24	40	60	84	
Ryhmät	kuolleiden solujen %-määrä				
5	- IL-3	18,5 ± 3,5	35,0 ± 1,0	47,7 ± 6,4	75,3 ± 5,5
	+ IL-3	7,5 ± 12,5*	6,5 ± 1,5*	10,3 ± 1,9*	13,0 ± 4,0*
	- IL-3 + PdG	11,0 ± 3,0	18,0 ± 3,0*	16,0 ± 1,5*	15,3 ± 5,5*
10	- IL-3 + dG	15,5 ± 0,5	21,5 ± 3,5*	46,3 ± 10,3	68,3 ± 6,0

\* = vähemmän kuin kontrolli (ryhmä 1; miinus IL-3) P < 0,01

15 Esimerkki 68: Palmitoyylideoksiguanosiini stimuloi luuydinsolujen lisääntymistä pitkään soluja viljeltäessä: luuytimen siirtoa koskevat seurausvaikutukset

20 Luuytimen siirtoa käytetään lisääntyvässä määrin useiden eri hematologisten ja onkologisten sairauksien hoitoon. Luuytimen siirron laatua voidaan parantaa käyttämällä lyhytaikaista tai pitkäaikaista inkubointia sellaisten tekijöiden kanssa, jotka voimistavat normaalien hematopoieettisten solujen lisääntymistä ja/tai stimuloivat pesäkkeitä muodostavien solujen muodostumista. Tämä koe osoittaa, että palmitoyylideoksiguanosiinin lisääminen normaaleista hiiren luuydinsoluista valmistettuihin pitkään viljeltäviin viljelmiin lisää silmiinpistävästi solujen kokonaismäärää ja pesäkkeitä muodostavien solujen osuutta kontrolliviljelmiin verrattuna.

30 Pitkään viljeltävien luuydiviljelmien valmistamiseksi käytettiin B6D2F1-hiirten reisiluista peräisin olevia luuydinsoluja. Neljän viikon kuluttua, kun stroomakerroksen solut olivat yhteenkasvaneet, käsiteltiin viljelmään mikrofenolihapolla kaikkien solujen poistamiseksi stroomasta. Uusia luuydinsoluja ( $1 \times 10^5/\text{ml}$ ), jotka olivat peräisin samasta materiaalilähteestä, käytettiin tämän jälkeen stroomakerroksen "uudelleenlataukseen". Puoleen viljelmistä lisättiin palmitoyylideoksiguanosiinia konsentraatiossa

10 mikrogrammaa millilitrassa. Solut laskettiin 1., 3., 5. ja 7. päivänä palmitoyylideoksiguanosiinin lisäämisestä. Solut poistettiin viljelmästä 4. ja 7. päivänä, pestiin ja maljattiin uudelleen metyyliiselluloosalle. Granulo-monosyyttisten pesäkkeiden lukumäärä laskettiin viikko tämän jälkeen.

Palmitoyylideoksiguanosiini lisäsi merkittävästi solujen kokonaismäärää ja pesäkkeitä muodostavien solujen osuutta taulukoissa 13 ja 14 esitetyllä tavalla.

Taulukko 13. Palmitoyylideoksiguanosiinin vaikutus luuydin-solujen lisääntymiseen in vitro -olosuhteissa

Aika (päiviä)	1	3	5	7
Ryhvät	soluja ( $10^6$ /pullo)			
Kontrolli	1,6 ± 0,13	2,4 ± 0,14	3,6 ± 5	2,4 ± 0,27
TriPdG	1,9 ± 0,13	2,9 ± 0,10	7,7 ± 0,2	4,3 ± 0,15

Taulukko 14. Palmitoyylideoksiguanosiinin vaikutus granulosyytti/makrofagipesäkkeitä muodostaviin yksikköihin in vitro -olosuhteissa

Aika (päiviä)	4	7
Kontrolli	CFU-GM/pullo	
Kontrolli	3297 ± 239	8417 ± 1361
TriPdG	5123 ± 561	33903 ± 9457

Esimerkki 69: Deoksiguanosiinin asyyljohdannaiset inhi-boivat pluripotenttisten hematopoeettisten solujen lisääntymistä in vitro -olosuhteissa annoksesta riippuvaisella tavalla

FDCP<sub>mix</sub>-solulinjaa käytettiin sopivana in vitro -olosuhteissa käytettävänä mallina pluripotentteihin kantasoluihin kohdistuvien hematopoeettisten tekijöiden vaikutusten ennustamiseen. Näitä soluja voidaan kasvattaa erilaistumat-tomassa tilassa IL-3:n läsnäollessa tai ne lähtevät kehit-

tymään monien solujen kehityslinjojen mukaisesti spesifisten hematopoieettisten kasvutekijöiden läsnäollessa.

5 FDCP<sub>mix</sub>-solujen lisääntyminen IL-3:n läsnäollessa yhdistettyinä useisiin erilaisiin tutkittaviin yhdisteisiin sekä näihin yhdistämättöminä määritettiin käyttäen kolorimetrasta MTT (tetratsoliumsuola) -määrittystä. FDCP<sub>mix</sub>-solujen maksimaalinen lisääntyminen määritettiin 48 tuntia sen jälkeen kun soluviljelmään oli lisätty optimiannos IL-3:a. 10 Tämä lisääntymistaso (100 %) toimi kontrolliarvona. Tutkittavien yhdisteiden aikaansaama lisääntymisen inhiboituminen ilmoitettiin prosenttina kontrollista.

15 FDCP<sub>mix</sub>-solut maljattiin solutiheyteen  $5 \times 10^4$  solua kuoppaa kohti 96-kuoppaisille levyille ( $5 \times 10^5$ /ml) käyttäen IMDM-mediumia ynnä 10 % fetaalista naudan seerumia. Viljelmiin lisätty IL-3:n optimiannos oli 25 yksikköä/ml. Tutkittavia yhdisteitä lisättiin pienenevissä konsentraatioissa, jotka ulottuivat konsentraatiosta 10 mikrogrammaa millilitrassa 20 konsentraatioon 1 nanogramma millilitrassa. Tutkittavat yhdisteet olivat 3',5'-O-N<sup>2</sup>-tripalmitoyyli-2'-deoksiguanosiini, 3',5'-di-O-palmitoyyli-2'-deoksiguanosiini, 3',5'-O-N<sup>1</sup>-trioktanoyyli-2'-deoksiguanosiini, 3',5'-di-O-oktanoyyli-2'-deoksiguanosiini ja 3',5'-O-N<sup>2</sup>-trioleyyli-2'-deoksiguanosiini. 25

3',5'-O-N<sup>2</sup>-tripalmitoyyli-2'-deoksiguanosiinilla ja 3',5'-di-O-palmitoyyli-2'-deoksiguanosiinilla oli merkittäviä annoksesta riippuvaisia inhibitorisia vaikutuksia annoksilla, jotka ulottuivat 10 mikrogrammasta millilitrassa sataan 30 nanogrammaan millilitrassa (taulukko 15). Muilla kolmella yhdisteellä, 3',5'-O-N<sup>2</sup>-trioktanoyyli-2'-deoksiguanosiinilla, 3',5'-di-O-oktanoyyli-2'-deoksiguanosiinilla ja 3',5'-O-N<sup>2</sup>-trioleyyli-2'-deoksiguanosiinilla, oli tutkituilla annoksilla 35 vähäisiä inhibitorisia vaikutuksia tai näitä ei ollut lainkaan.

Näillä viidellä yhdisteellä saatiin kolorimetrasta MTT-määrittysjärjestelmää käyttäen olennaisesti samanlaisia tuloksia myös normaalista hiiren (B6D2F1) luuytimeistä peräisin olevissa solupopulaatioissa, joissa IL-3:n määrää oli lisätty.

5

S  
S  
S  
S  
SS  
S  
S  
S  
S

Taulukko 15. FD<sub>CP</sub><sub>mix</sub>-solujen lisääntymisen annoksesta riippuvainen inhiboituminen deoksi-guanosiinin asyylijohtamisilla

Annos:	10 µg	2,5 µg	625 ng	156 ng	39 ng	10 ng
Yhdiste	Solujen lisääntyminen (% kontrollista)					
DiPdG	38 ± 0,2	36 ± 0,1	40 ± 0,8	45 ± 0,9	52 ± 0,5	62 ± 2
TriPdG	51 ± 0,6	51 ± 0,7	60 ± 2	72 ± 3	76 ± 2	78 ± 1
DiOktdG	100 ± 0,3	78 ± 2	93 ± 1	84 ± 6	86 ± 1	84 ± 2
TriOktdG	107 ± 1	96 ± 0,1	86 ± 2	89 ± 6	85 ± 2	87 ± 4
TriOleyylidG	110 ± 3	80 ± 2	98 ± 6	92 ± 5	91 ± 5	92 ± 5

Esimerkki 70: N<sup>2</sup>,3',5'-tripalmitoyylideoksiguanosiinin vaikutus sislplatiinin aikaansaamaan myelosupressioon

Sislplatiini on antineoplastinen aine, jota käytetään kives-  
 syövän, munarauhaskarsinooman, ei-Hodgkinin lymfooman,  
 5 keuhkosyöpien ja pään ja kaulan alueen levyepiteelisolukarsinoomien hoitoon. Sislplatiinin käytön yhteydessä esiintyvä annosta rajoittava toksisuus on tavallisesti munuais-  
 toksisuus mutta tämä yhdiste saa myös aikaan valkosolujen,  
 10 mukaan lukien lymfosyyttien ja neutrofiilien, määrän vähenemisen sekä verihiutaleiden määrän vähenemisen suurilla annoksilla. Sislplatiinin puoliintumisaika on epätavallisen pitkä, ja se on noin 5 päivää ja sen tiedetään saavan aikaan kumulatiivista myelosupressiota useina annoksina annettuna.

15 Suoritettiin tutkimus, jolla oli tarkoitus määrittää, millaisin vaikutuksin N<sup>2</sup>,3',5'-tripalmitoyylideoksiguanosiini (PdG) vähentää sislplatiinin hematologista toksisuutta. Naaraspuoliset Balb/C-hiiret jaettiin viiden eläimen ryhmiin kutakin annosta ja kutakin ajankohtaa kohti. Puolelle näistä  
 20 ryhmistä annettiin kolmen päivittäisen PdG-annoksen (25 mg/kg) sarja käyttämällä intraperitoneaalista injektiota ja toista puolta ryhmistä käsiteltiin pelkällä kantaja-aineella. Eläimille annettiin 24 tuntia myöhemmin yksi sislplatiiniannos käyttämällä intraperitoneaalista injektiota  
 25 yhdellä neljästä annoksesta: 8, 11, 12 tai 15 mg/kg. Verinäytteet otettiin ottamalla verta silmän sisänurkasta 4, 7 ja 11 päivää sislplatiinin antamisesta. Verisolujen lukumäärät 4, 7 ja 11 päivää sislplatiinin antamisesta on lueteltu taulukoissa 16, 17 ja 18, mainitussa järjestyksessä  
 ilmoitettuna.  
 30



Taulukko 16: Verisolujen lukumäärät neljä päivää sisplatiinikäsittelyn jälkeen

	WBC	Neutrofiilit	Verihiutaleet	Lymfosyytit	
5	(K/ $\mu$ l)	(K/ $\mu$ l)	(K/ $\mu$ l)	(K/ $\mu$ l)	
Ryhmä					
Perustaso	10,0	2,0	1000	9,0	
4. päivä:					
10	Cis-P (8 mg/kg)	5,8 $\pm$ 1,1	0,65 $\pm$ 0,2	1030 $\pm$ 24	5,15 $\pm$ 1,0
	Cis-P+PdG	10,2 $\pm$ 1,4	1,77 $\pm$ 0,3	1330 $\pm$ 57	8,0 $\pm$ 0,9
	Cis-P (11 mg/kg)	5,6 $\pm$ 0,3	1,29 $\pm$ 0,2	1110 $\pm$ 35	3,7 $\pm$ 0,1
	Cis-P+PdG	7,2 $\pm$ 0,6	3,99 $\pm$ 0,7	1408 $\pm$ 24	7,9 $\pm$ 1,1
15	Cis-P (12 mg/kg)	4,3 $\pm$ 0,5	0,83 $\pm$ 0,1	1014 $\pm$ 39	2,41 $\pm$ 0,4
	Cis-P+PdG	6,9 $\pm$ 0,9	1,59 $\pm$ 0,3	1416 $\pm$ 56	5,14 $\pm$ 1,0
	Cis-P (15 mg/kg)	5,6 $\pm$ 0,9	-	1154 $\pm$ 57	2,10 $\pm$ 0,53
20	Cis-P + PdG	7,1 $\pm$ 1,0	2,69 $\pm$ 1,3	1320 $\pm$ 43	4,37 $\pm$ 0,61

Neljänten päivään mennessä oli sisplatiini vähentänyt jopa pienimmällä sisplatiiniannoksella (8 mg/kg) huomattavasti valkosolujen kokonaismäärää, neutrofiilien määrää ja lymfosyyttien määrää eläimissä, joita ei oltu käsitelty PdG:lla (perustasokontrolleihin verrattuna). Jyrkkänä vastakohtana tälle ei PdG:lla käsitellyillä eläimillä esiintynyt samalla sisplatiinin annoksella tilastollisesti merkittävää muutosta valkosolujen kokonaismäärään, neutrofiilien tai lymfosyyttien suhteen perustasokontrolleihin verrattuna. Vaikkakaan sisplatiini ei vähentänyt verihiutaleiden lukumääriä tänä ajankohtana, olivat PdG:lla käsiteltyjen hiirten verihiutaleiden lukumäärät noin 30 % suuremmat kuin kantaja-aineella käsitellyissä kontrollieläimissä. Nämä tulokset ovat muodoltaan samanlaiset kuin mitä havaittiin normaaleissa eläimissä, joissa kyseiset toiminnot eivät olleet heikentyneet. Sisplatiinin suuremmat annokset saivat aikaan valkosolujen kokonaismäärän ja lymfosyyttien määrän pienentymisiä jopa hiirissä, joille annettiin PdG:tä. PdG-esikäsitelyllä saatiin kuitenkin kontrolleihin verrattuna

suurempia lukumääriä. PdG-esikäsitteily ehkäisi neutrofiilien määrän pienentymisen kaikilla annoksilla, ja tämä tuotti tilastollisesti merkittäviä eroja kontrolleihin verrattuna. Verihiutaleiden lukumäärät olivat suurentuneet kaikilla 5 neljällä sislplatiiniannoksella hiirissä, joille annettiin PdG:tä, vaikkakaan sislplatiini ei vähentänyt verihiutaleiden lukumääriä tällä ajankohdalla.



Taulukko 17: Verisolujen lukumäärät seitsemän päivää sisplatiinikäsittelyn jälkeen

Ryhmä	WBC (K/ $\mu$ l)	Neutrofiilit (K/ $\mu$ l)	Veri- hiutaleet (K/ $\mu$ l)	Lymfosyytit (K/ $\mu$ l)
Perustaso:	10,0	2,0	1000	9,0
7. päivä:				
Cis-P (8 mg/kg)	7,6 $\pm$ 0,3	1,34 $\pm$ 0,38	974 $\pm$ 44	6,23 $\pm$ 0,46
Cis-P+PdG	8,3 $\pm$ 1,12	2,74 $\pm$ 0,50	910 $\pm$ 135	5,38 $\pm$ 0,71
Cis-P (11 mg/kg)	9,1 $\pm$ 0,45	3,64 $\pm$ 0,4	762 $\pm$ 91	4,78 $\pm$ 0,74
Cis-P + PdG	9,4 $\pm$ 0,83	4,58 $\pm$ 0,3	974 $\pm$ 49	5,44 $\pm$ 0,22
Cis-P (12 mg/kg)	5,5 $\pm$ 0,69	2,38 $\pm$ 0,5	866 $\pm$ 39	3,09 $\pm$ 0,57
Cis-P + PdG	8,5 $\pm$ 0,9	3,23 $\pm$ 0,7	1030 $\pm$ 44	5,14 $\pm$ 0,91
Cis-P (15 mg/kg)	5,5 $\pm$ 0,59	4,22 $\pm$ 0,52	754 $\pm$ 54	1,21 $\pm$ 0,19
Cis-P+PdG	7,0 $\pm$ 0,38	4,06 $\pm$ 0,46	1060 $\pm$ 40	2,80 $\pm$ 0,44

5

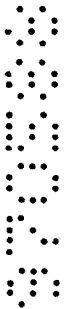
10

15

Neutrofiilien määrä palautui seitsemäntenä päivänä kaikissa ryhmissä kaikilla annoksilla. Kolmella suuremmalla annoksella on verihiutaleiden lukumäärän vähentyminen ilmeistä kontrolliryhmissä mutta PdG ehkäisi verihiutaleiden lukumäärän vähenemisen käsittelyryhmissä.

11. päivänä vaikuttivat kahdessa alemmassa sisplatiiniannoksen käsittävässä ryhmässä (8 ja 11 mg/kg) valkosolujen kokonaislukumäärät, lymfosyytit ja verihiutaleet olevan normaalialueella jopa kontrollieläimissä. Sisplatiiniannoksella 12 mg/kg oli 60 % kontrolleista kuollut 11. päivään mennessä. Tähän ryhmään jääneellä kahdella hiirellä ei voitu tehdä perusteltavissa olevia tilastollisia analyysyjä. Kaikki PdG:lla käsitellyt eläimet jäivät henkiin.

15 Suurimmalla käytetyllä sisplatiiniannoksella, 15 mg/kg, olivat kaikki kontrollieläimet kuolleet 11. päivän kohdalla, kun taas kolme viidestä hiirestä jäi henkiin PdG:lla esikäsitellyssä ryhmässä.



Taulukko 18: Verisolujen lukumäärät yksitoista päivää sisplatiinikäsittelyn jälkeen

Ryhmä	WBC (K/ $\mu$ l)	Neutrofiilit (K/ $\mu$ l)	Verihiutaleet (K/ $\mu$ l)	Lymfosyytit (K/ $\mu$ l)
Perustaso:	10,0	2,0	1000	9,0
11. päivä:				
Cis-P (9 mg/kg)	9,5 $\pm$ 0,5	0,64 $\pm$ 0,21	944 $\pm$ 58	8,8 $\pm$ 0,55
Cis-P+PdG	9,3 $\pm$ 0,3	1,33 $\pm$ 0,32	994 $\pm$ 29	7,9 $\pm$ 0,5
Cis-P (11 mg/kg)	9,6 $\pm$ 0,4	0,62 $\pm$ 0,25	936 $\pm$ 54	8,9 $\pm$ 0,47
Cis-P+PdG	8,7 $\pm$ 1,0	1,00 $\pm$ 0,37	968 $\pm$ 47	7,9 $\pm$ 1,23
Cis-P (12 mg/kg)	(kuolleita 3/5)	(kuolleita 3/5)	(kuolleita 3/5)	(kuolleita 3/5)
Cis-P+PdG	8,7 $\pm$ 0,6	3,26 $\pm$ 0,48	738 $\pm$ 35	5,34 $\pm$ 0,73
Cis-P (15 mg/kg)	(kuolleita 5/5)	(kuolleita 5/5)	(kuolleita 5/5)	(kuolleita 5/5)
Cis-P+PdG	9,7 $\pm$ 0,3	2,02 $\pm$ 0,68	657 $\pm$ 113	7,65 $\pm$ 0,49

5

10

15

Punasoluihin ei sisplatiinilla eikä PdG-käsittelyllä ollut vaikutusta millään ajankohdalla. Tämä koe kuvaa sitä, että PdG-sisplatiini suojaa hiiriä sisplatiinin välittömiltä ja tätä pitempään vaikuttavilta hematopoeettisilta toksisilta vaikutuksilta. Vaikutukset neutrofiileihin ja eläinten henkiinjäämiseen ovat erityisen huomionarvoiset.

Esimerkki 71: N<sup>2</sup>,3',5'-tripalmitoyylideoksiguanosiinin vaikutus doksorubisiinin aikaansaamaan myelosupressioon

10 Doksorubisiini (adriamysiini) on laajalti käytetty syöpälääke, joka on tehokas rintarauhaskarsinoomaa, sarkoomia, piensolukeuhkosyöpää, munasarjasyöpää, kilpirauhassyöpää, Hodgkinin tautia ja ei-Hodgkinin lymfoomaa vastaan. Sen kliinistä käyttöä rajoittavat sen toksisuus sydämelle sekä  
15 sen hematologinen toksisuus. Suoritettiin tutkimus, jonka tarkoituksena oli määrittää N<sup>2</sup>,3',5'-tripalmitoyylideoksiguanosiinin (PdG:n) doksorubisiinin hematologista toksisuutta alentava vaikutus. 80 koiraspuolista CDF8F1-hiirtä jaettiin kolmeen ryhmään. Yhtä ryhmää ei käsitelty lainkaan ja  
20 nämä toimivat perustasoa kontrolloivina eläiminä. Kahden muun ryhmän eläimille annettiin kullekin yksi doksorubisiiniannos injektoimalla intraperitoneaalisesti annoksella 11 mg/kg. 24 tuntia myöhemmin näissä kahdessa ryhmässä oleville eläimille ryhdyttiin antamaan päivittäin intraperitoneaalisin injektioin kolme annosta joko PdG:tä tai pelkkää  
25 kantaja-ainetta. Verinäytteet otettiin silmän sisänurkasta juuri ennen doksorubisiinin antamista ja tämän jälkeen 4, 8, 11 ja 14 päivää antamisen jälkeen. Suoritettiin kaikkien verisolujen erottelulaskenta. Koetulokset on esitetty taulukossa 19. Kun PdG:tä annettiin doksorubisiinin jälkeen,  
30 niin tämä palautti nopeasti ja tehokkaasti verisolujen lukumäärät, pernan solusisällön ja pernassa esiintyvät hematopoeettiset kantasolut.



Esimerkki 72: N<sup>2</sup>,3',5'-tripalmitoyylideoksiguanosiinin (PdG:n) terapeutinen aktiivisuus oraalisen antamisen jälkeen

5 PdG:n intraperitoneaalisen ja oraalisen antamisen vaikutukset neutrofiilien uudelleen muodostumiseen syklofosfamidimallissa

PdG formuloitiin yhdistetyistä miselleistä koostuvaan preparaattiin, joka sisälsi glyserolitrikaprylaattia ja natriumkolaatti-sappihapposuolaa. Kymmenestä naaraspuolisesta Balb/C-hiirestä koostuville ryhmille annettiin injektoimalla intraperitoneaalisesti yksi syklofosfamidiannos (250 mg/kg). 24 tuntia tämän jälkeen eläimille ryhdyttiin antamaan kolme päivittäistä annosta PdG:tä (25 mg/kg) injektoimalla tätä intraperitoneaalisesti, antamalla oraalisesti letkun avulla glyserolitrikaprylaatti-natriumkolaatti-fysiologinen suolaliuos -kantaja-aineeseen valmistettuna PdG:tä (100 mg/kg) tai antamalla oraalisesti letkun avulla pelkkää glyserolitrikaprylaatti-natriumkolaatti-fysiologinen suolaliuos -kantaja-ainetta. Verinäytteitä otettiin silmän sisäkulmasta 5 ja 7 päivää syklofosfamidin antamisesta. Näytteitä otettiin myös käsittelemättömiä eläimiä sisältävästä ryhmästä, joka toimi perustason kontrollina. Neutrofiilien lukumäärät olivat taulukossa 20 esitettyjen määrien mukaiset. Syklofosfamidin jälkeen suun kautta annettu PdG sai aikaan sen, että neutrofiilien muodostuminen uudelleen parantui merkittävästi kontrollieläimiin verrattuna.

Taulukko 20: PdG:n aktiivisuus oraalisen antamisen jälkeen

Ryhmä	WBC (K/ $\mu$ l)	Neutrofiilit (K/ $\mu$ l)
Perustaso	10,0	2,55 + 0,47
5. päivä		
CP + kantaja-aine (oraalinen)	0,91 + 0,1	0,02 + 0,00
CP + PdG (oraalinen)	1,9 + 0,2	0,70 + 0,15
CP + PdG (i.p.)	4,0 + 0,1	1,80 + 0,06
10. päivä:		
CP + kantaja-aine (oraalinen)	5,2 + 0,5	2,05 + 0,39
CP + PdG (oraalinen)	7,5 + 0,2	5,64 + 0,35
CP + PdG (i.p.)	13,8 + 0,6	11,40 + 0,97

Esimerkki 73: N<sup>2</sup>,3',5'-tripalmitoyylideoksiguanosiini edistää henkiinjäämistä polymikrobi-infektiossa

N<sup>2</sup>,3',5'-tripalmitoyylideoksiguanosiini (PdG) stimuloi neutrofiilien muodostumista. Koska neutrofiilit ovat tärkeitä bakteereja vastaan suunnatussa puolustuksessa, tutkittiin PdG:stä sen hyödylliset vaikutukset bakteerien aiheuttamassa verenmyrkytyksessä. Bakteri-infektio, joka on muodostunut sädehoidon tai kemoterapian immunologisen järjestelmän toimintaa heikentävien vaikutusten seurauksena, on tärkeä kuolevuutta aikaansaava tekijä syöpäpotilaille. PdG:n mahdollista hyödyllisyyttä arvioitiin mallissa, joka perustuu umpisuolen umpeensolmimiseen ja sen puhkaisuun (CLP) ja joka on sellainen polymikrobisen verenmyrkytyksen malli, jossa eläimen umpisuoli solmitaan estämättä muulla tavoin suoliston sisällön kulkua ja joka sitten puhkaistaan umpisuoleen jääneen ulostemateriaalin vapauttamiseksi vatsaonteloon (O'Reilly, et al., Journal of Trauma 33 679 - 682). Tämä vapauttaminen saa aikaan peritoniitin sekä tämän jälkeen syntyvän bakteremian, shokin ja kuolevuuden. CLP-malli on erityisen ankarasti vaikuttava käsittely, koska se saa aikaan vakavan ja monimutkaisen polymikrobiverenmyrkytyksen, joka johtuu sekä gramnegatiivisista että grampositiivisista bakteereista. CLP-malli on analoginen ihmisillä

esiintyvän puhjenneen umpisuolen tai puhjenneen suolen suhteen.

5 Kokeeseen käytettiin 36 naaraspuolista Balb/C-hiirtä. Hiiret jaettiin satunnaisesti yhteen kolmesta ryhmästä, jotka kukin sisälsivät 12 hiirtä. Kahta ryhmää käsiteltiin kerran päivässä kolmen päivän ajan ennen CLP:tä injektoimalla niihin i.p. joko 25 mg/kg PdG:tä tai pelkkää kantaja-ainetta. Yhdelle ryhmälle suoritettiin CLP-menettely mutta sille 10 ei suoritettu mitään muuta käsittelyä. Elossa pysymistä seurattiin 60 päivän ajan CLP:n jälkeen.

Shokki havaittiin molemmissa kontrolliryhmistä (kantaja-aine ja käsittelemätön ryhmä) 18 - 24 tuntia CLP:n jälkeen. 15 Ainoastaan yksi kontrollieläin jäi henkiin pidemmäksi kuin 72 tuntia eikä yksikään kontrollieläimistä elänyt 100 tuntia pitempään. Kaikki PdG:lla käsitellyt hiiret olivat elossa 72 tuntia CLP:n jälkeen. Yksi eläin kuoli 3. päivänä ja toinen 4. päivänä. Jäljellä olevat eläimet (10/12 eli 83 %) 20 pysyivät elossa 60 päivän tarkastelujakson ajan.

Esimerkki 74: N<sup>2</sup>,3',5'-tripalmitoyylideoksiguanosiini edistää eloonjäämistä bakteeri-endotoksiinilla käsitellyissä eläimissä

25 Endotoksiini on gramnegatiivisten bakteerien solunseinässä esiintyvä lipopolysakkaridi. Endotoksiini (LPS) on voimakas tulehdusstimulaattori, jonka haitalliset vaikutukset johtuvat sytokiinien, leukotrieenien ja muiden tulehdusvälittäjä-aineiden synteessin käynnistymisestä. LPS on sairauteen 30 myötävaikuttavana tekijänä ei ainoastaan bakteeri-infektioissa vaan myös useissa eri taudeissa, joissa bakteeri-infektiota ei välttämättä esiinny, koska endotoksiini voi siirtyä suolen seinämän läpi verenkiertoon. Endotoksiinia esiintyy itse asiassa normaalisti suolesta maksaan 35 johtavassa porttilaskimossa, mutta siirtyminen voimistuu potilailla, jotka ovat saaneet vamman, shokin, suolistoischemian ja palovammoja, sekä etanolin nauttimisen jälkeen.

Suolistoperäisen LPS:n katsotaan aiheuttavan useita erilaisia maksasairauksia, joita ovat virushepatiitti ja alkoholihepatiitti, maksan siirron jälkitaudit ja maksavauriot, jotka liittyvät ravinnon antamiseen kokonaan parenteraalisesti. PdG:n hyödyllinen aktiivisuus LPS:n antamisen jälkeen on osoituksena tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden anti-inflammatorisesta aktiivisuudesta.

Kokeessa, jonka tarkoituksena oli tutkia N<sup>2</sup>,3',5'-tripalmitoyylideoksiguanosiinin (PdG) vaikutusta endotoksiinilla käsiteltyihin eläimiin, jaettiin 42 naaraspuolista Balb/C-hiirtä kolmeen ryhmään, joista kukin sisälsi 14 eläintä. Kullekin ryhmälle annettiin yksi 100 µg:n suuruinen Salmonella typhimurium -LPS-annos (5 mg/kg). Kahta ryhmistä käsiteltiin ensin kerran päivässä kolmen päivän ajan ja niille annettiin tämän jälkeen LPS:ää injektoimalla tätä intraperitoneaalisesti käyttäen joko 25 mg/kg PdG:tä tai pelkkää kantaja-ainetta. Kolmannelle ryhmälle ei suoritettu mitään esikäsitteilyä. Eläinten henkiinjäämistä seurattiin 21 päivää LPS-annoksen antamisen jälkeen.

Ryhmässä, jolle annettiin ainoastaan LPS:ää (ei esikäsitteilyä), oli 86 % eläimistä (12/14) kuollut kolmanteen päivään mennessä mutta jäljellä olevat 2 eläintä (14 %) pysyivät elossa 21 päivän tarkastelujakson loppuun asti. Kaikki niistä eläimistä, joille annettiin LPS:ää ynnä kantaja-ainetta, olivat kuolleet 3. päivään mennessä. Kaikki PdG:llä käsitellyt eläimet pysyivät elossa tarkastelujakson loppuun asti ja ne näyttivät toipuneen täydellisesti.

Tämä koe osoittaa PdG:n merkittävää aktiivisuutta bakteeri-endotoksiinin toksisia vaikutuksia vastaan ja tästä syystä se merkitsee sitä, että PdG:llä ja muilla tämän keksinnön mukaisilla yhdisteillä on potilasta hyödyttävä aktiivisuus endotoksiiniin liittyvissä sairaustiloissa sekä yleensä tulehdussairauksissa.

Esimerkki 75: N<sup>2</sup>,3',5'-tripalmitoyylideoksiguanosiini (PdG) moduloi sytokiinien tulehduksellista aktiivisuutta

Tulehdukselliset sytokiinit, joita ovat kasvainkuoliotekijä alfa (TNF-alfa) ja interferonigamma (IFN-gamma), osallistuvat useiden eri tulehdussairauksien käynnistymiseen ja jatkumiseen. Jos näiden sytokiinien pitoisuuksia kyettäisiin pienentämään, niin tästä olisi hyötyä tautitilojen lievittämisessä. Tähän kykenevä aine on kliinisesti käyttökelpoinen sairauksissa, kuten reumaattisessa nivel-

5 tulehduksessa, tulehduksellisessa suolistosairaudessa ja multipeliskleroosissa sekä sairaustiloissa, jotka liittyvät endotoksemiaan tai altistumiseen muille mikrobiperäisille

10 tulehdusärsykeille.

Endotoksiini (LPS), joka on gramnegatiivisten bakteerien soluseinämän komponentti, on tulehdusärsyke, jonka vaikutuksesta tulehdukseen liittyvien sytokiinien, kuten TNF-alfan ja IFN-gamman, pitoisuudet kohoavat silmiinpistävästi. Näiden endogeenisesti vapautuvien tulehduksellisten aineiden

15 vaikutukset voivat olla erittäin haitallisia ja ne myötävaikuttavat LPS:n aikaansaamaan kudusvaurioon ja kuolevuuteen. Nämä sytokiinit toimivat myös välikappaleina muiden tulehdusärsykeiden käynnistämissä tulehdusvasteissa.

20

Kuusikymmentäkolme naaraspuolista Balb/C-hiirtä jaettiin satunnaisesti yhteen kolmesta ryhmästä. Yhdessä ryhmässä oleville eläimille annettiin yksi päivittäinen annos N<sup>2</sup>,3',5'-tripalmitoyylideoksiguanosiinia (PdG) 25 mg/kg i.p.), kun taas toista ryhmää käsiteltiin kerran päivässä yhdellä annoksella PdG:lle käytettyä kantaja-ainetta (kontrolli). Kolmas ryhmä jätettiin käsittelemättä. Neljäntenä päivänä kaikille kolmelle ryhmälle annettiin 100 µg Salmonella typhimuriumin LPS:ää. Seeruminäytteet otettiin juuri ennen LPS:n antamista (t = 0) ja 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16 ja

25

30

35

20 tuntia LPS:n antamisesta. Tämän jälkeen näytteet pakastettiin siihen asti, kunnes ne määritettiin. TNF-alfan ja IFN-gamman pitoisuudet seerumissa määritettiin ELISalla.

Kun LPS:llä käsitellyille eläimille annettiin PdG:tä, tämä vähensi merkittävästi TNF-alfan pitoisuuksien nousua verrattuna eläimiin, joille annettiin kantaja-ainetta ja LPS:ää ja eläimiin, joille annettiin pelkästään LPS:ää (taulukko 21). Suurimmat saavutetut pitoisuudet PdG:llä käsitellyissä eläimissä olivat neljä kertaa pienemmät kuin kontrolliryhmissä. IFN-gamma-vasteen heikentyminen oli vielä tätäkin silmiinpistävämpää, ja suurimmat saavutetut pitoisuudet olivat viidestä seitsemään kertaa pienemmät kuin kontrolliarvot (taulukko 22). Käyrän alle jäävä pinta-ala (AUC) koko kokeen kestäessä oli merkittävästi pienempi eläimillä, joita oli käsitelty PdG:lla. PdG rajoitti myös LPS:n aikaansaamaa seerumin interleukiini-1-alfan ja interleukiini-6:n pitoisuuksien nousua.

Alla olevissa taulukoissa ovat sytokiininikonsentraatiot pikogrammoja millilitrassa. Arvo 0 tarkoittaa, että sytokiininipitoisuudet ovat määrittämisen havaitsemisrajan (50 - 100 pg/ml) alapuolella.

Taulukko 21: PdG vähentää LPS:n indusoimaa TNF-alfan muodostumista

Aika LPS:n jälkeen	LPS	LPS + kantaja-aine	LPS + PdG
0 h	0	0	0
2 h	5611 ± 424	5835 ± 232	1509 ± 86
4 h	1082 ± 175	1283 ± 130	529 ± 141
6 h	517 ± 40	599 ± 58	486 ± 63
8 h	195 ± 55	281 ± 62	73 ± 50

Taulukko 22: PdG vähentää LPS:n indusoimaa interferoni-gamman muodostumista

Aika LPS:n jälkeen	LPS	LPS + kantaja-aine	LPS + PdG
0 h	0	0	0
2 h	0	128 ± 128	0
4 h	1375 ± 344	1779 ± 298	825 ± 248
8 h	9446 ± 2796	13029 ± 2857	2129 ± 454
10 h	5429 ± 1259	8375 ± 2785	911 ± 279
12 h	496 ± 236	1054 ± 232	0
16 h	107 ± 107	482 ± 241	0
20 h	0	0	0

Tulehdukselliset sytokiinit liittyvät useisiin sairaus-tiloihin; tässä kokeessa osoitettu pienentynyt sytokiinien muodostuminen tukee sitä käsitystä, että tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat käyttökelpoisia sellaisten tulehdussairauksien hoidossa, joissa nämä sytokiinit tai endotoksiini ovat myötävaikuttavana tekijänä patogeneesissä.

Esimerkki 76: N<sup>2</sup>,3',5'-tripalmitoyylideoksiguanosiinin (PdG:n) vaikutus kantasolujen mobilisoitumiseen

Autologista luuytimen siirtoa (ABMT) on käytetty nopeuttamaan hematopoieettisen toiminnan palautumista suuriin annoksiin perustuvan kemoterapian jälkeen. Tässä menetelmässä poistetaan potilaan omat kantasolut ottamalla potilaasta imulla talteen luuydintä ja siirtämällä solut kemoterapian jälkeen takaisin potilaaseen. Jokin aika sitten useiden sytokiinien on osoitettu "mobilisoivan" kantasoluja luuytimestä perifeeraaliseen verenkiertoon, josta ne voidaan saada vaikeuksitta talteen; näitä kantasoluja käytettäessä on hematopoieettisten solujen siirtyminen saatu tapahtumaan tehokkaammin kuin mitä ABMT:ssä on havaittu tapahtuvan. Tässä keksinnössä on tutkittu N<sup>2</sup>,3',5'-tripalmitoyylideoksiguanosiini:n (PdG) kykyä edistää tällaista kantasolujen mobilisoitumista.

Kuten kuviossa 69 on osoitettu, voi pelkän PdG:n (25 mg/kg) antaminen saada aikaan kantasolujen mobilisoitumisen (on pantava merkille käytetty logaritminen asteikko). Sen vaikutus on myös synergistinen kantasolujen mobilisointiin nykyisin kliinisesti käytettävän kemoterapeuttisen aineen, syklofosfamidin, vaikutuksen kanssa ja se saa aikaan seitsemästä kahdeksaan kertaa suuremman vasteen syklofosfamidille.

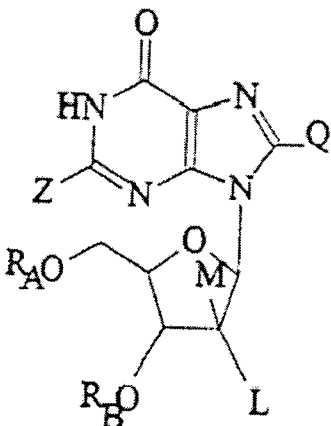
Sen osoittamiseksi, että PdG:n aiheuttama mobilisoituminen tapahtui luuytimen varastopaikoista eikä pernasta (joka voi olla kantasolujen lähteenä hiirellä, vaikkakaan ei tavallisesti ihmisillä), tutkittiin pernan poiston vaikutusta. PdG:n aikaansaama kantasolujen mobilisoituminen tapahtui yhtä tehokkaasti koskemattomiksi jätetyissä hiirissä kuin hiirissä, joilta perna oli poistettu, ja joille hiirille oli samalla annettu tai jätetty antamatta syklofosfamidia. Tämä viittaa siihen, että havaittu PdG:n vaikutus oli todellakin mobilisoituminen luuytimessä sijaitsevista kohdista.

Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat tästä syystä käyttökelpoisia hematopoeettisten kantasolujen ja muiden esiastesolujen mobilisointiin periferaaliseen vereen käytettäväksi luovutettavina soluina luuytimen siirtoon katsoen siihen onko siirto autologinen vai onko siirto tarkoitus suorittaa allogeeniselle vastaanottajalle.

Edellä oleva esitys on tarkoitettu tämän keksinnön kuvaamiseksi mutta ei sen rajoittamiseksi. Tähän keksintöön voidaan tehdä useita muunnelmia ja modifikaatioita sen todellisesta hengestä ja suojapiiristä poikkeamatta.

Patenttivaatimukset

1. Yhden tai useamman yhdisteen tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan käyttö valmistettaessa eläimessä olevaa autoimmuunisairaudesta tai idiopaattisesta tulehdussairaudesta johtuvaa tulehdusta alentavaa lääkevalmistetta, jolla yhdisteellä tai yhdisteillä on kaava



- 10  $R_A$  = H tai karboksyyli-, alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonyl- hapon asyyli-ryhmä, alkyylifosfaatin tai alkyylisulfaatin asyyli-ryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen alkyyliryhmä, ja

- 15  $R_B$  = H tai karboksyyli-, alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonyl- hapon asyyli-ryhmä, alkyylifosfaatin tai alkyylisulfaatin asyyli-ryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen alkyyliryhmä, ja

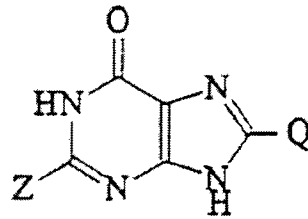
- 20  $Z$  = H, OH, =O tai  $NHR_C$ , jossa  $R_C$  = H tai 2 - 30-hiiliatomisen karboksyylihapon asyyli-ryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen alkyyliryhmä, ja

- 25  $L$  = H tai  $OR_D$ , jossa  $R_D$  = H tai karboksyyli-, alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonyl- hapon asyyli-ryhmä, alkyylifosfaatin tai alkyylisulfaatin asyyli-ryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen alkyyliryhmä, ja

- $M$  = H tai  $OR_E$ , jossa  $R_E$  = H tai karboksyyli-, alkyylifosfoni- tai alkyylisulfonyl- hapon asyyli-ryhmä, alkyylifosfaatista tai alkyylisulfaatista muodostuva ryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen

alkyyliryhmä, edellyttäen, että vähintään toinen ryhmistä L ja M on H, ja

- Q = H, halogeeni,  $\text{NHR}_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, S on sitoutunut kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän tyypeen liittyy silloin H,  $\text{SR}_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, O on sitoutunut kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän tyypeen liittyy silloin H, tai  $\text{OR}_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, ja
- aldoosiryhmän 2'- ja 3'-asemien välillä esiintyy mahdollisesti C-C-sidos, tai,

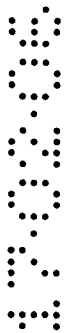


- Z =  $\text{NHR}_C$ , jossa  $R_C$  = H tai 2 - 30-hiiliatomisen karboksyylihapon asyyli- tai alkyyliryhmä tai 2 - 30-hiiliatominen alkyyliryhmä, ja

- Q = H, halogeeni,  $\text{NHR}_F$ , jossa  $R_F$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, S on sitoutunut kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän tyypeen liittyy silloin H,  $\text{SR}_G$ , jossa  $R_G$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä, O on sitoutunut kaksoissidoksella hiileen, jossa tapauksessa tämän vieressä oleva hiili-typpi-kaksoissidos on yksinkertainen sidos ja tähän tyypeen liittyy silloin H, tai  $\text{OR}_H$ , jossa  $R_H$  on H tai 1 - 10-hiiliatominen asyyli- tai alkyyliryhmä.

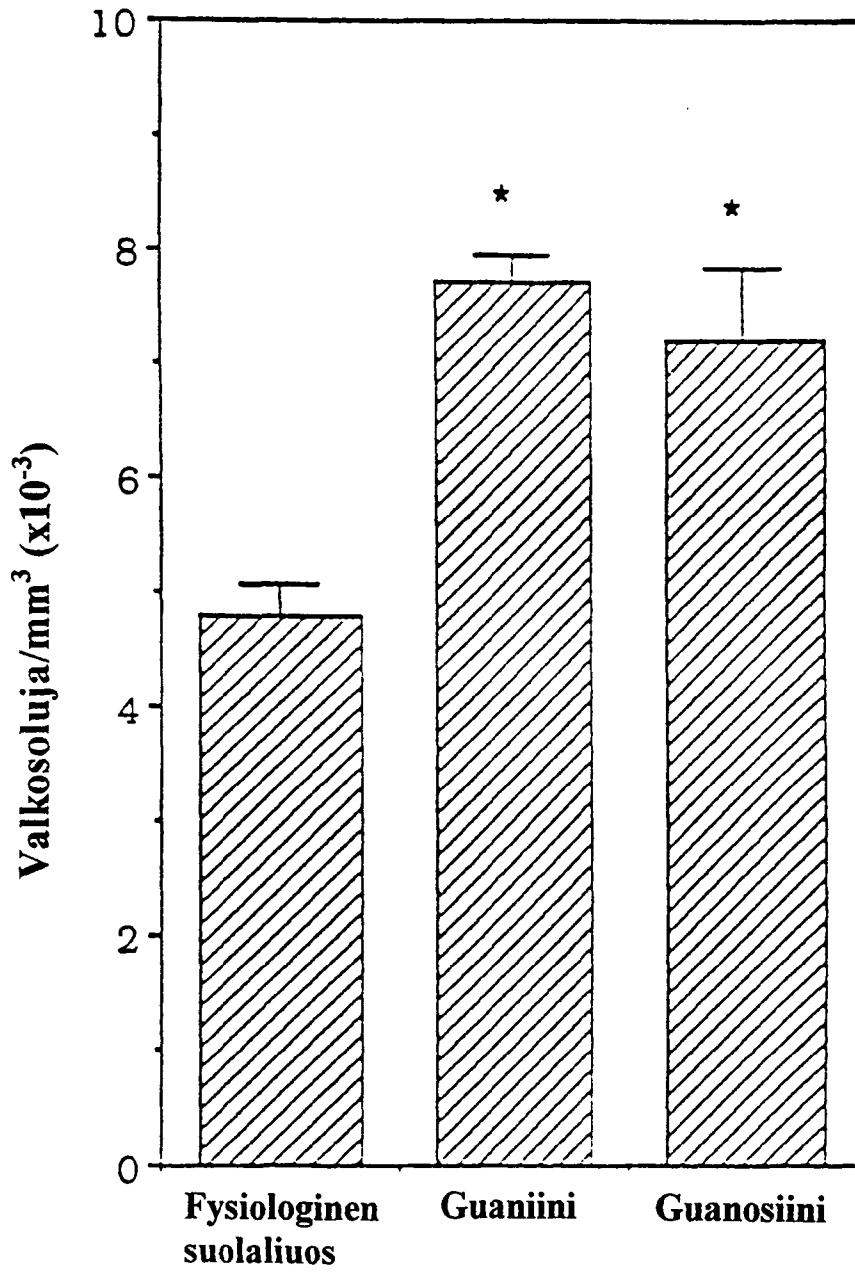
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen käyttö, **tunnettu** siitä, että mainittu tulehdus johtuu autoimmuunisairaudesta.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen käyttö, **tunnettu** siitä, että mainittu yhdiste on asyylijohdannainen.
- 5 4. Minkä tahansa patenttivaatimuksista 1 - 3 mukainen käyttö, **tunnettu** siitä, että mainittu yhdiste on tripalmi-  
toyylideoksiguanosiini.



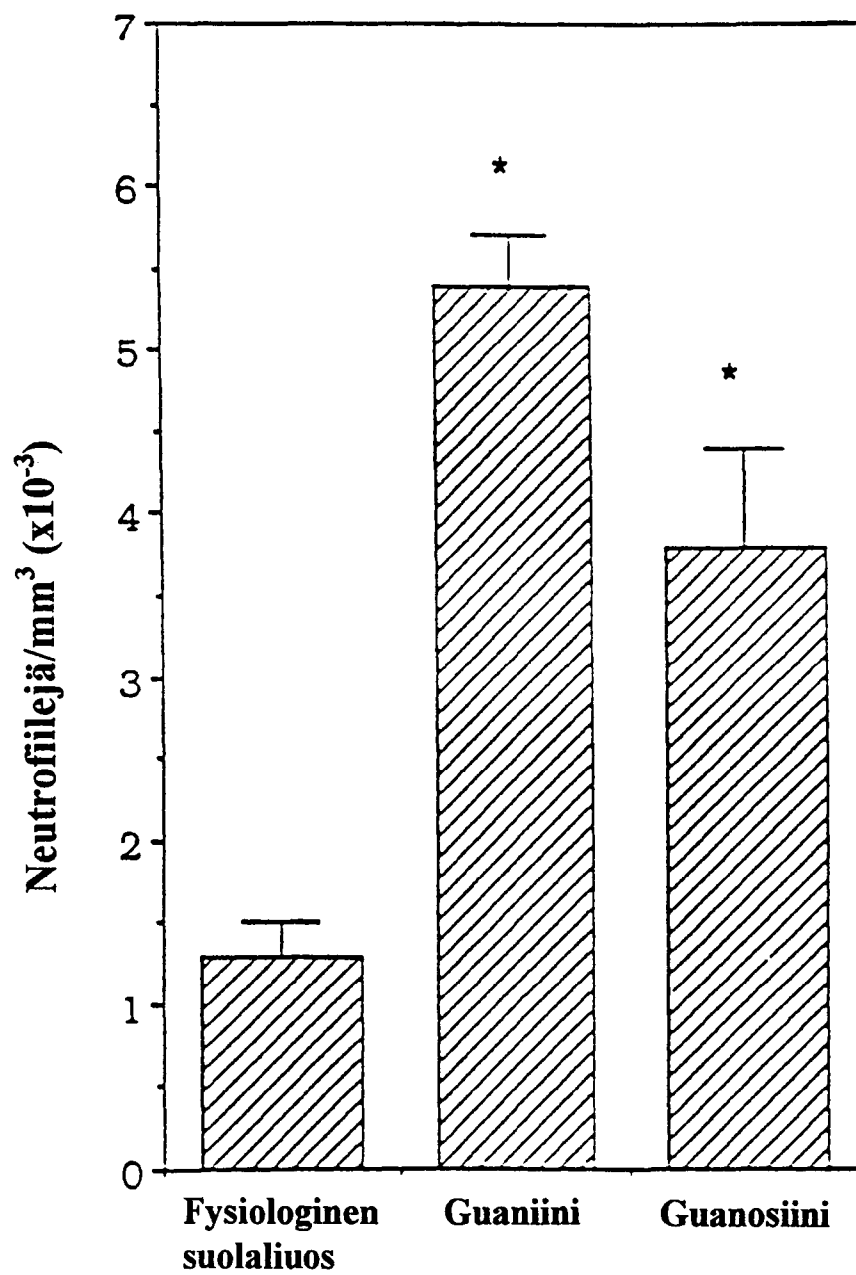


Kuvio 2

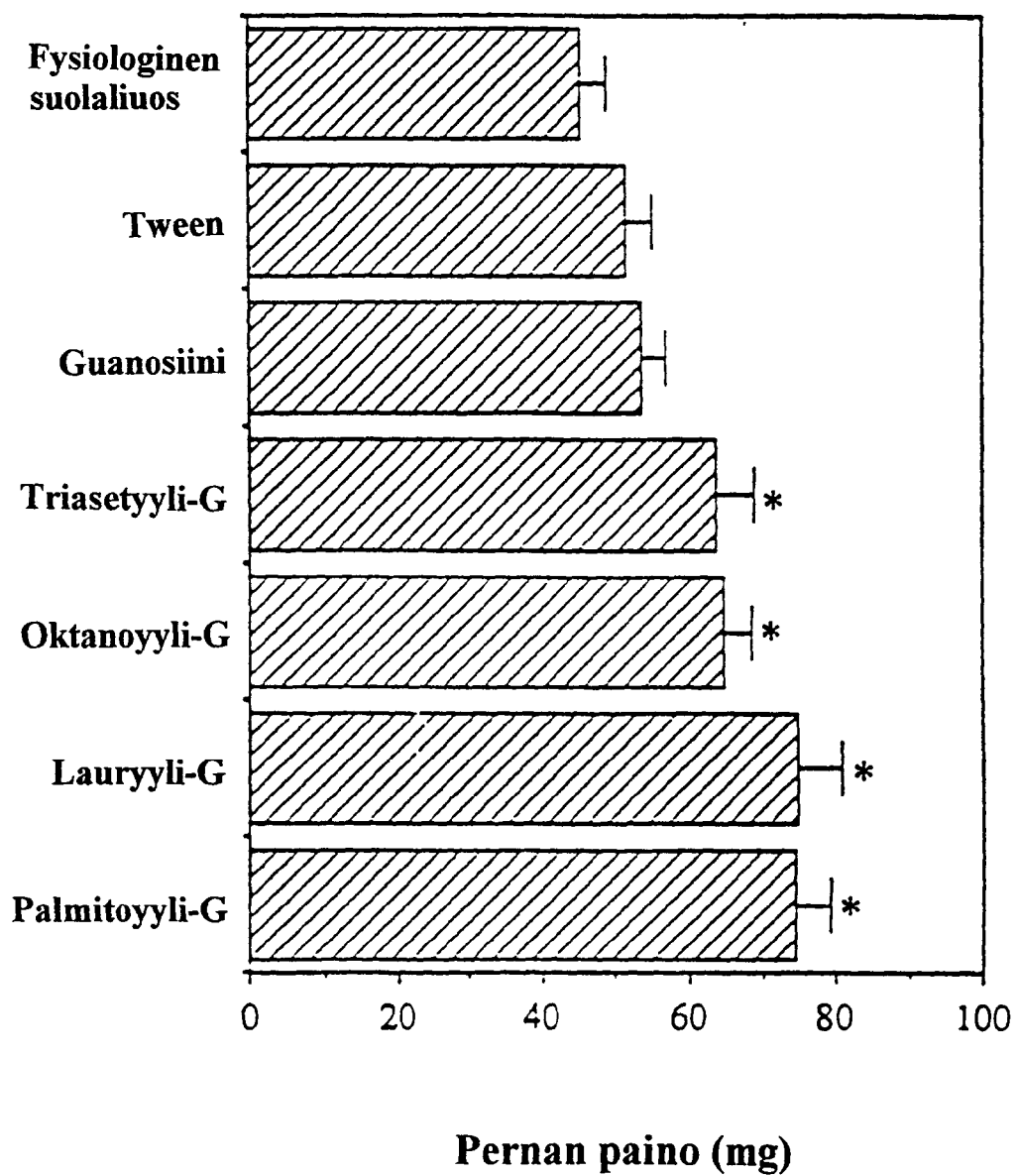


400573000

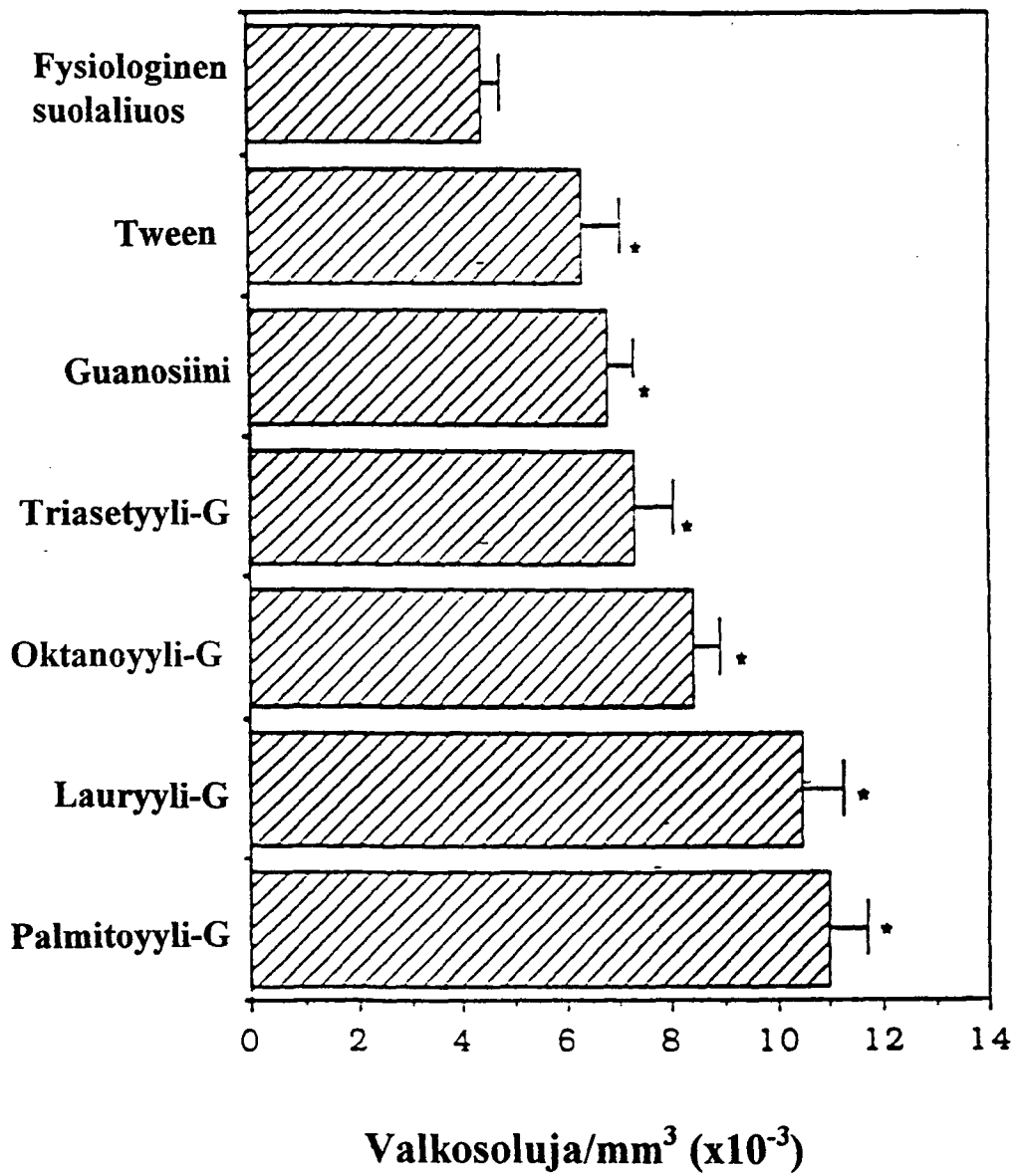
Kuvio 3



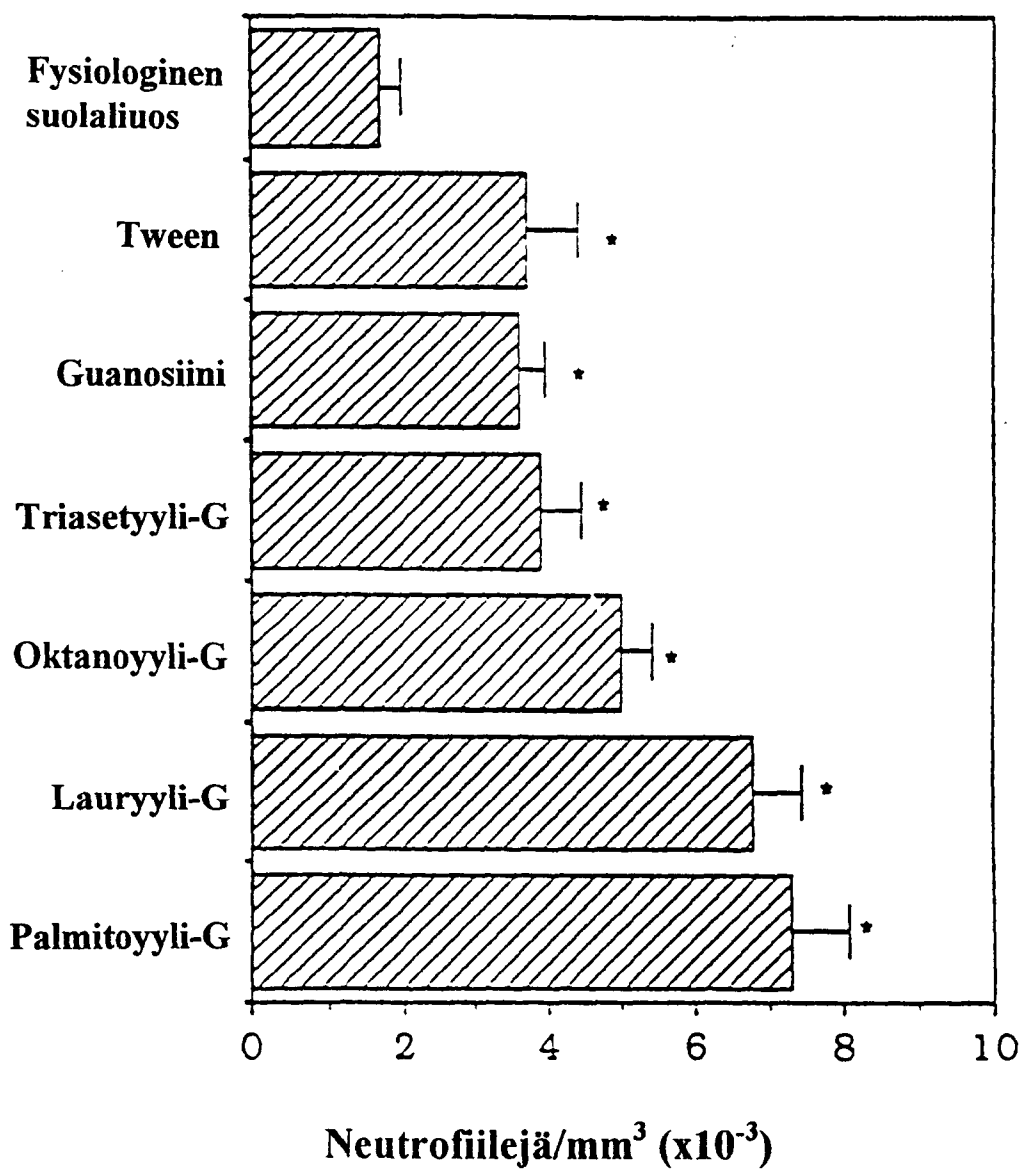
Kuvio 4



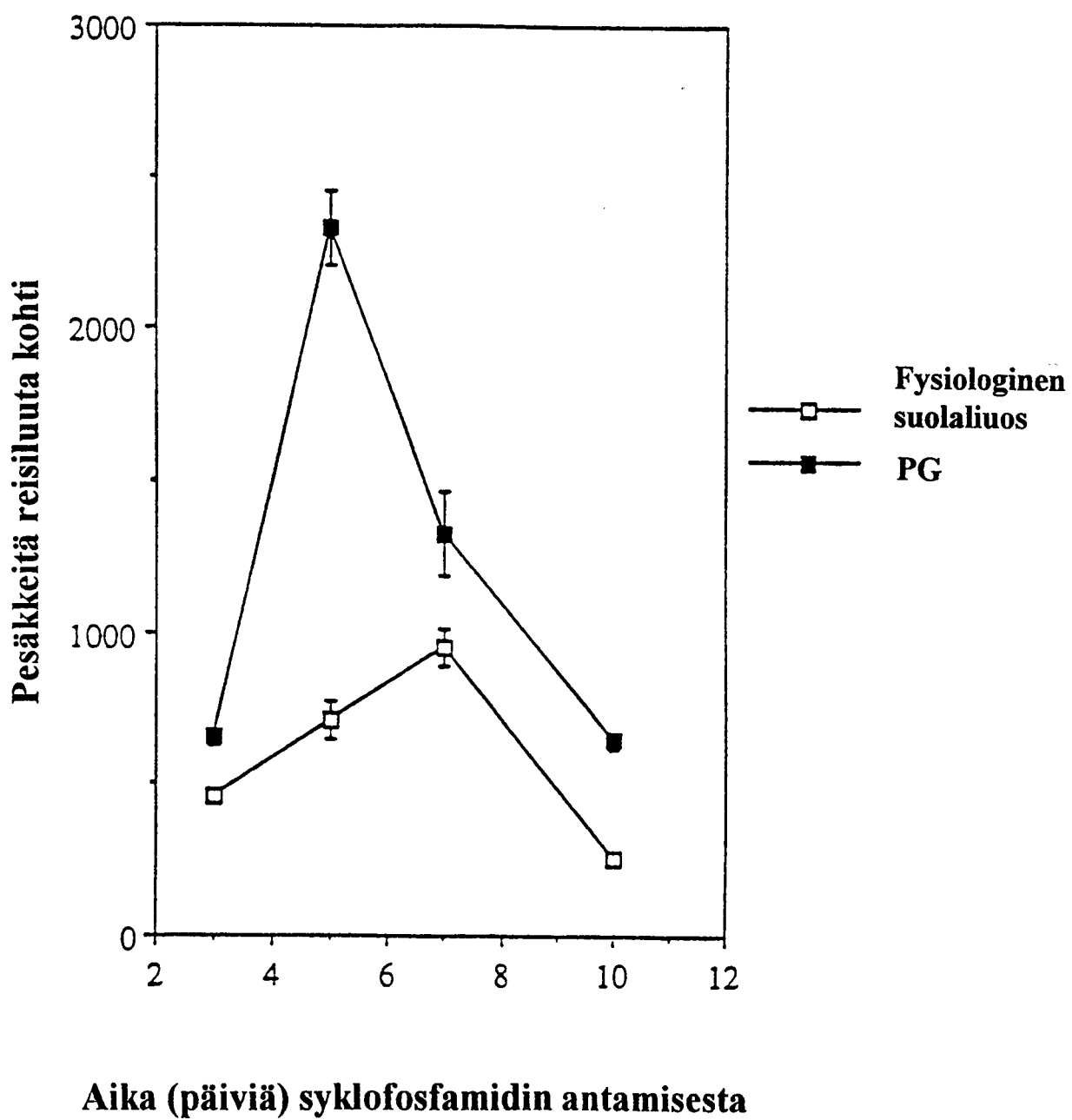
Kuvio 5



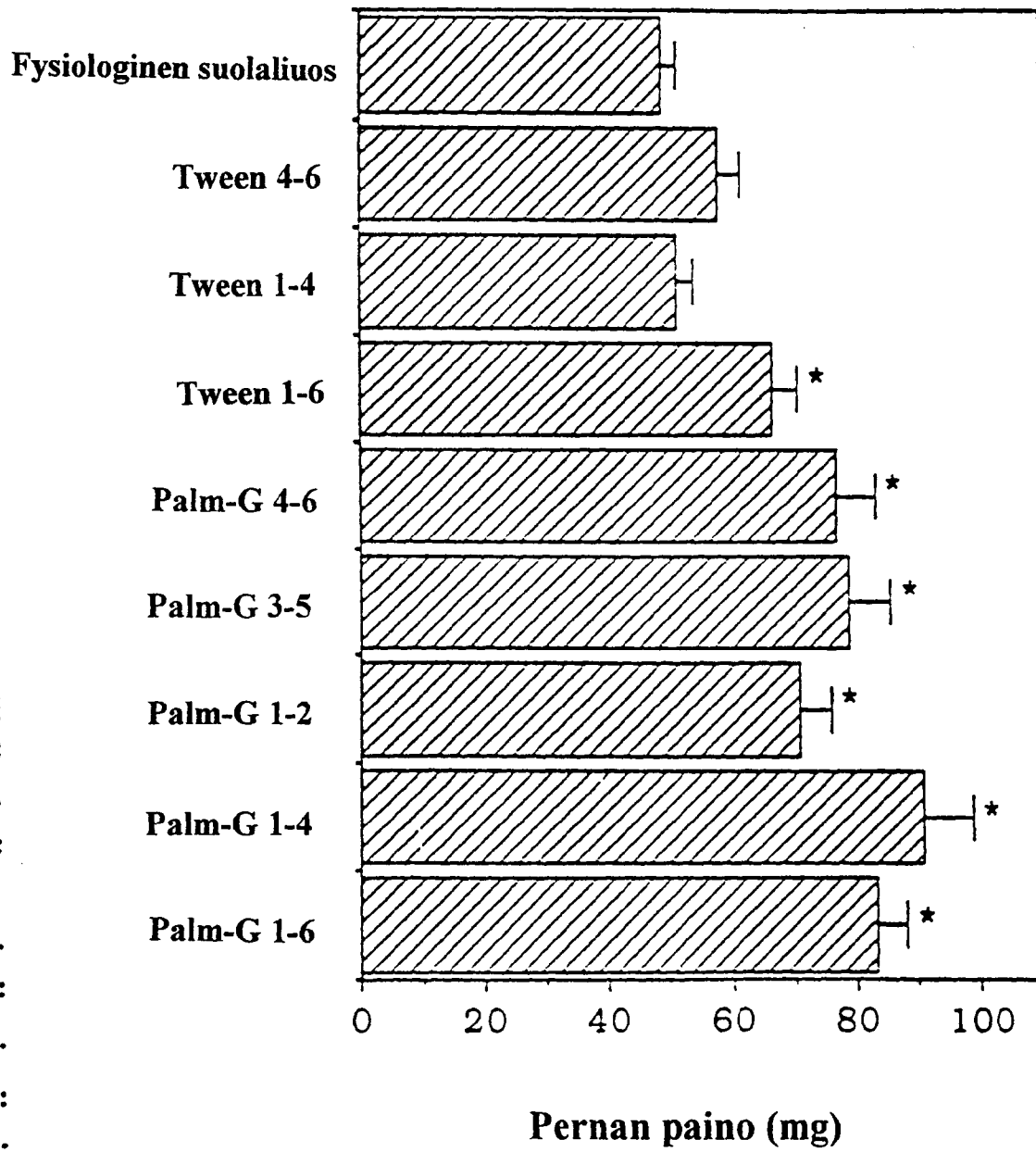
Kuvio 6



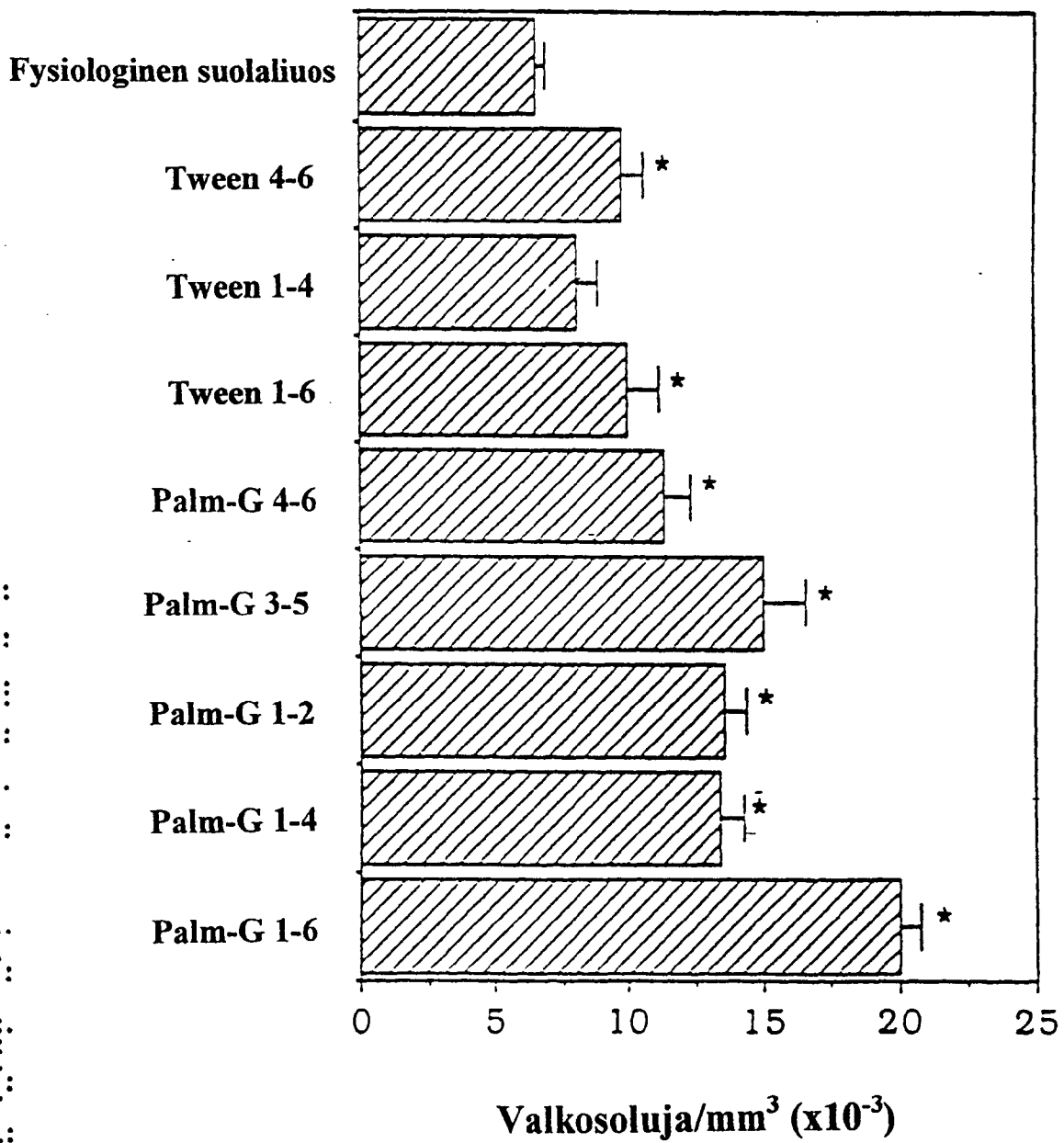
Kuvio 7



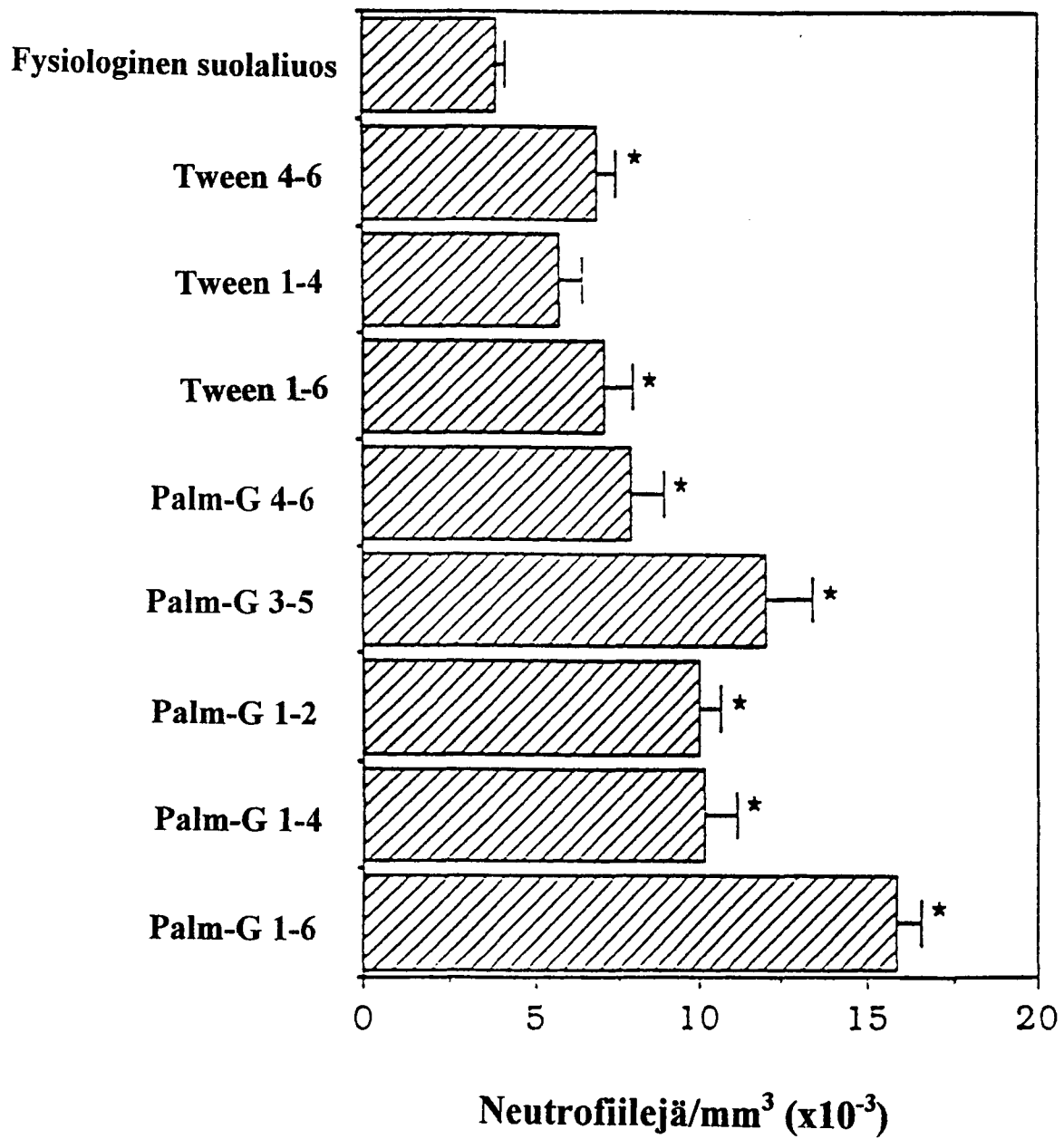
Kuvio 8



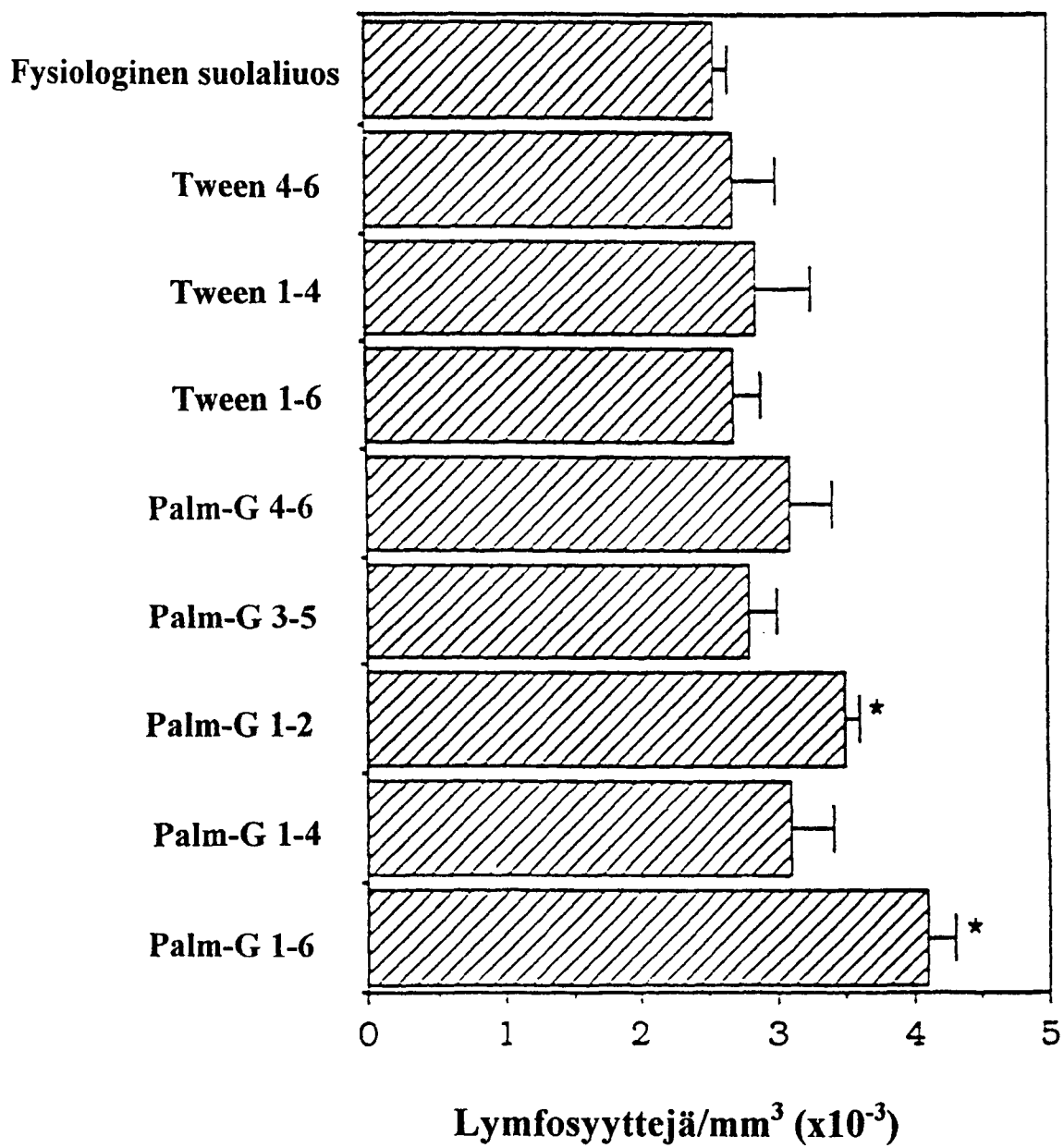
Kuvio 9



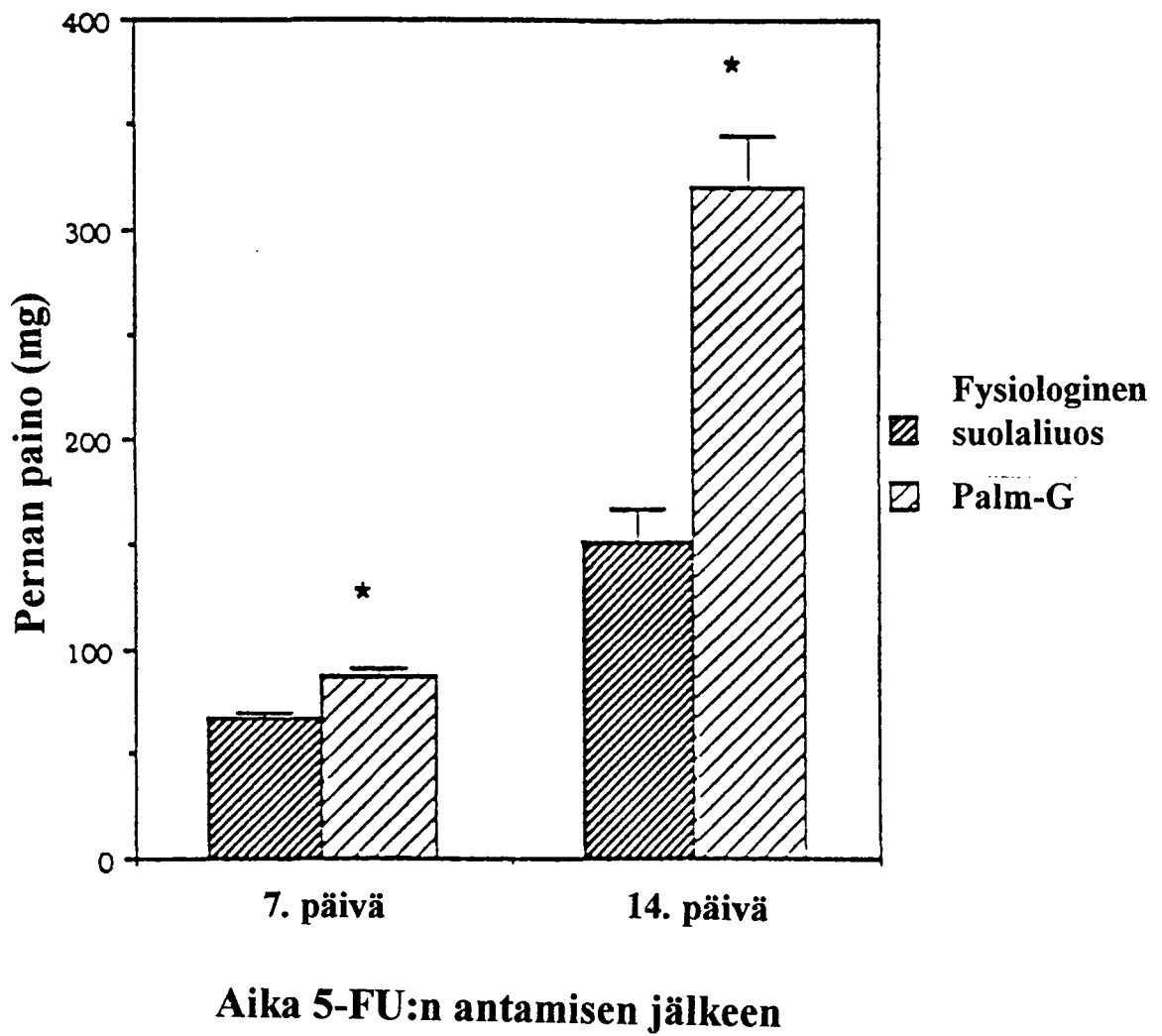
Kuvio 10



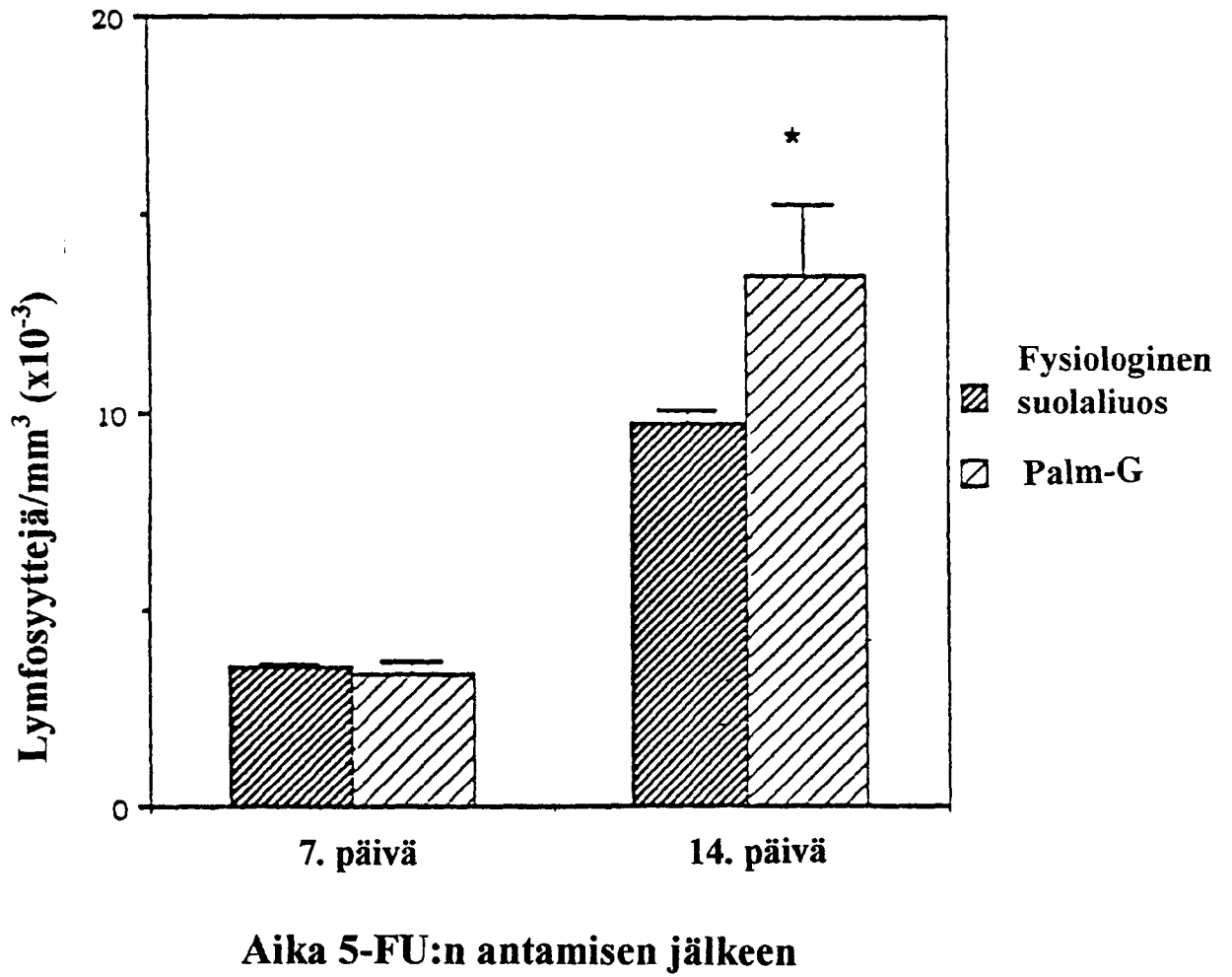
Kuvio 11



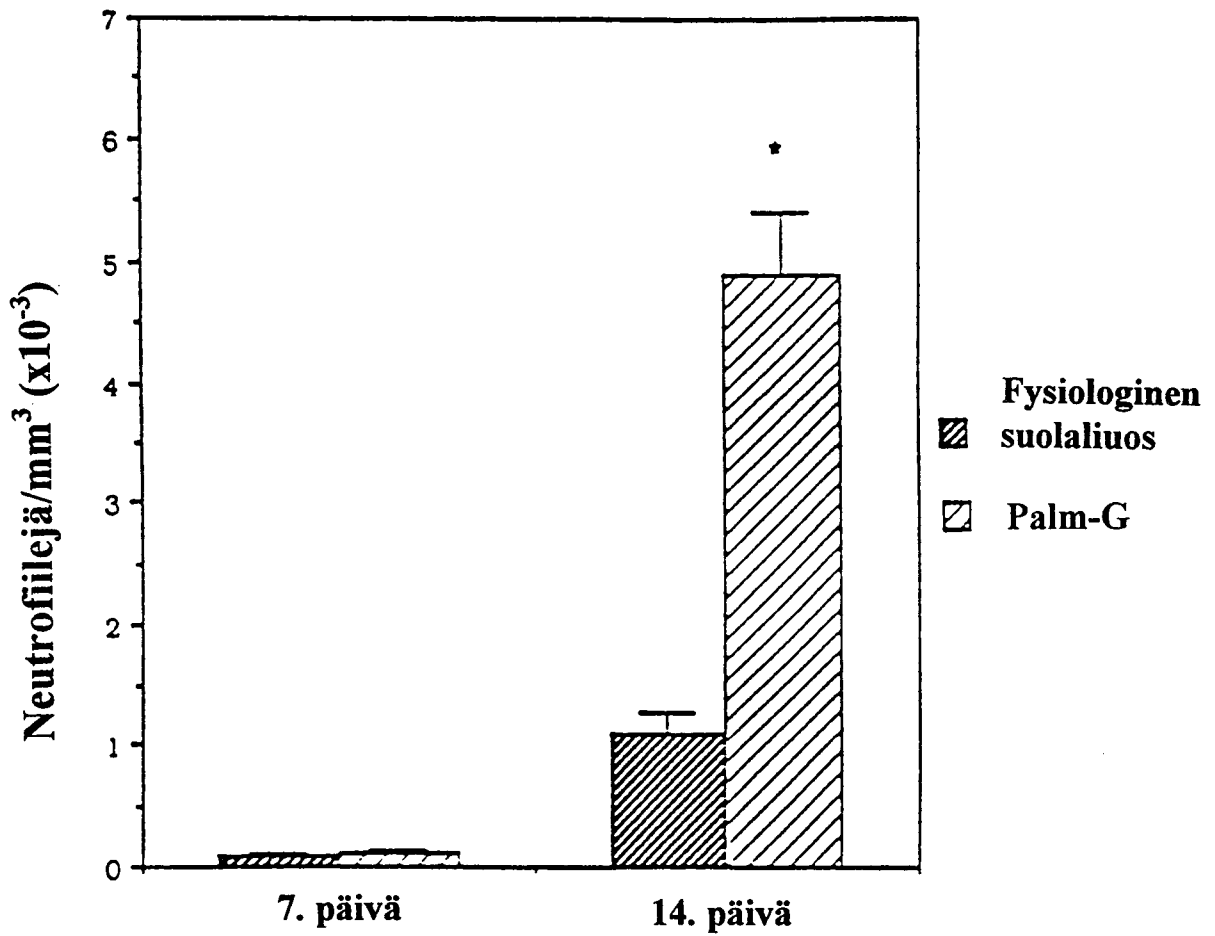
Kuvio 12



Kuvio 13

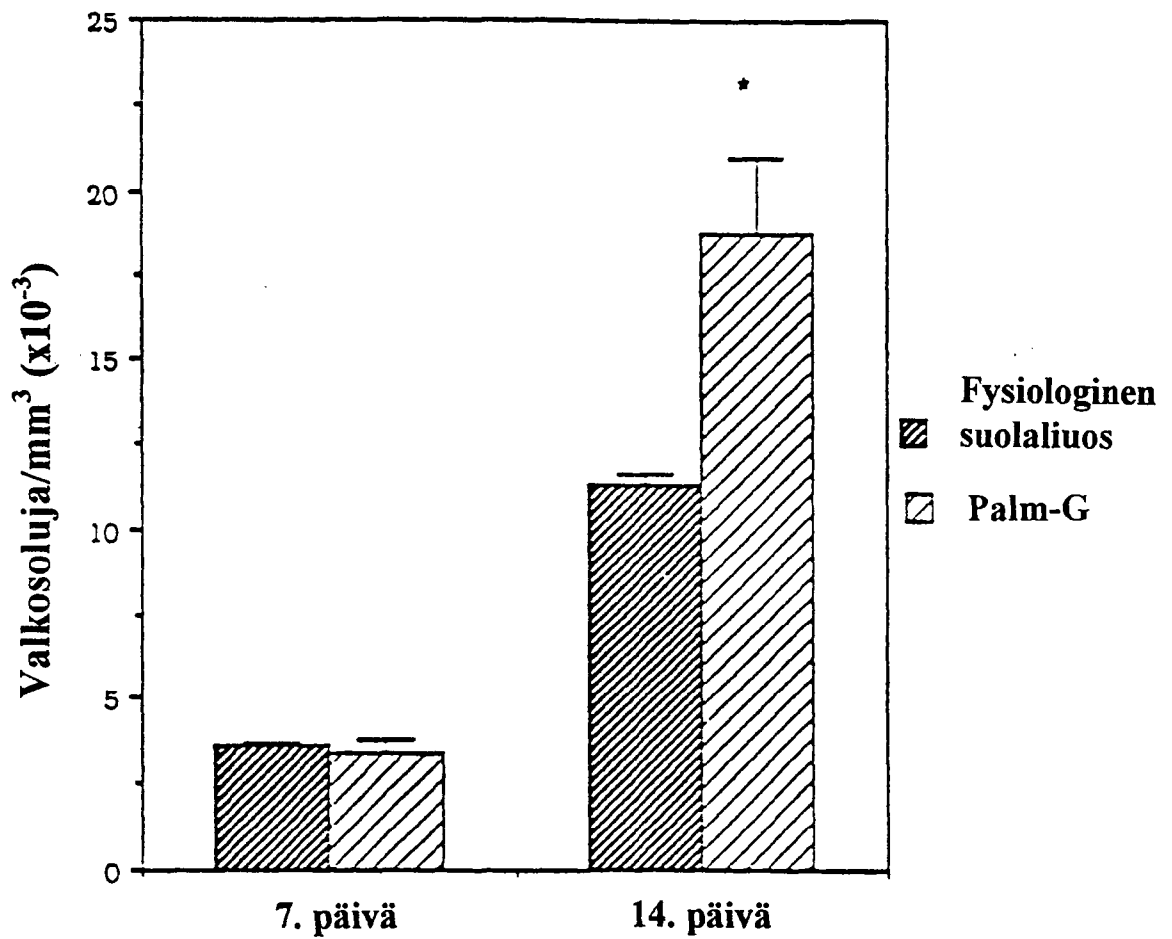


Kuvio 14



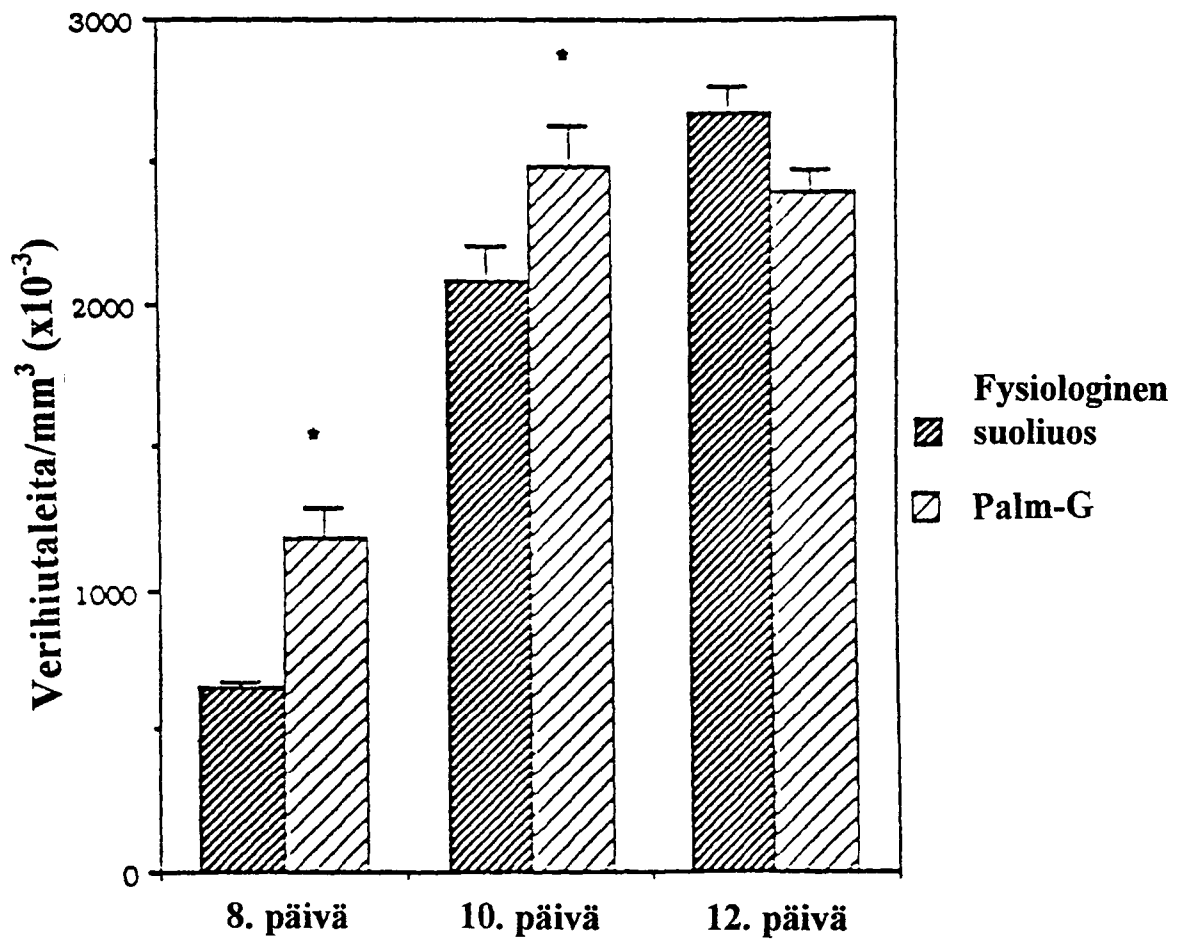
Aika 5-FU:n antamisen jälkeen

Kuvio 15



Aika 5-FU:n antamisen jälkeen

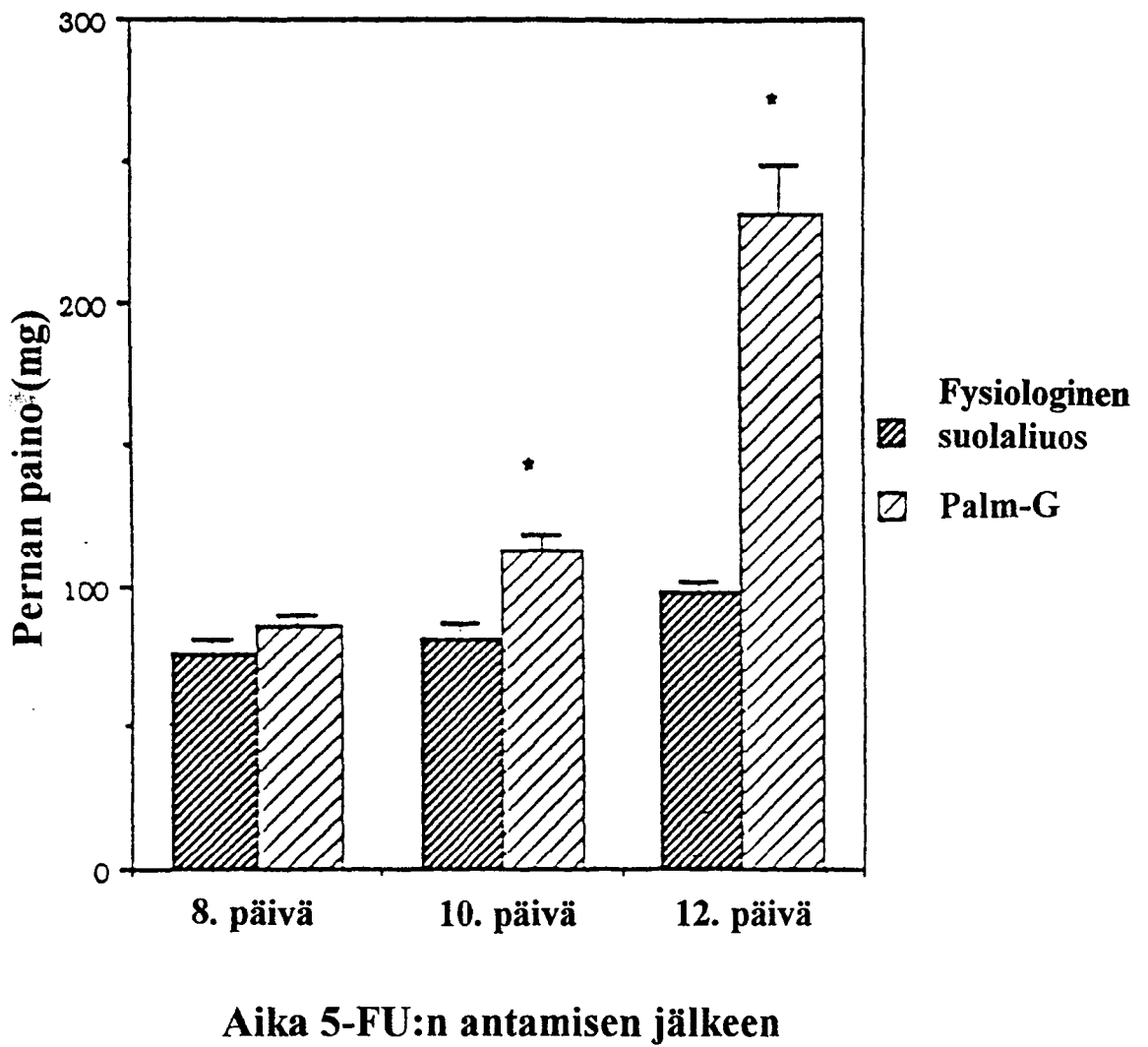
Kuvio 16



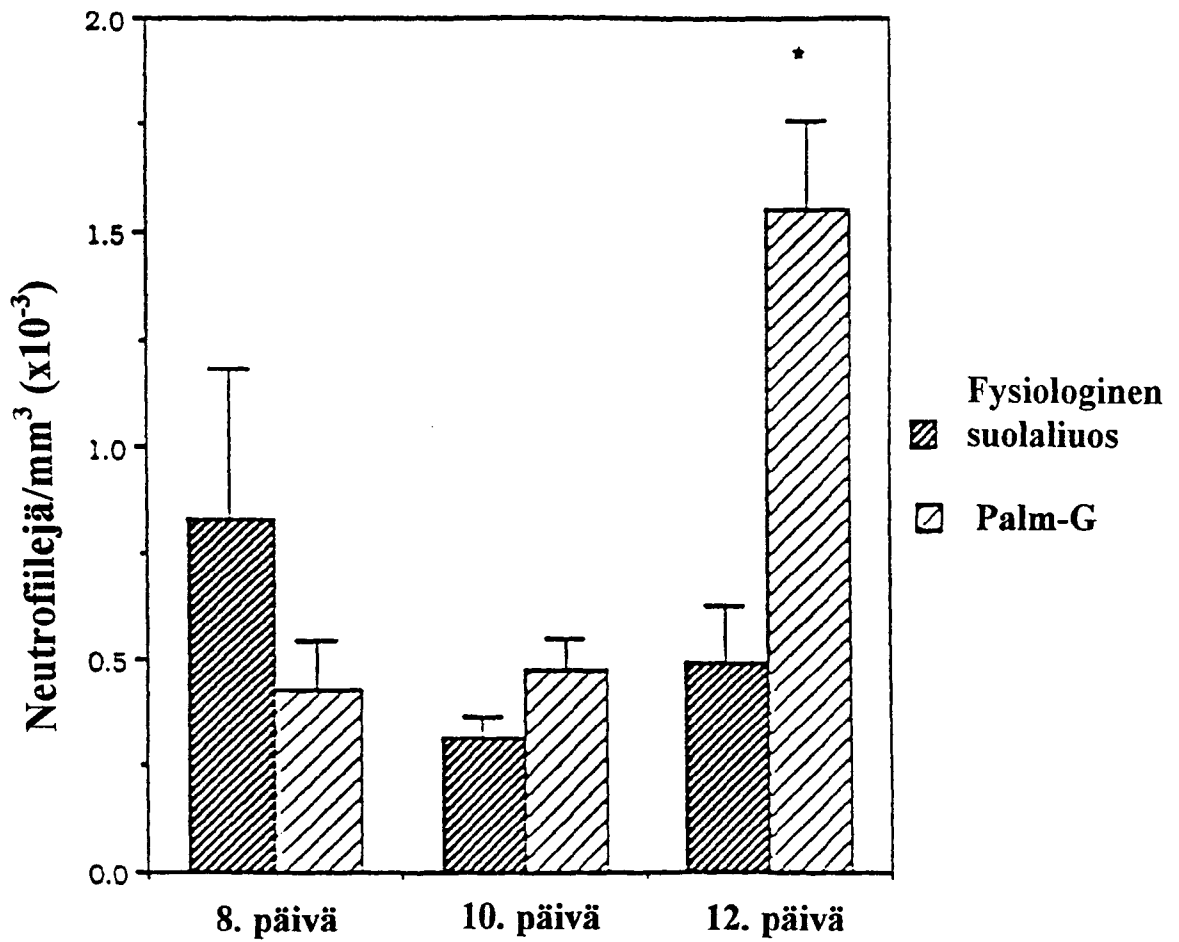
Aika 5-FU:n antamisen jälkeen

41065  
5300

Kuvio 17

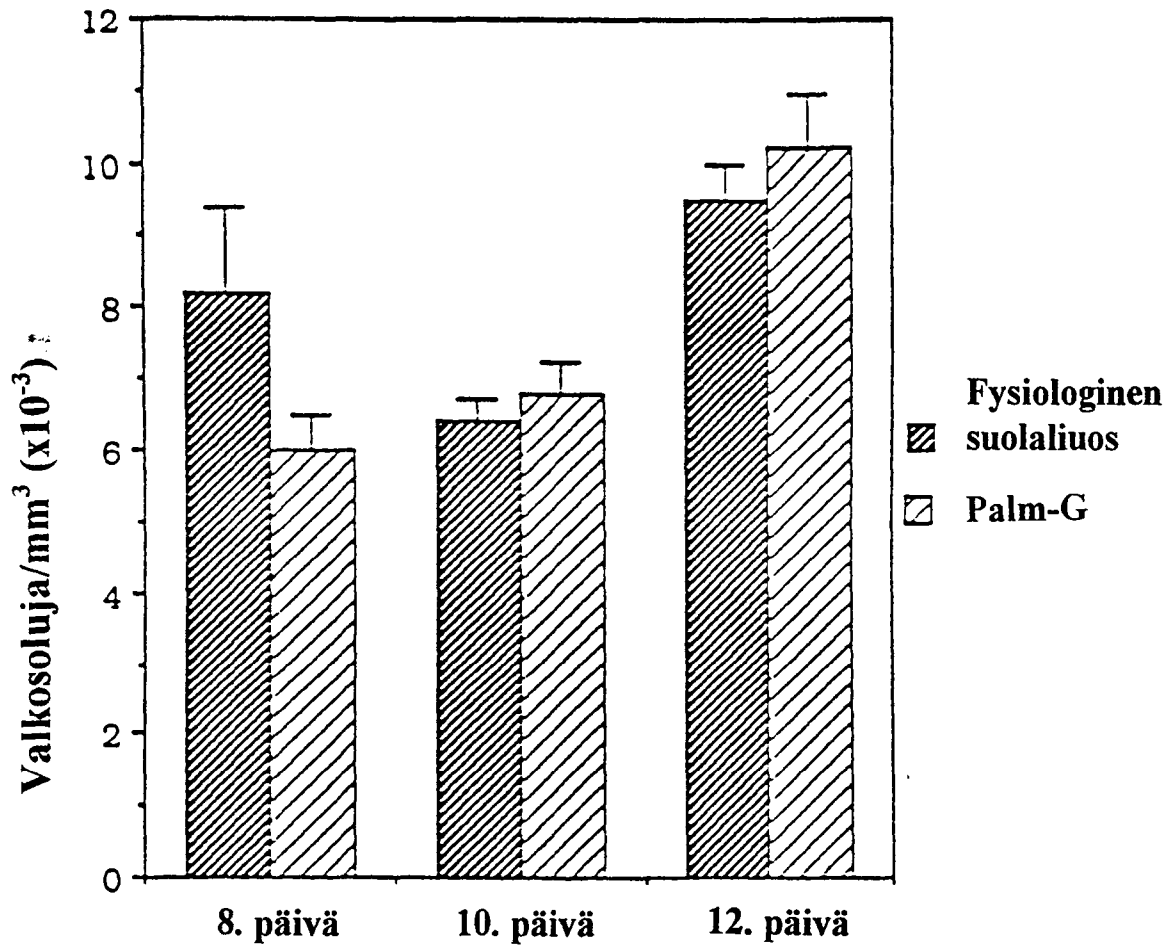


Kuvio 18



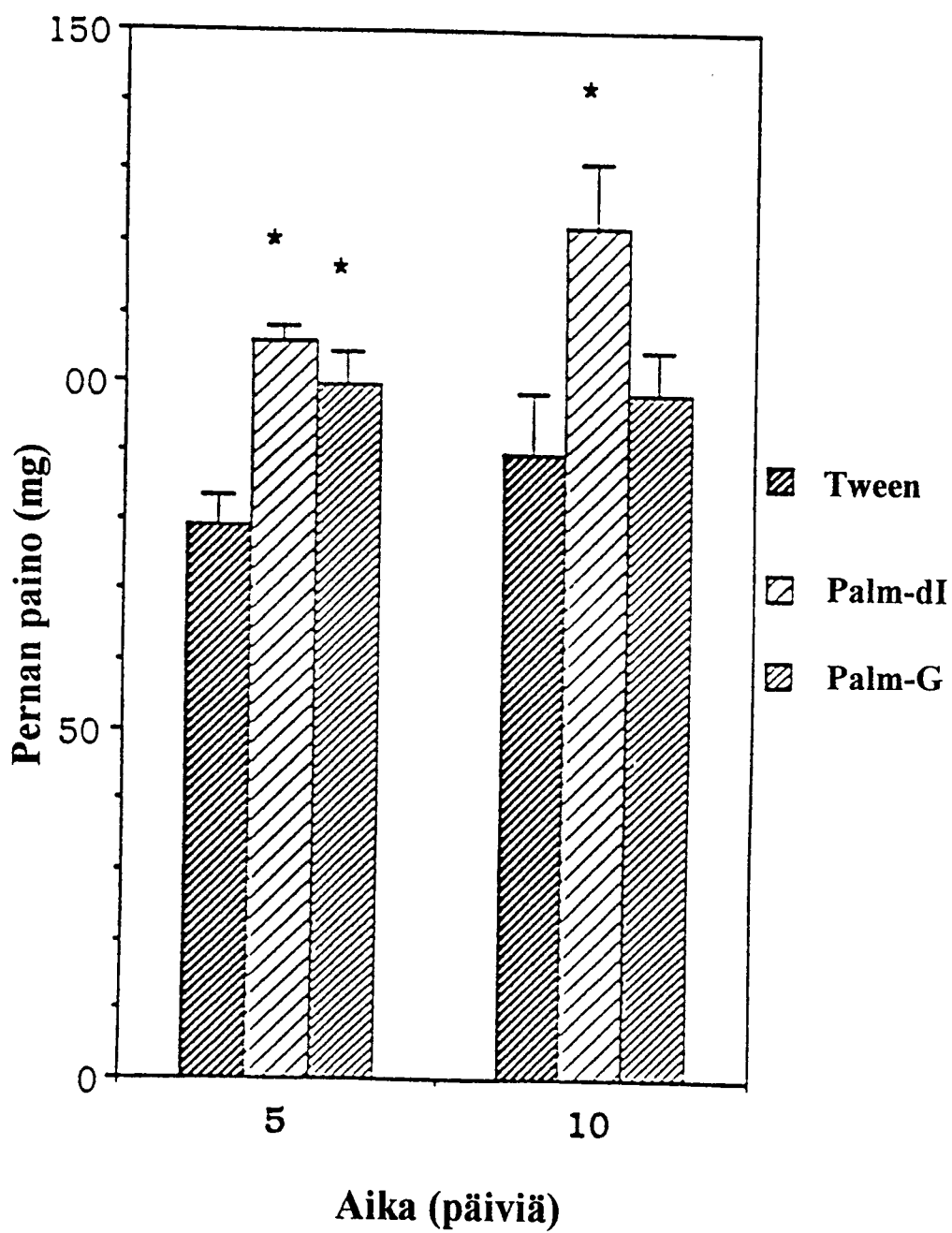
Aika 5-FU:n antamisen jälkeen

Kuvio 19



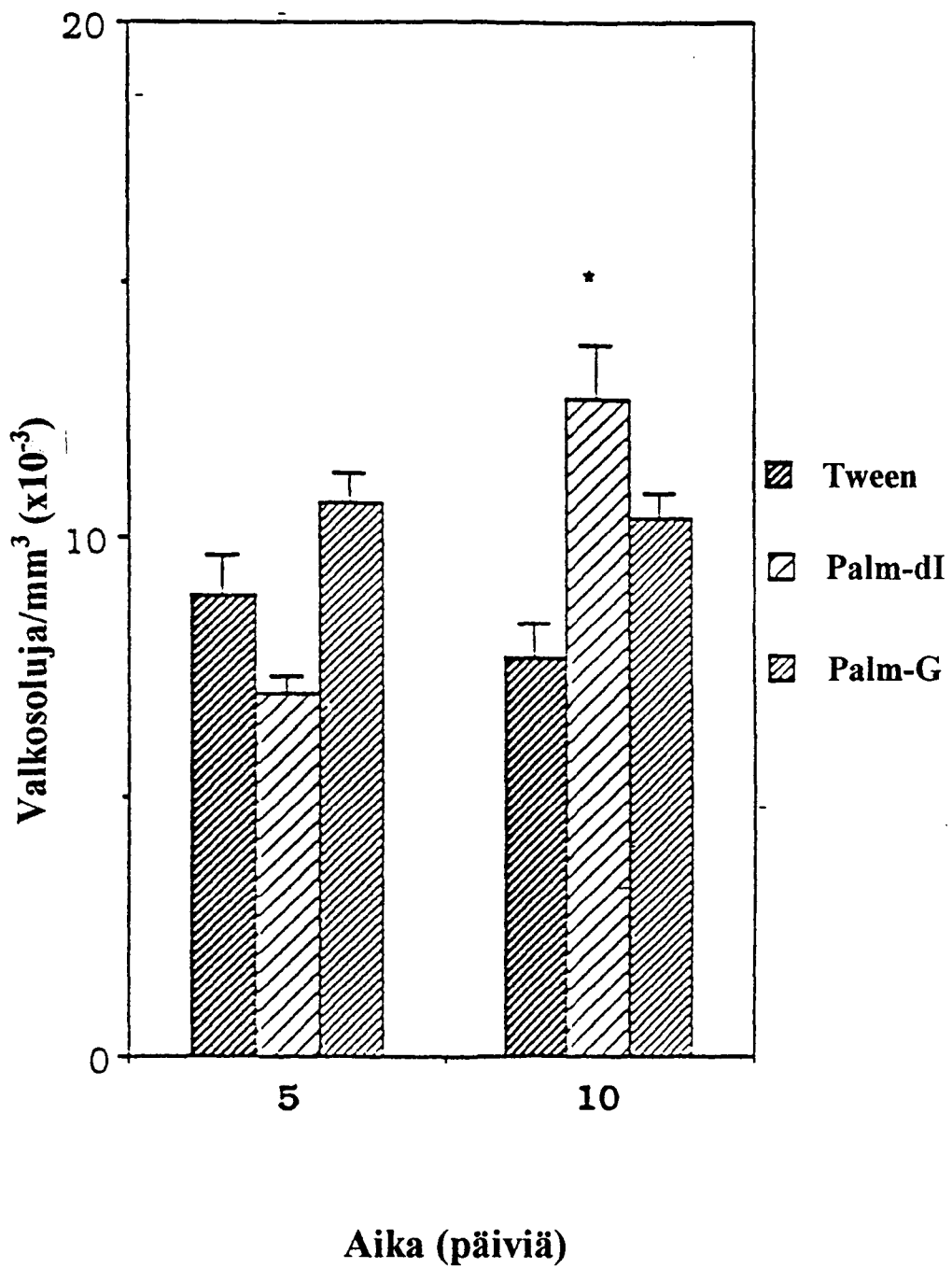
Aika 5-FU:n antamisen jälkeen

Kuvio 20

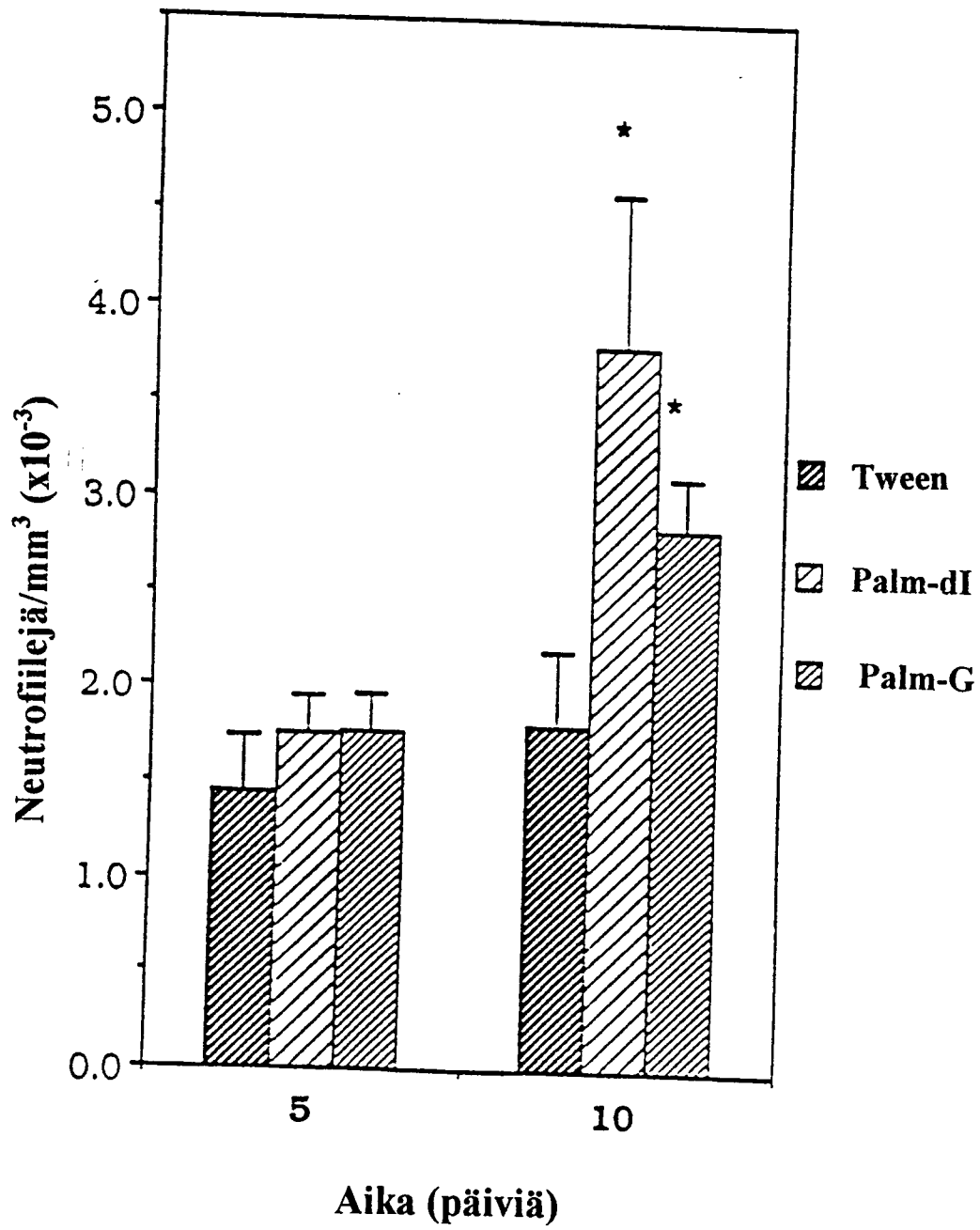


11045 57038

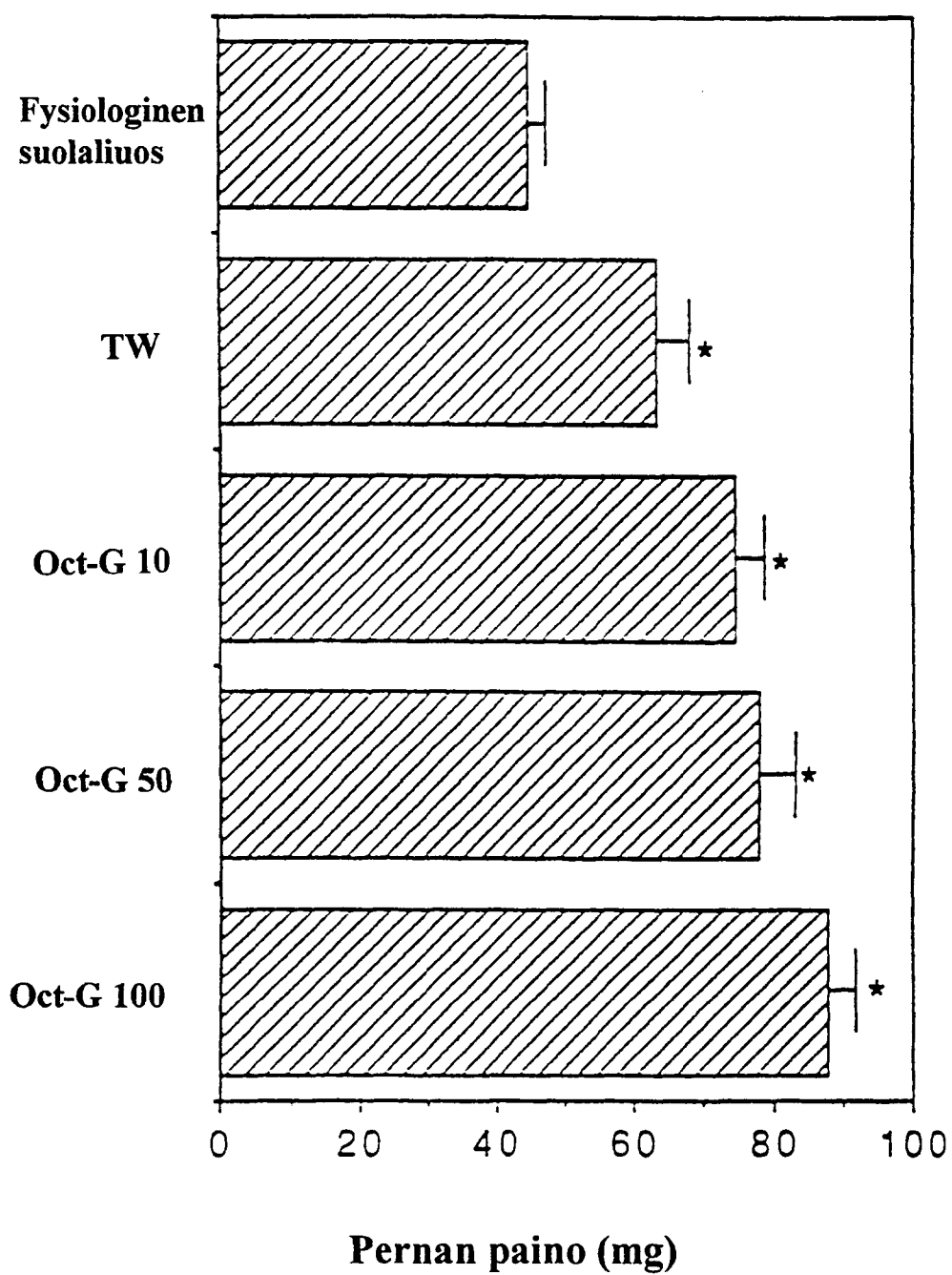
Kuvio 21



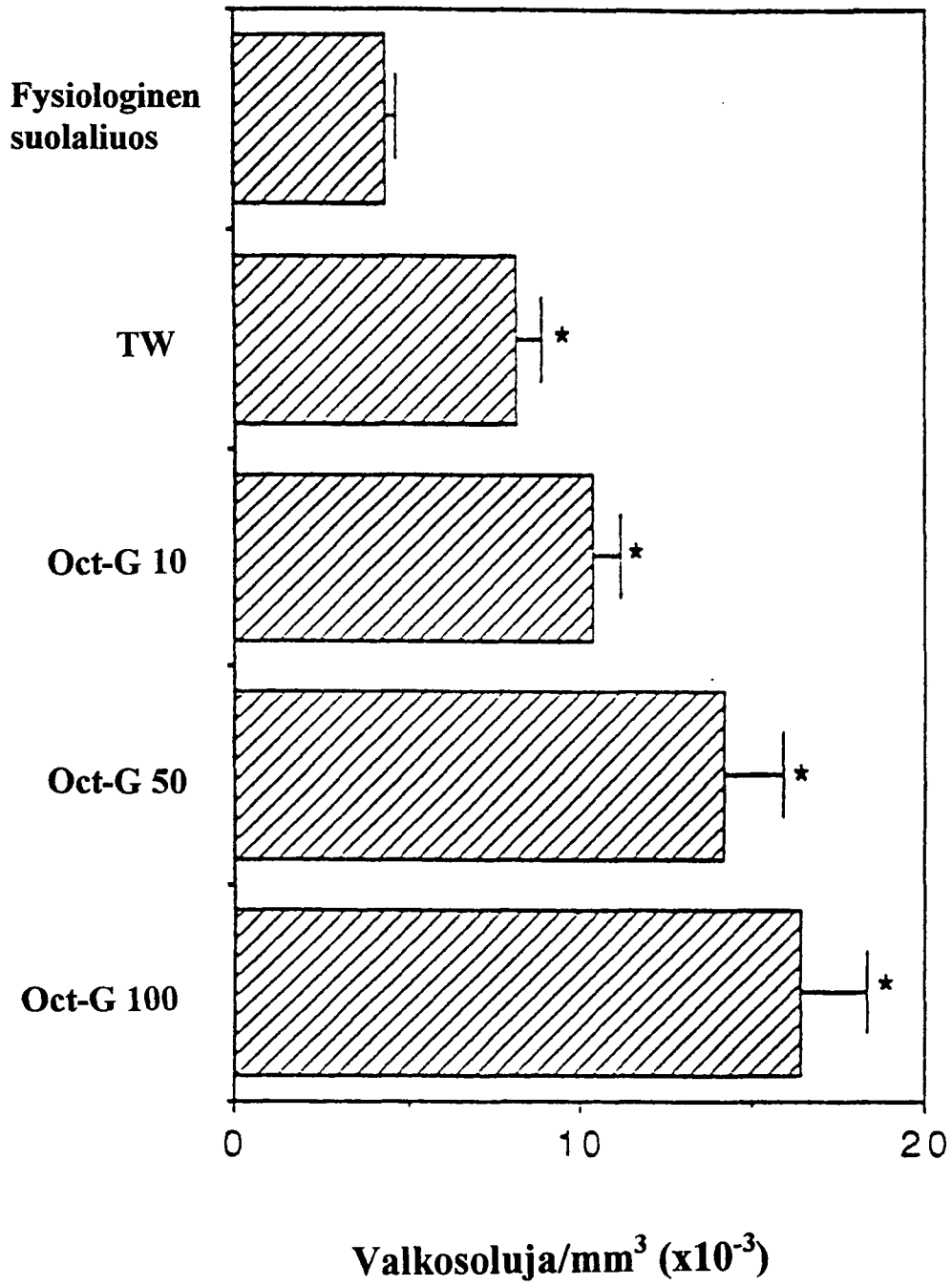
Kuvio 22



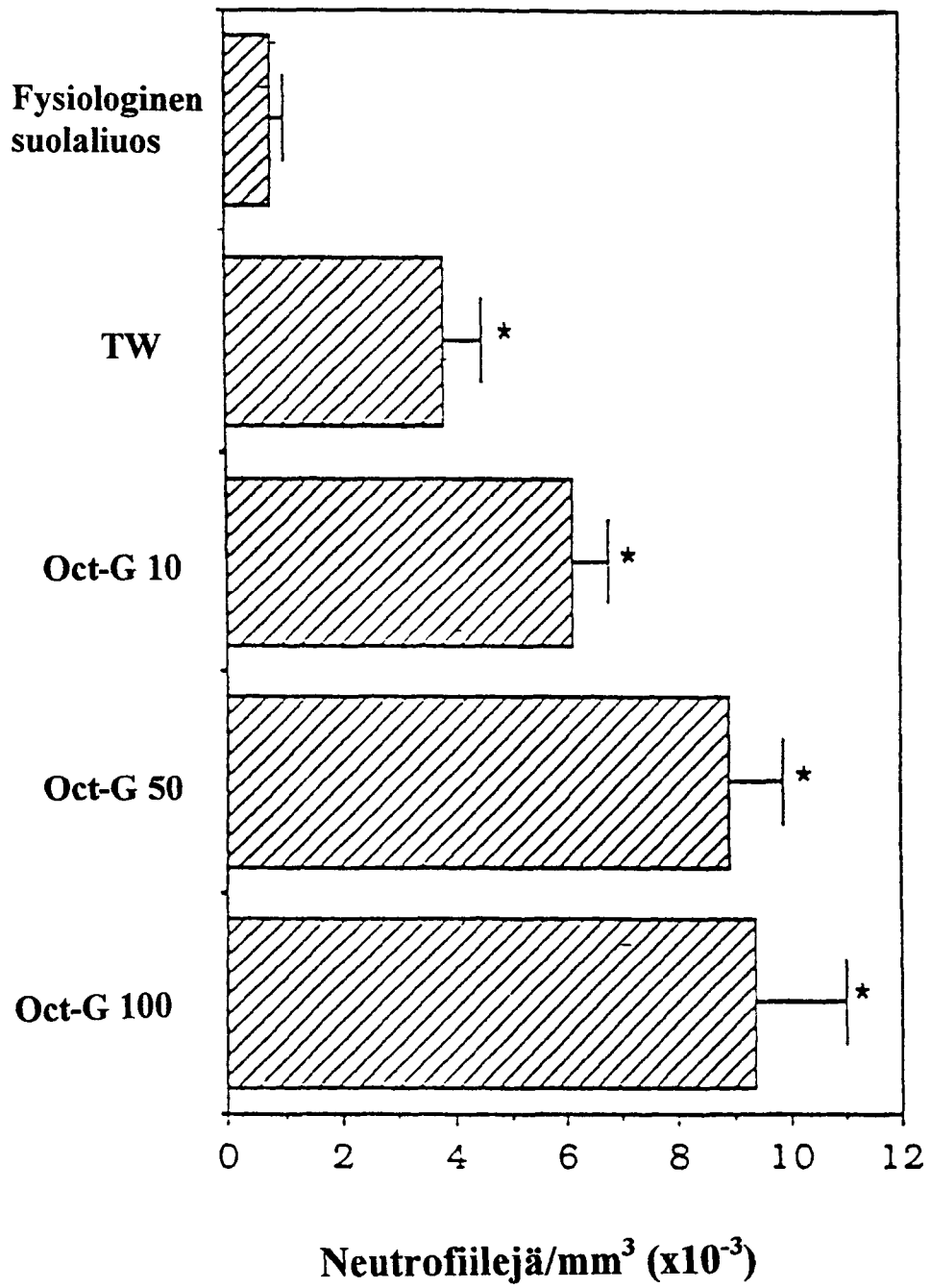
Kuvio 23



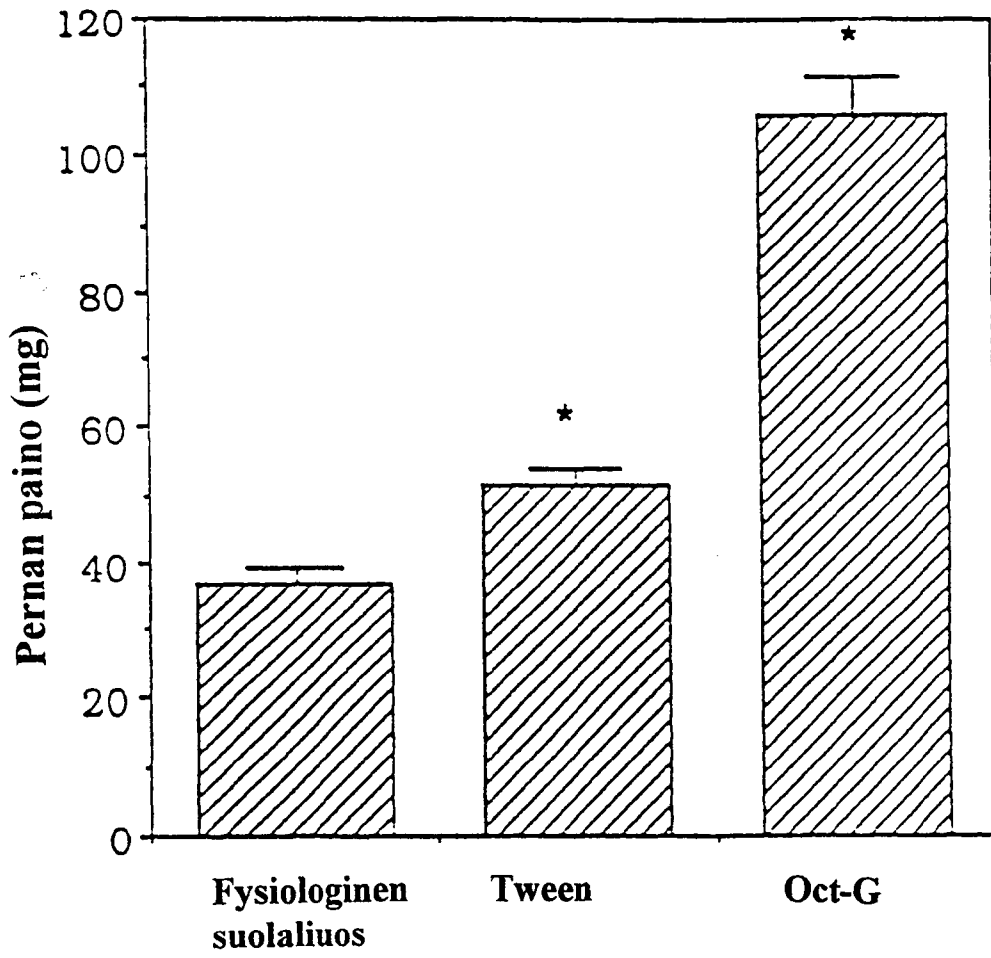
Kuvio 24



Kuvio 25

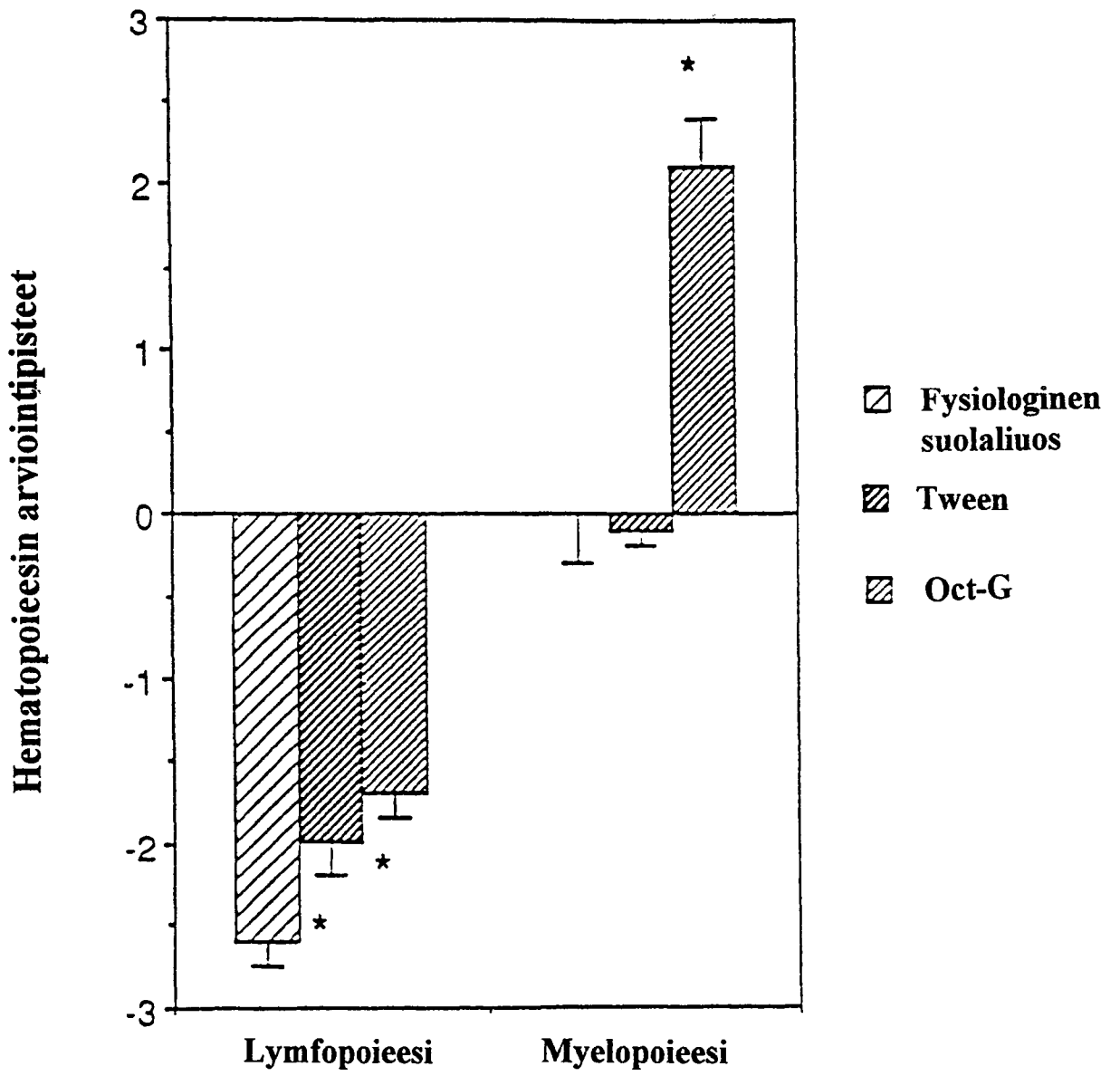


**Kuvio 26**



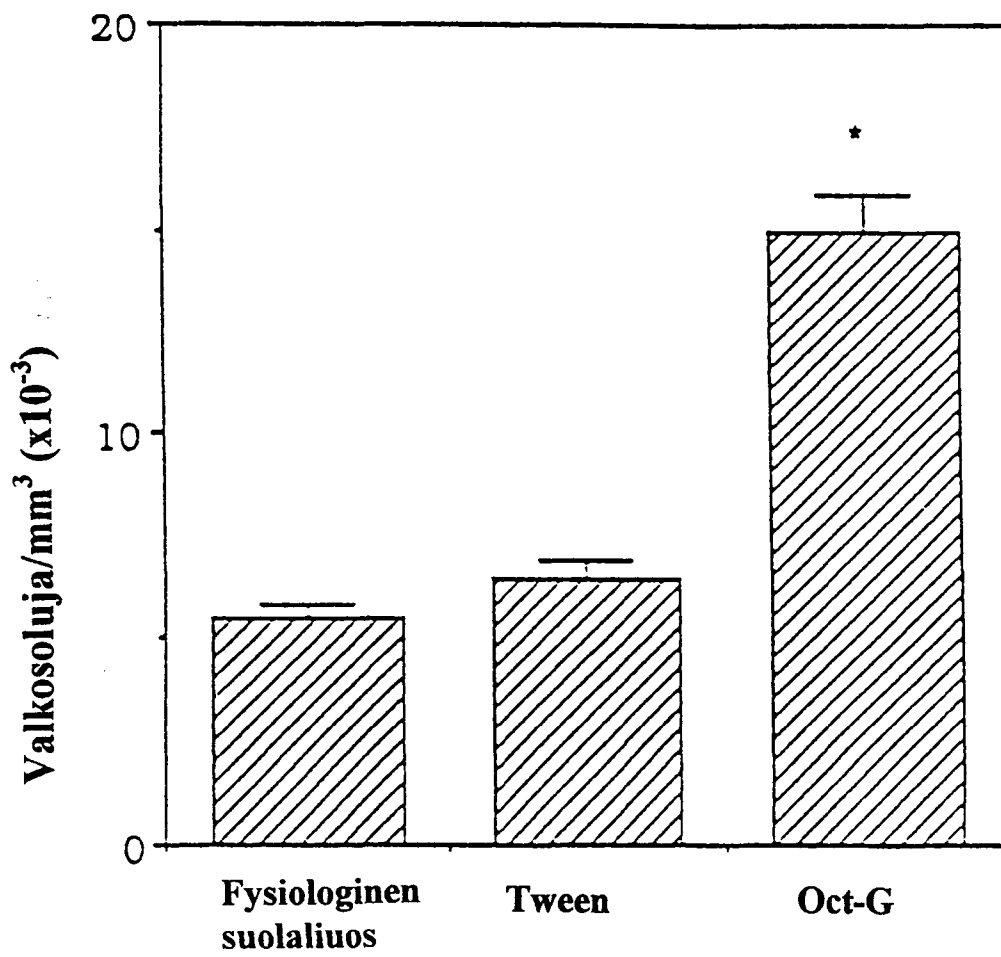
110155 570580

Kuvio 27



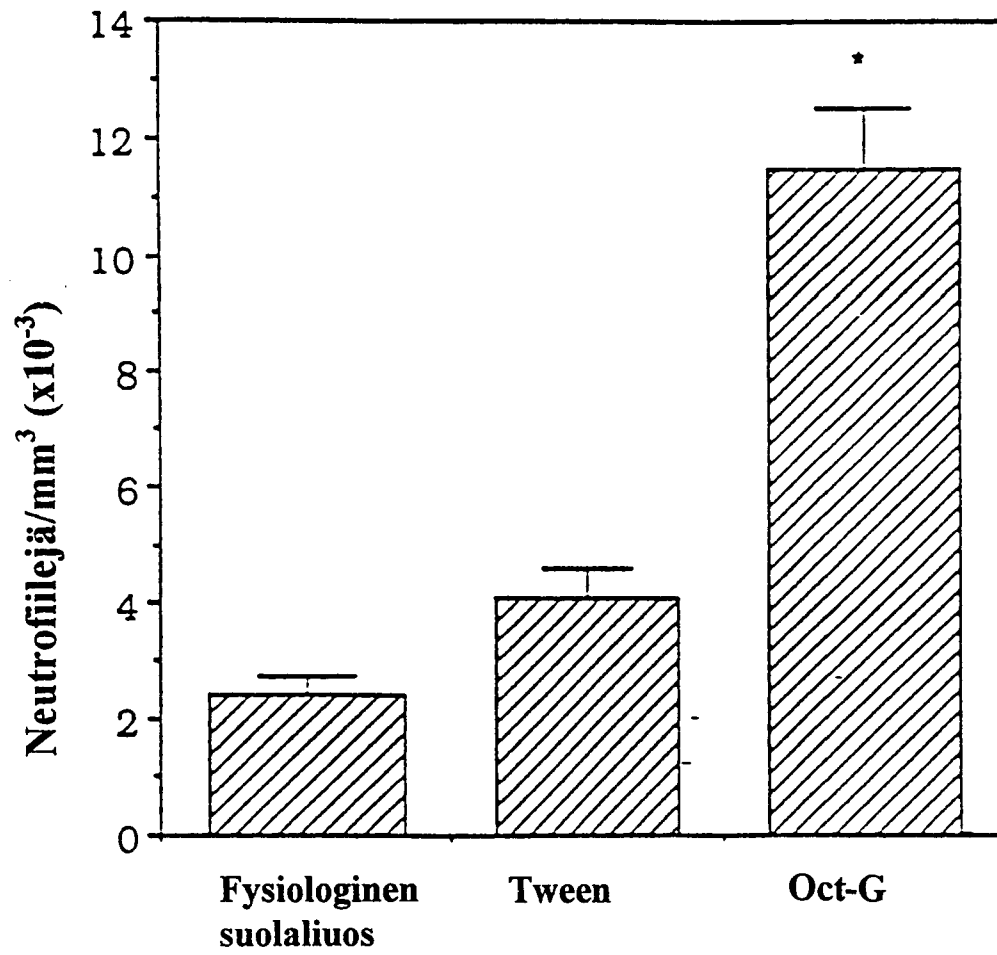
11015 57088

Kuvio 28



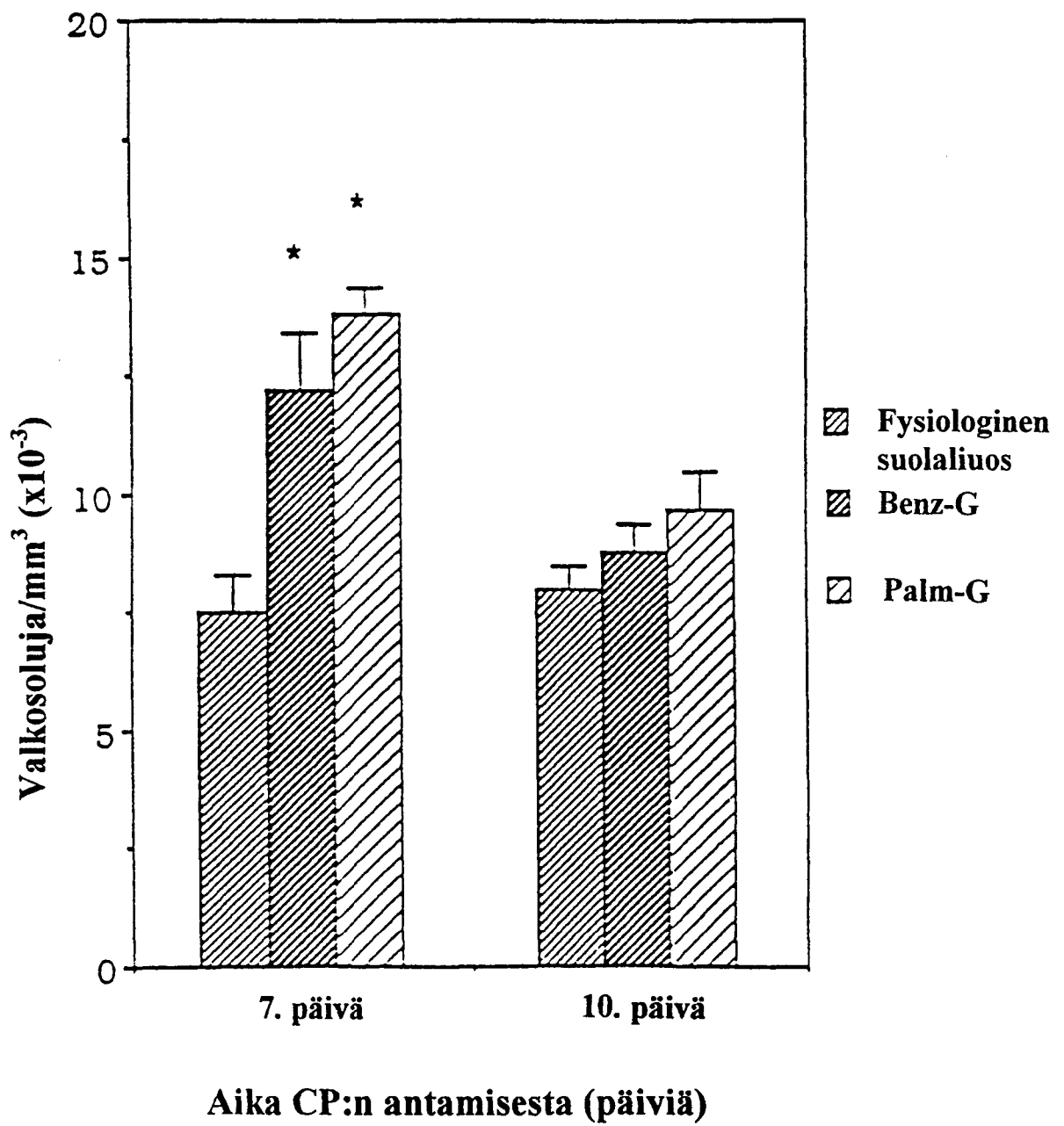
110497 970888

Kuvio 29



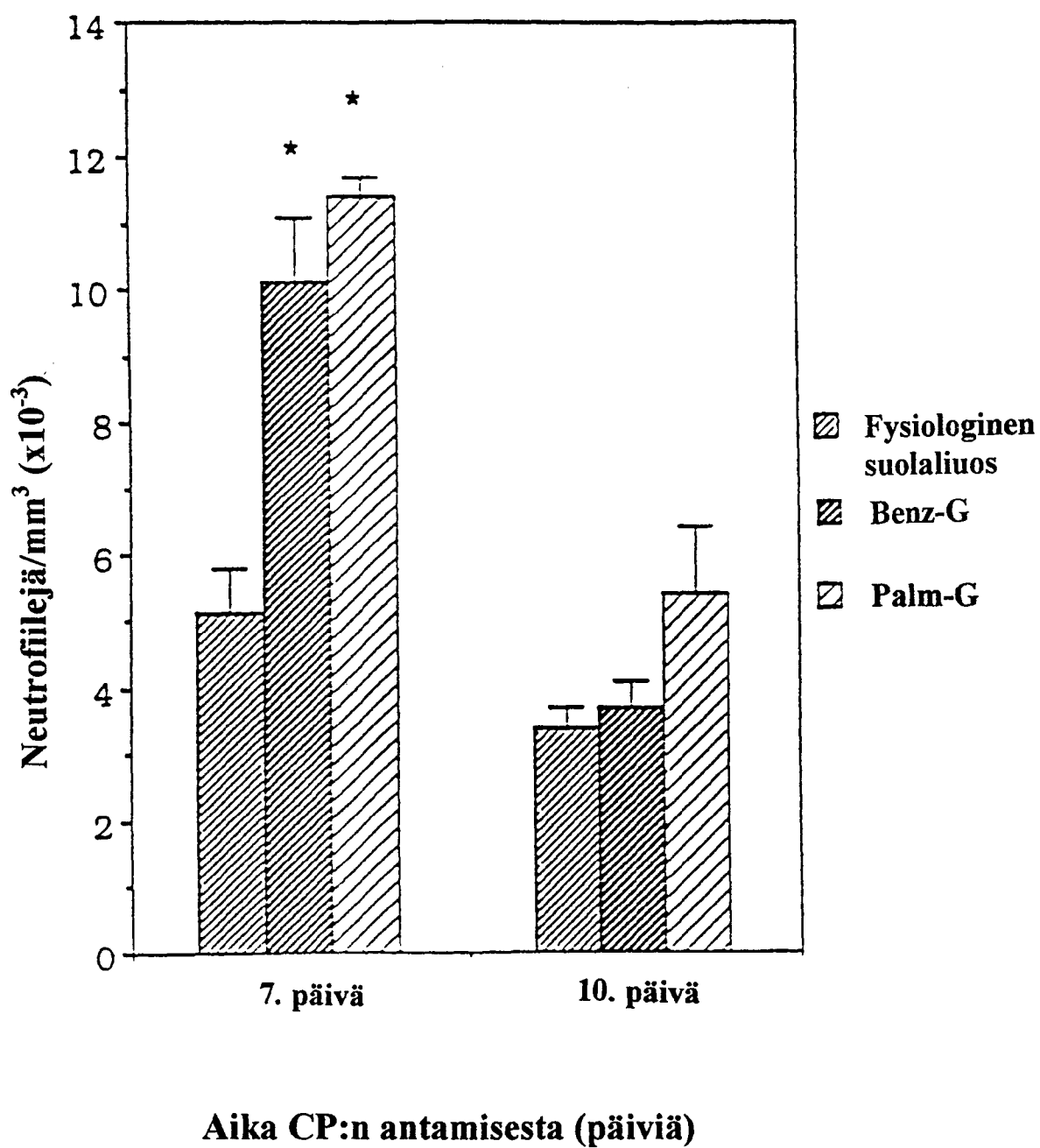
10457080

Kuvio 30

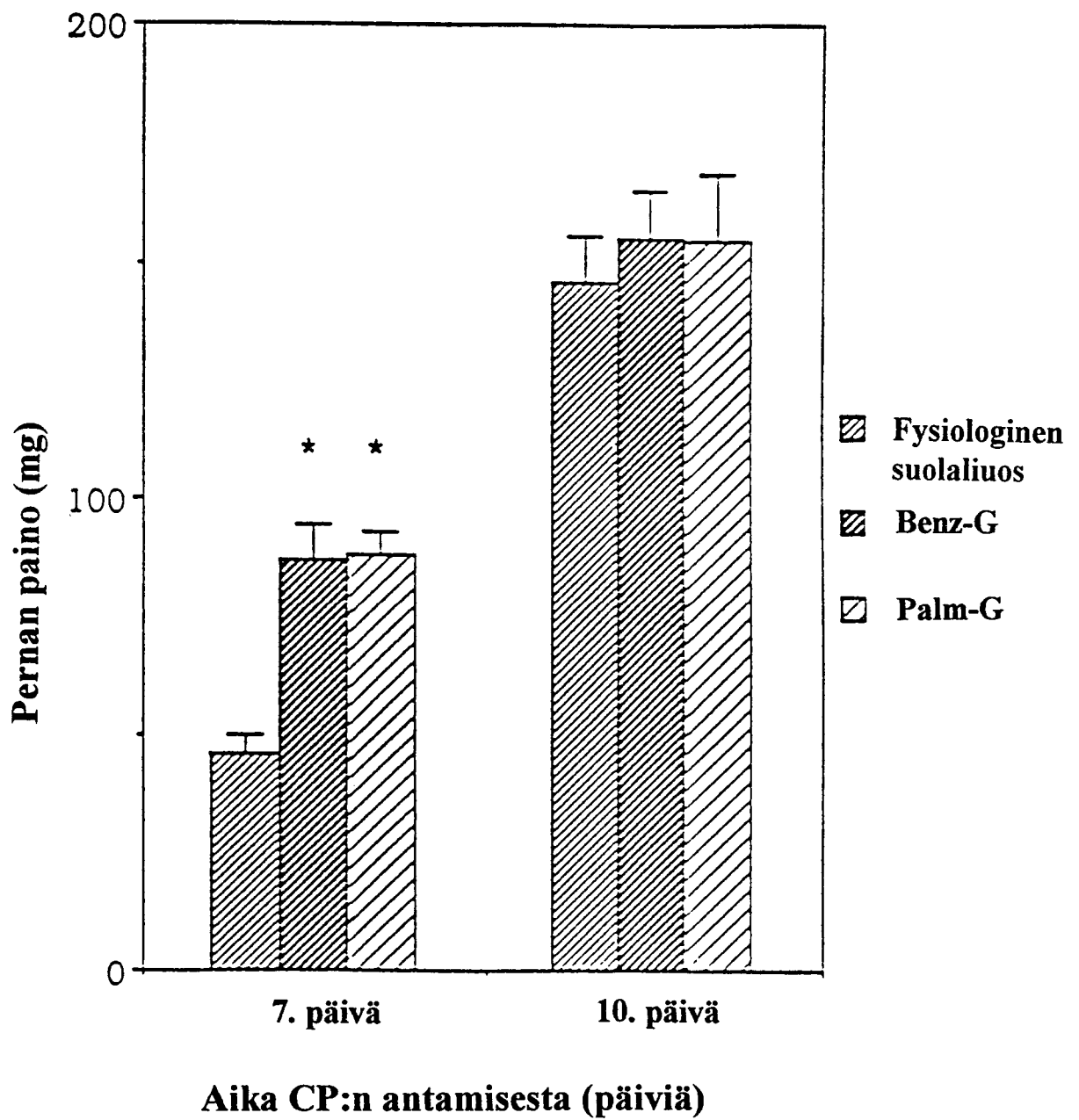


1045 3088

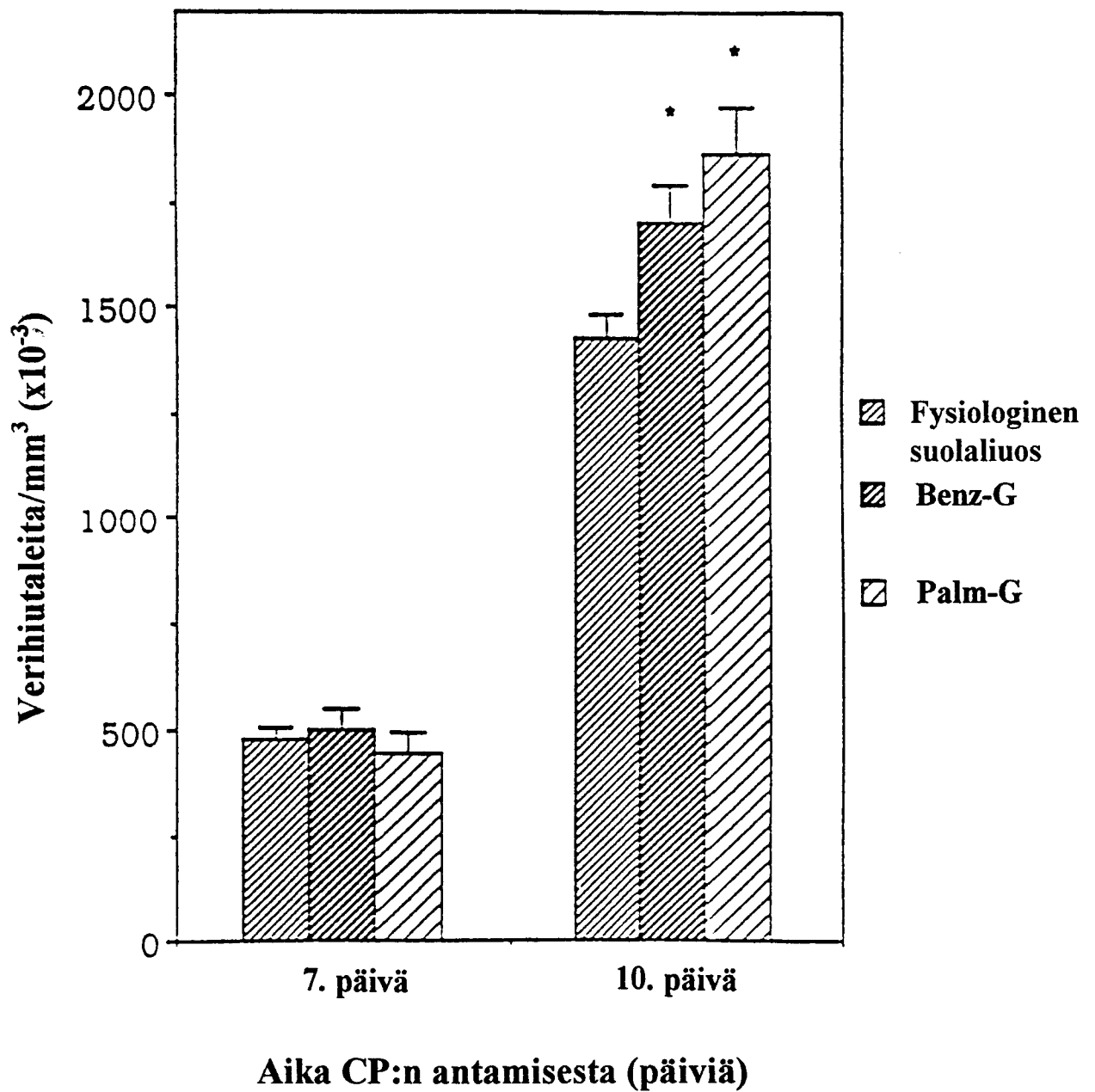
Kuvio 31



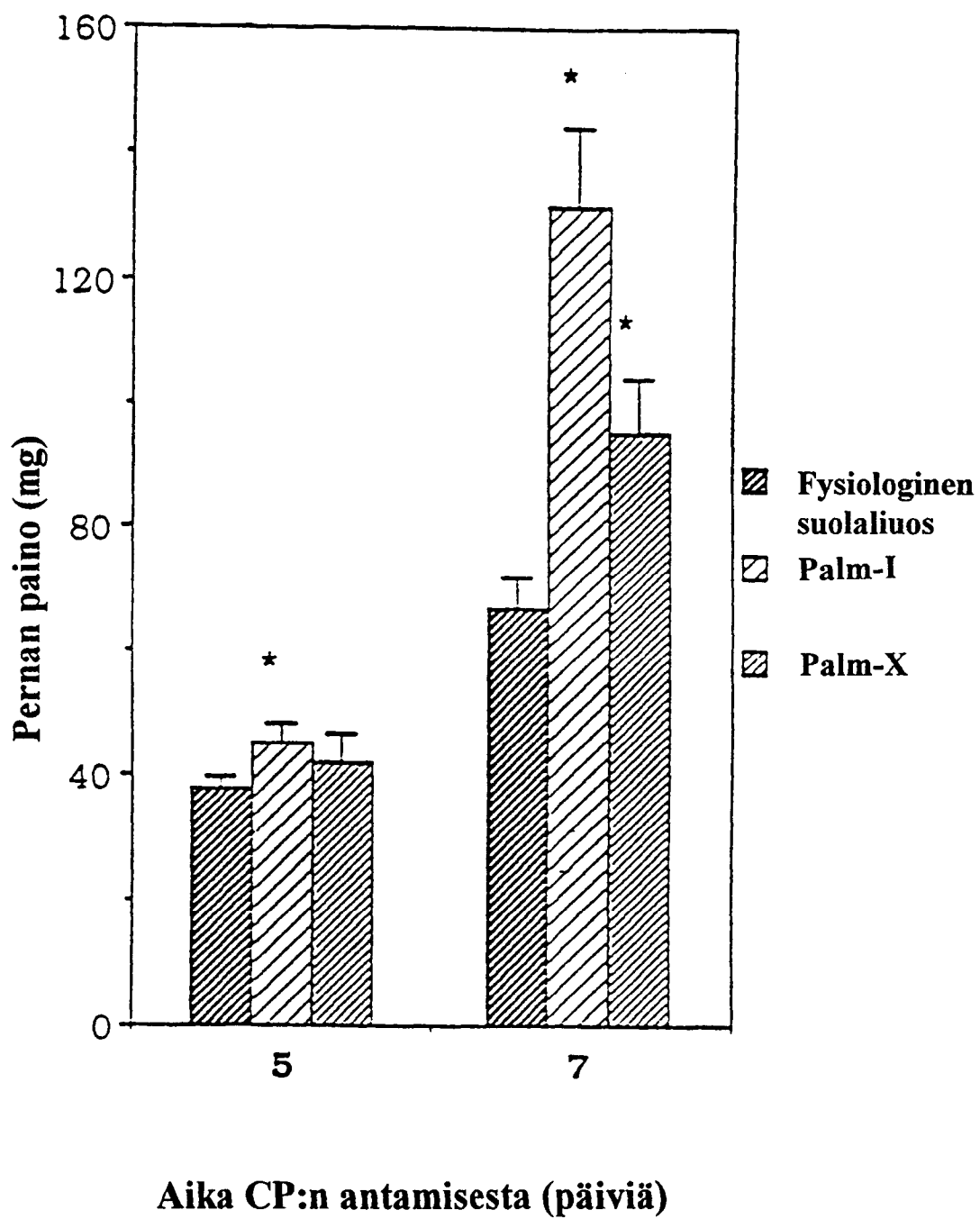
Kuvio 32



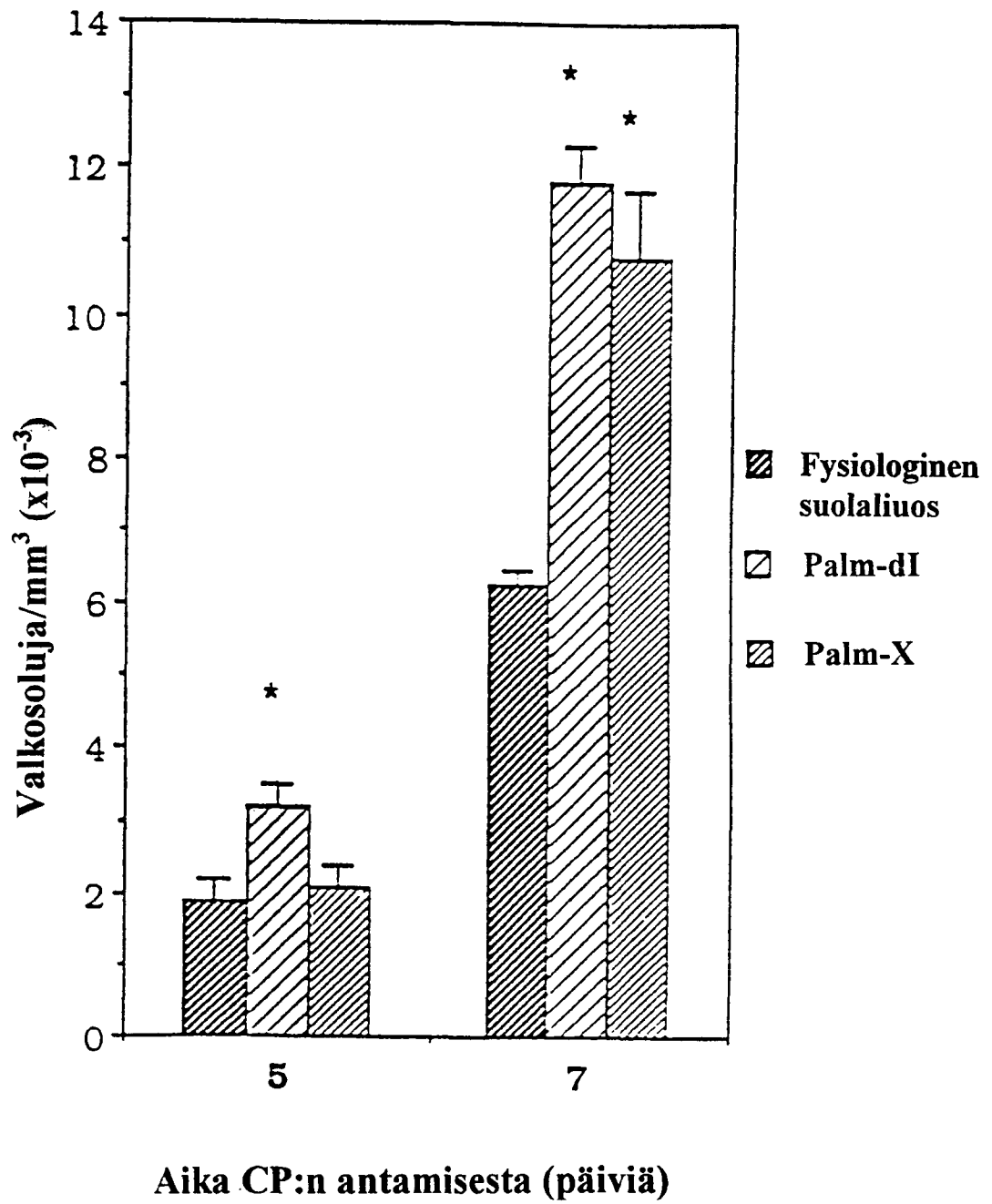
Kuvio 33



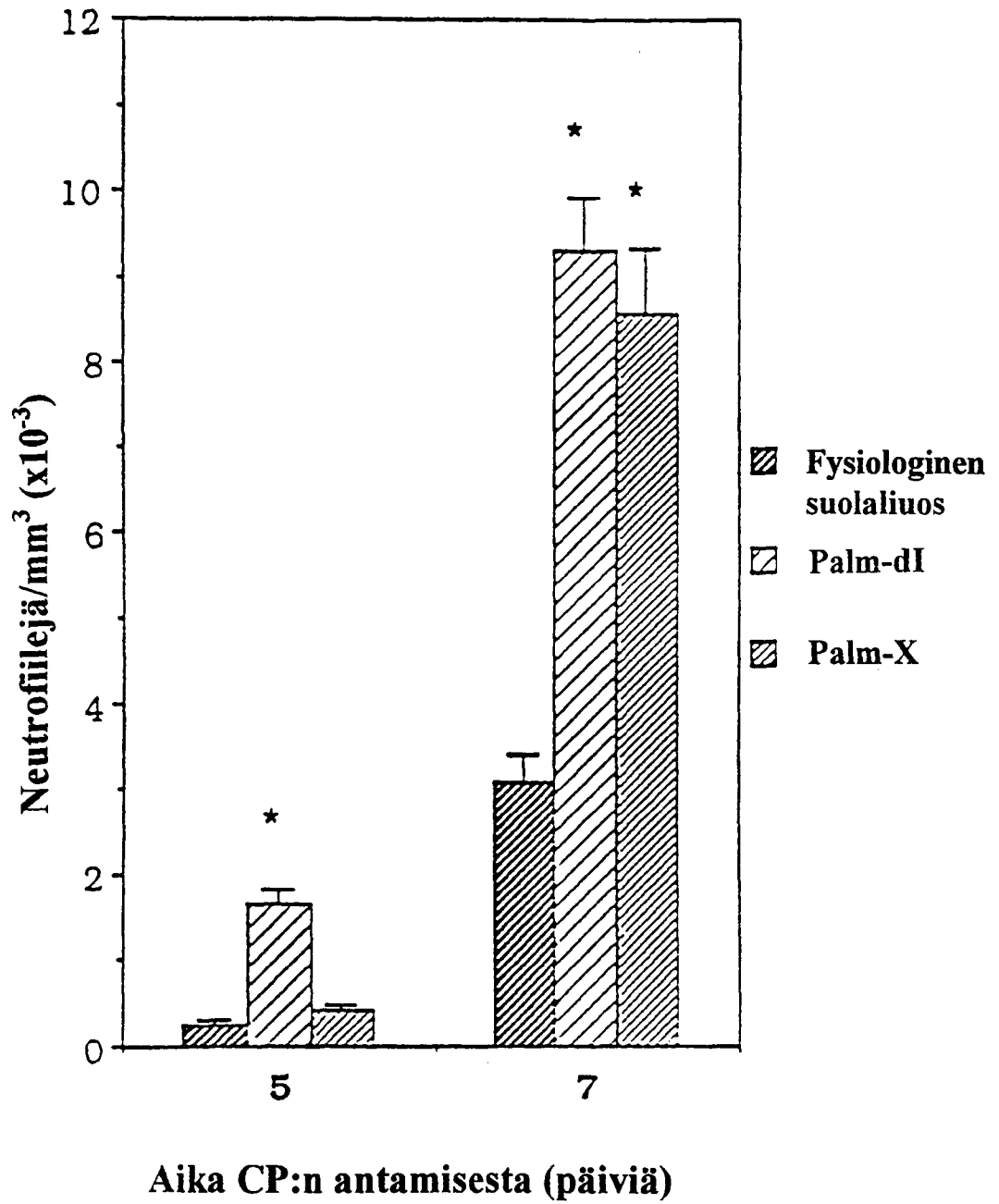
Kuvio 34



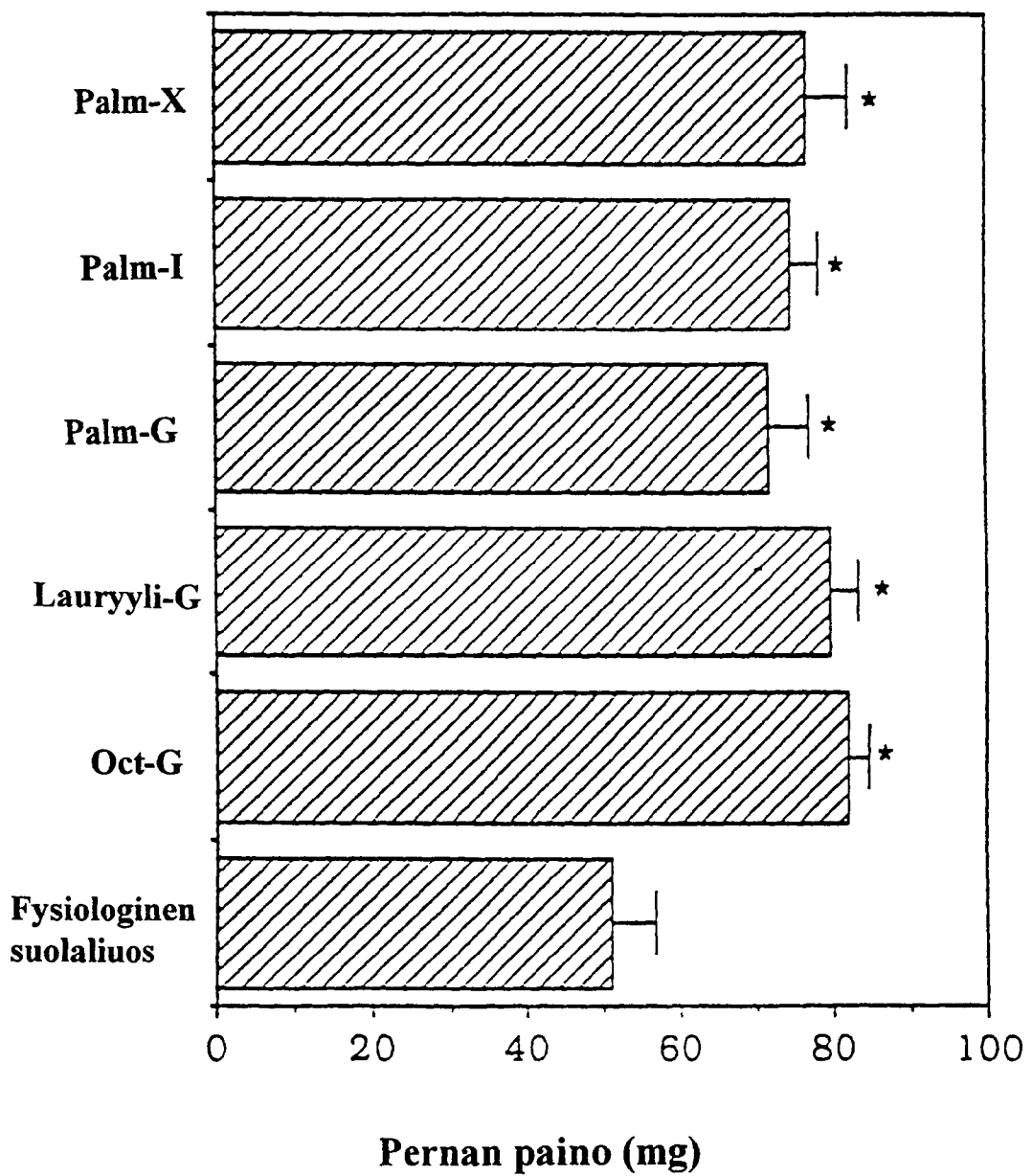
Kuvio 35



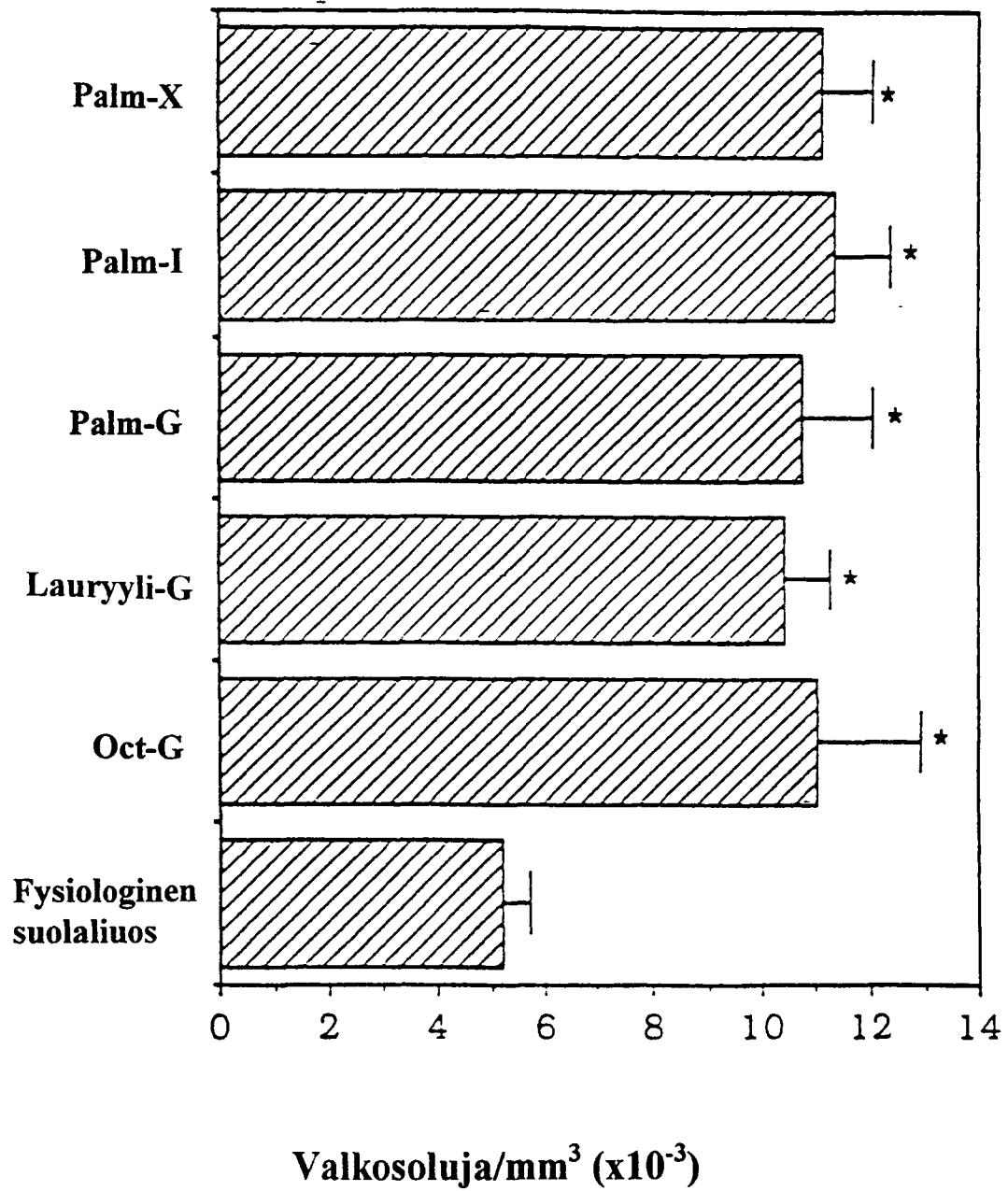
Kuvio 36



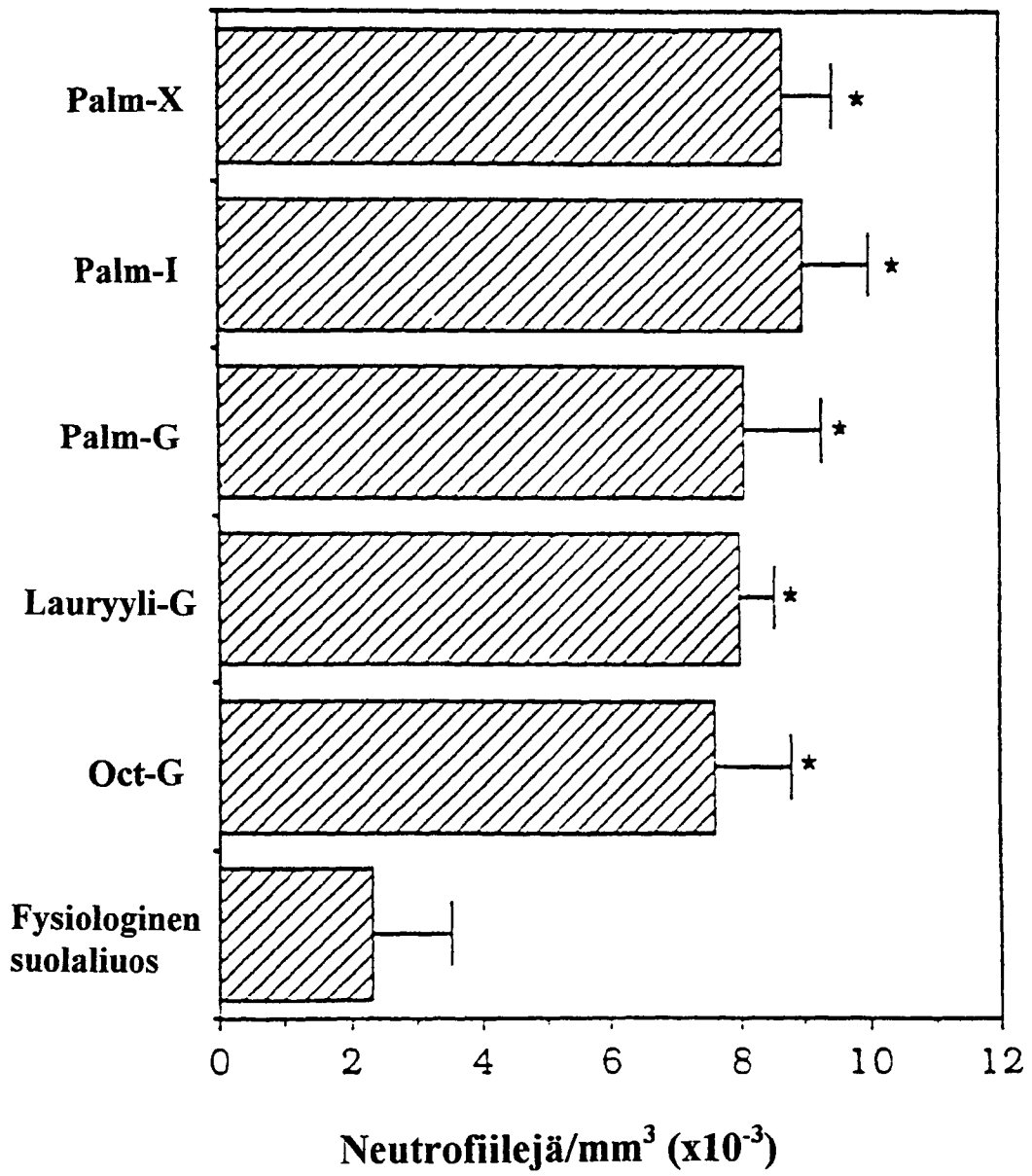
Kuvio 37



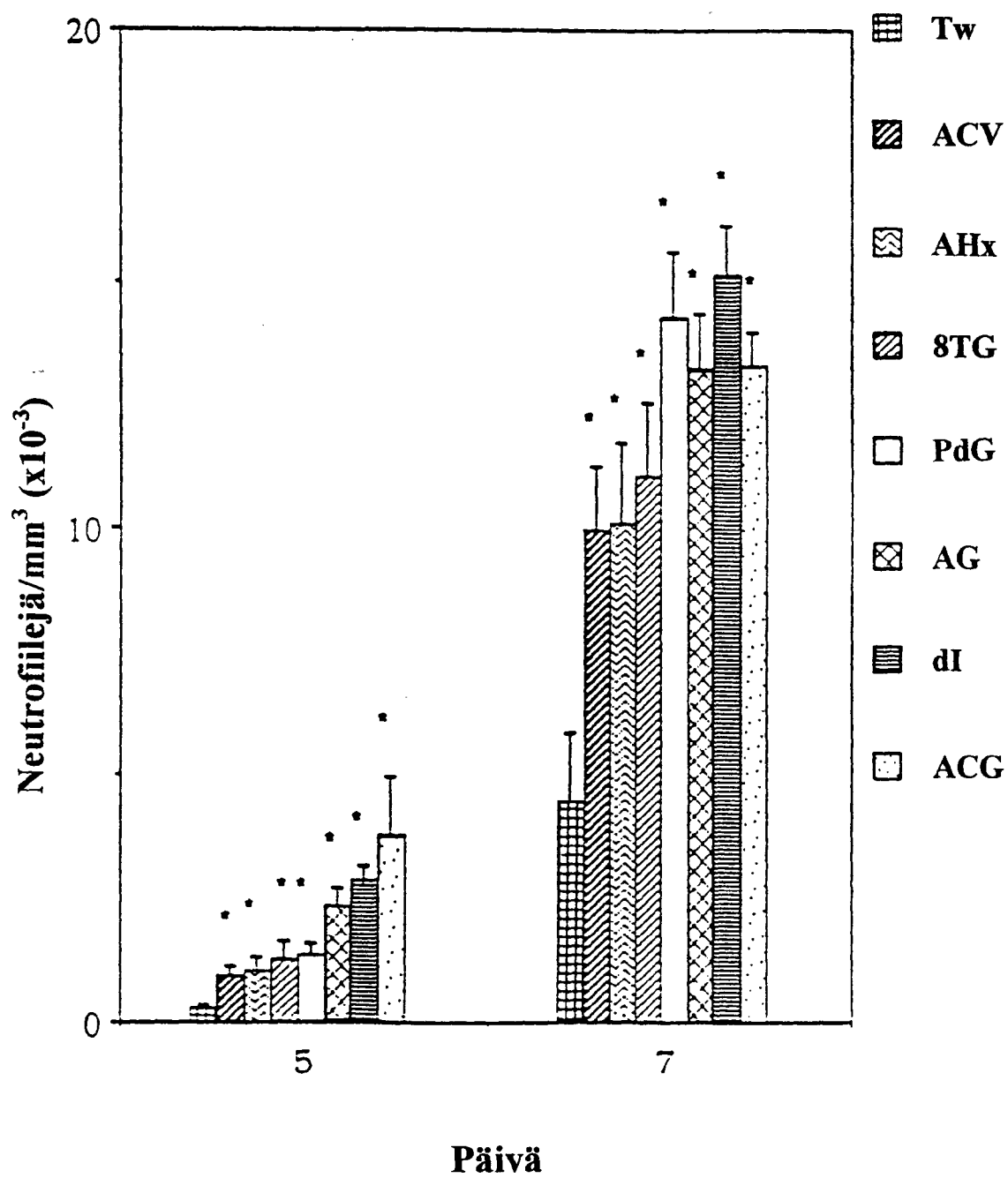
Kuvio 38



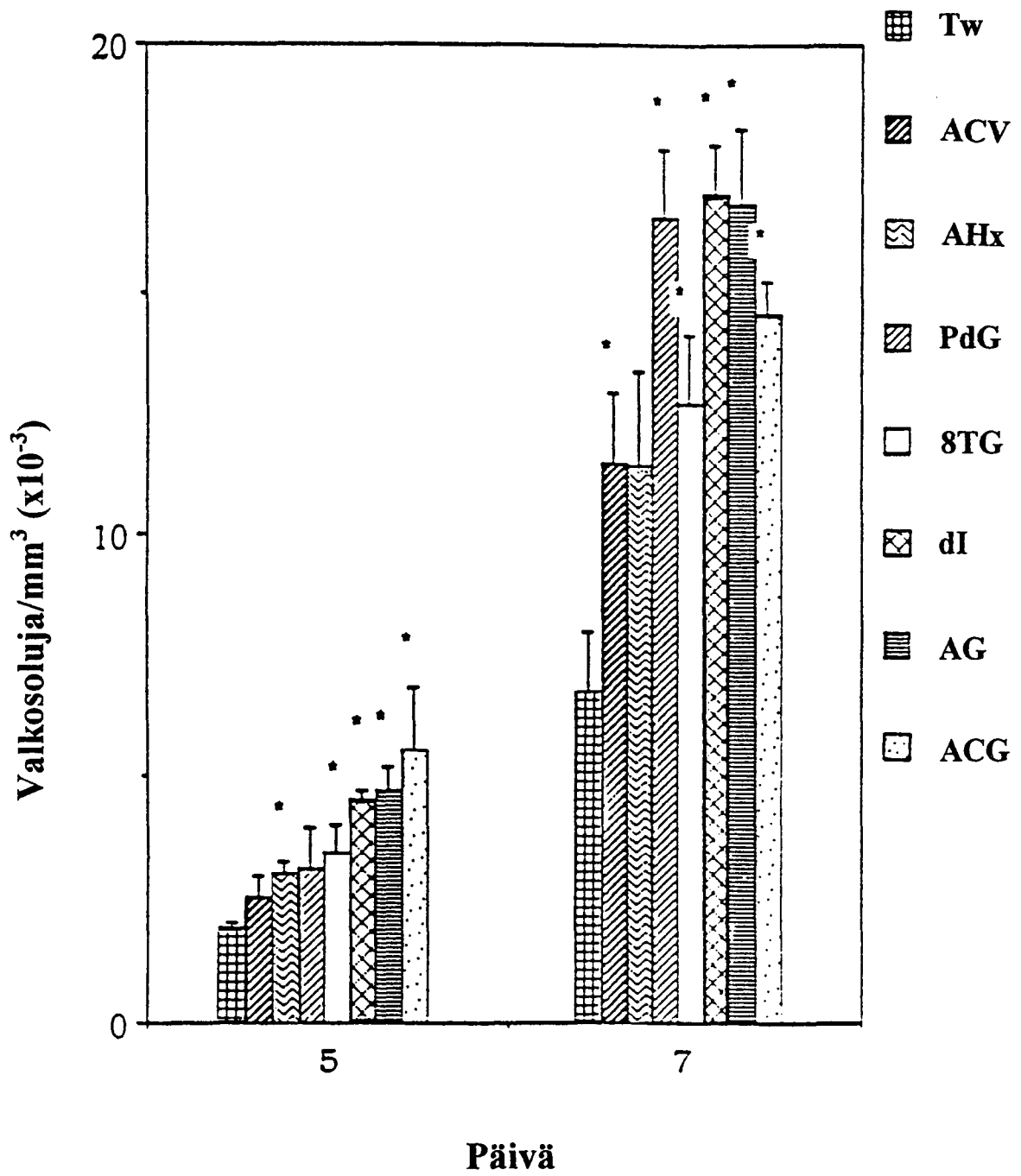
Kuvio 39



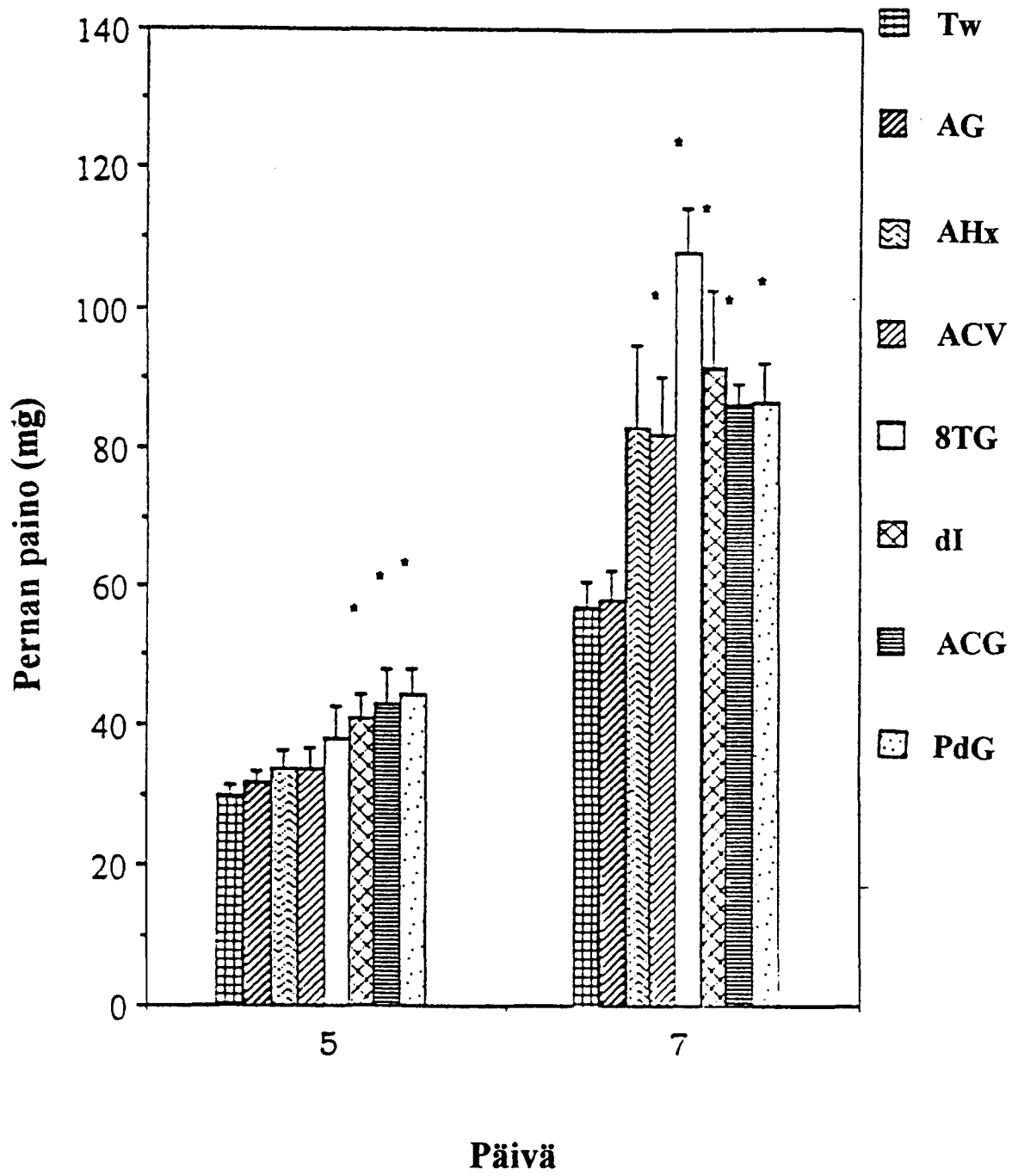
Kuvio 40



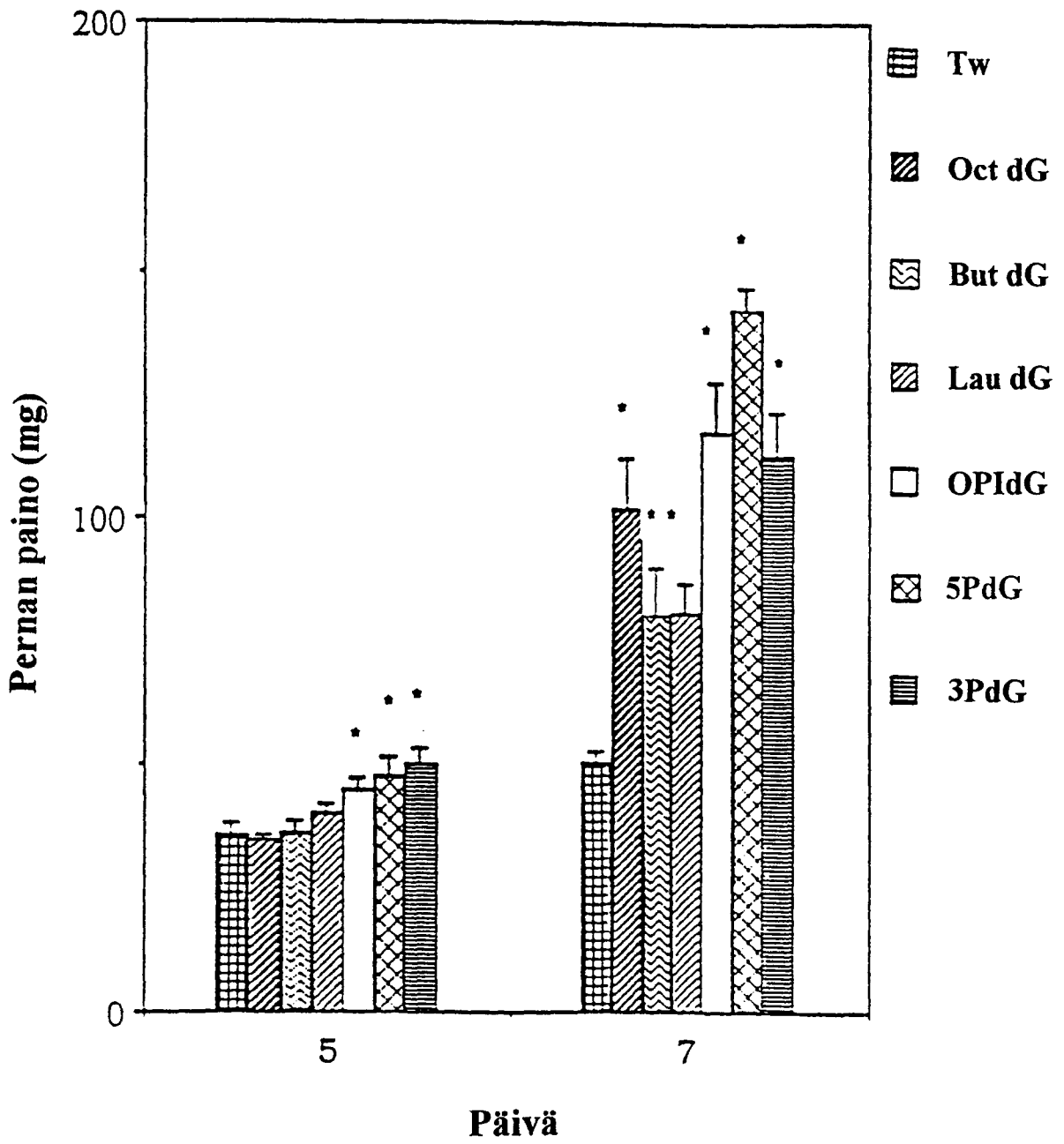
Kuvio 41



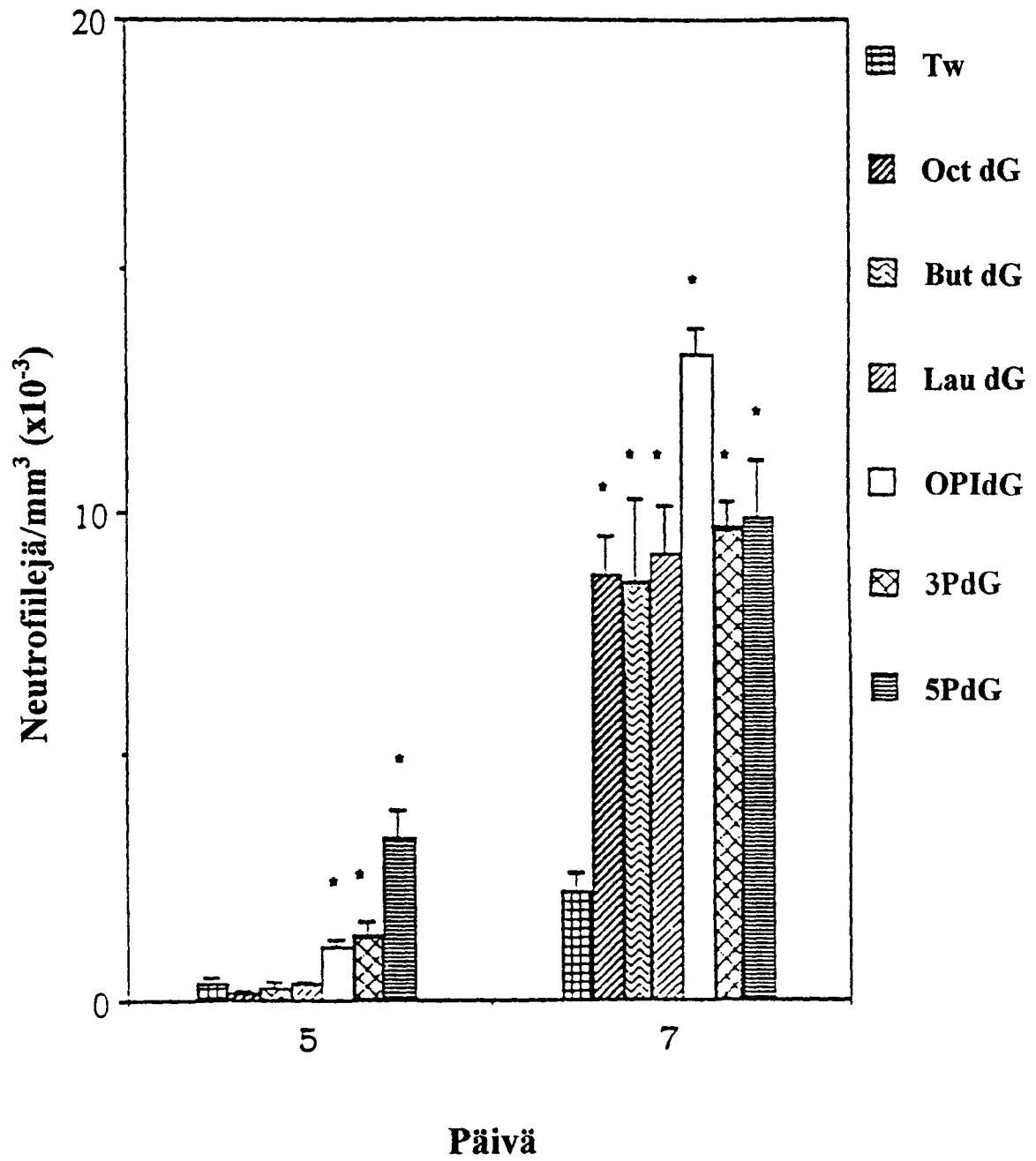
Kuvio 42



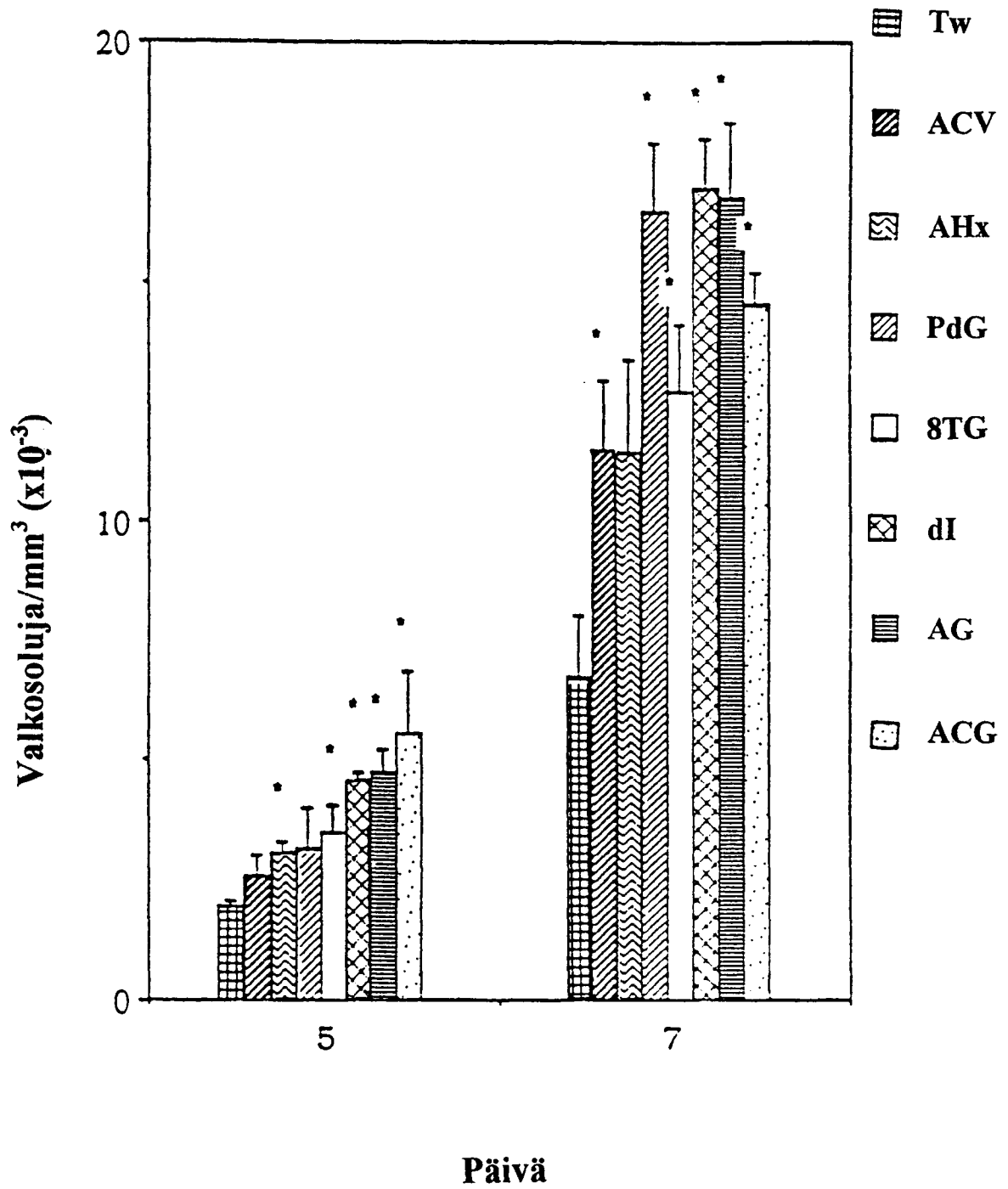
Kuvio 43



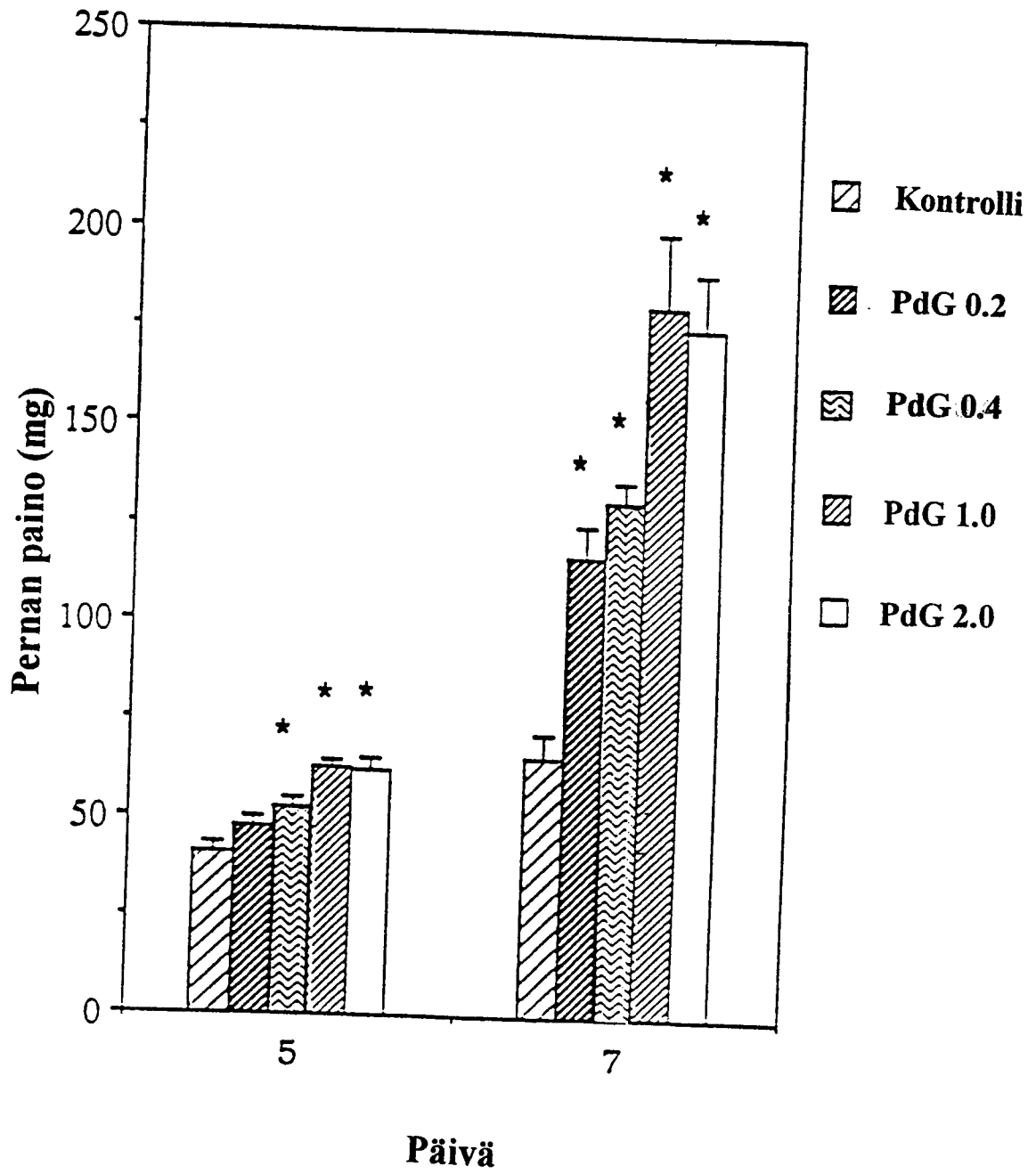
Kuvio 44



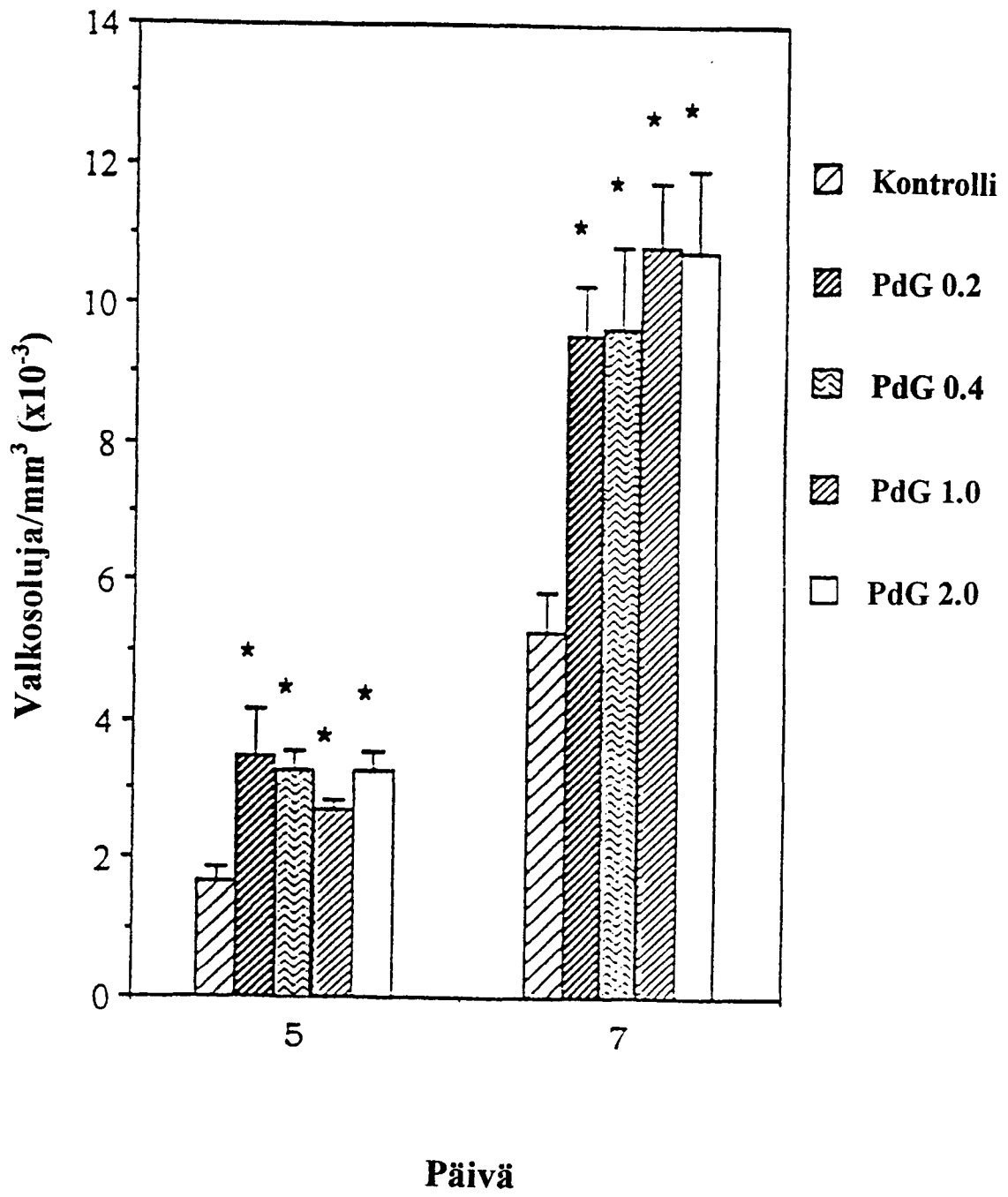
Kuvio 45



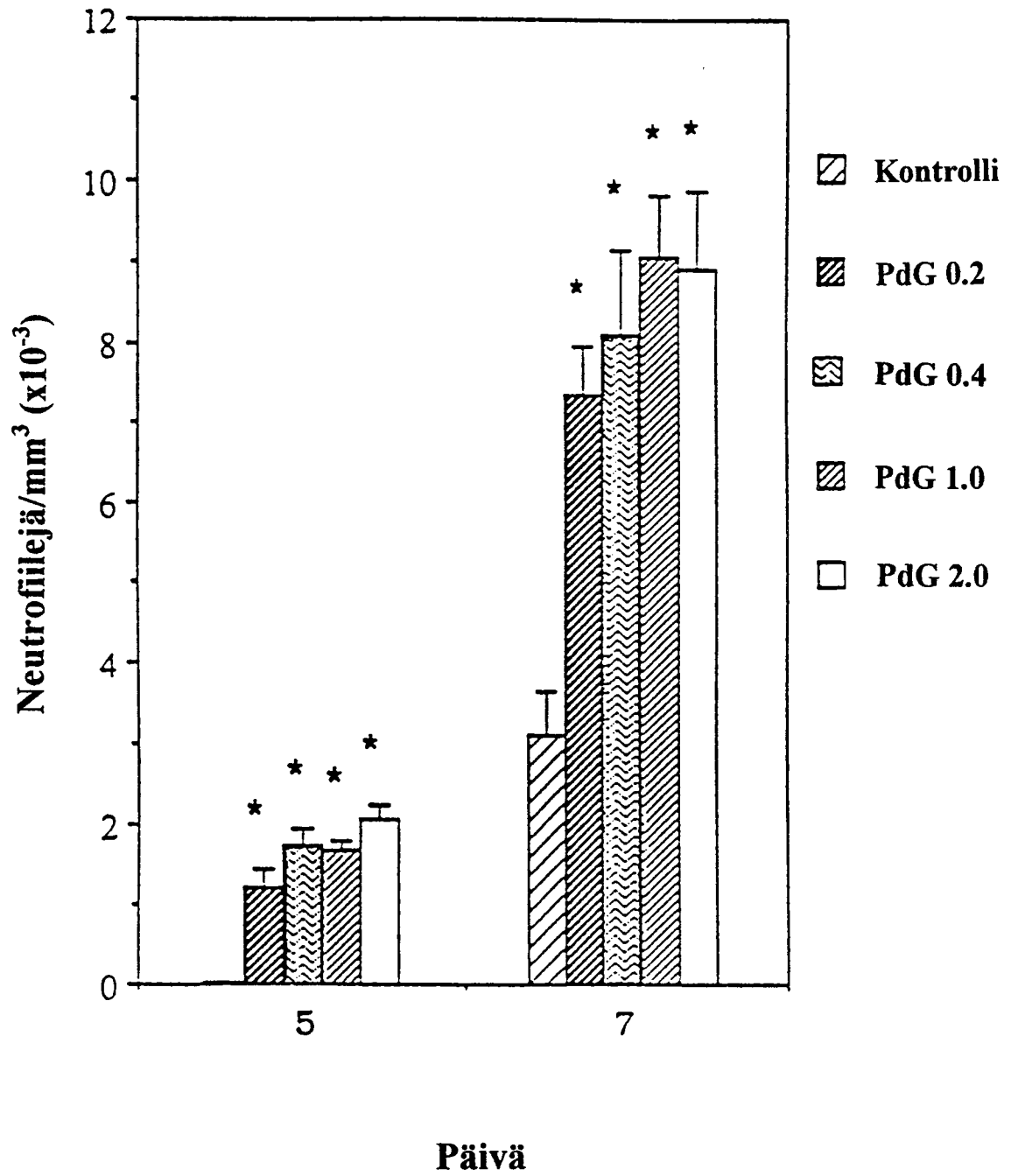
Kuvio 46



Kuvio 47

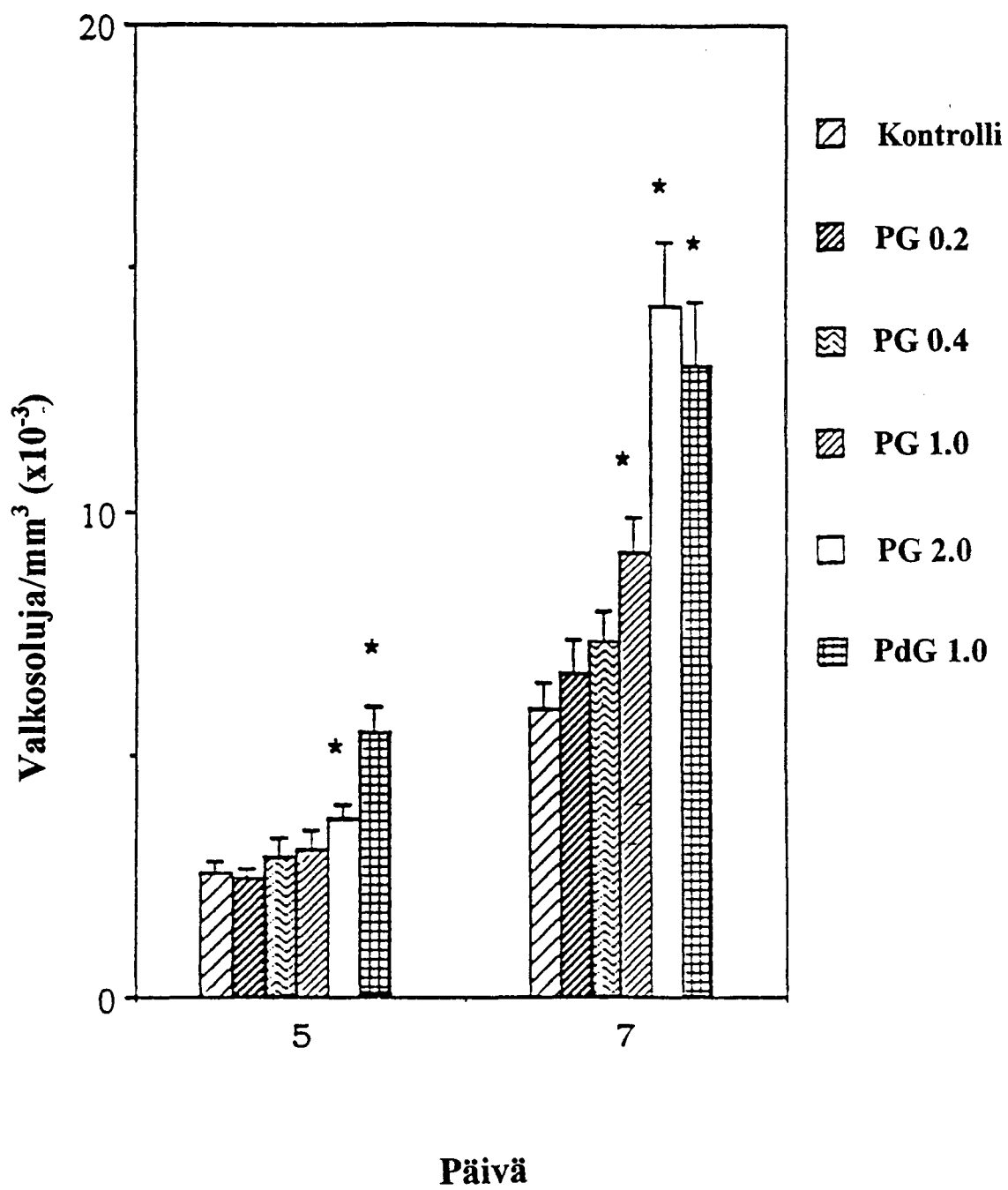


Kuvio 48

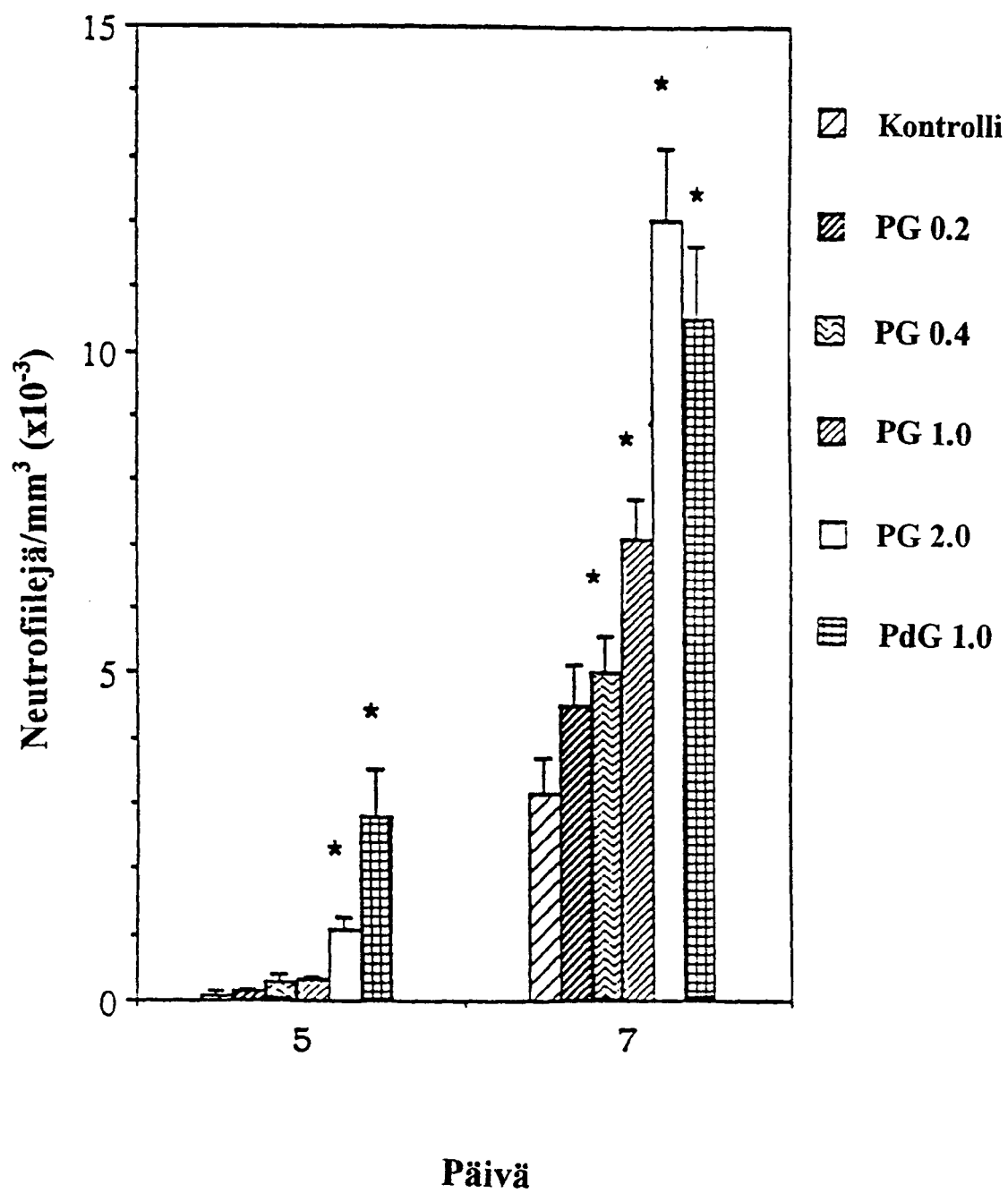




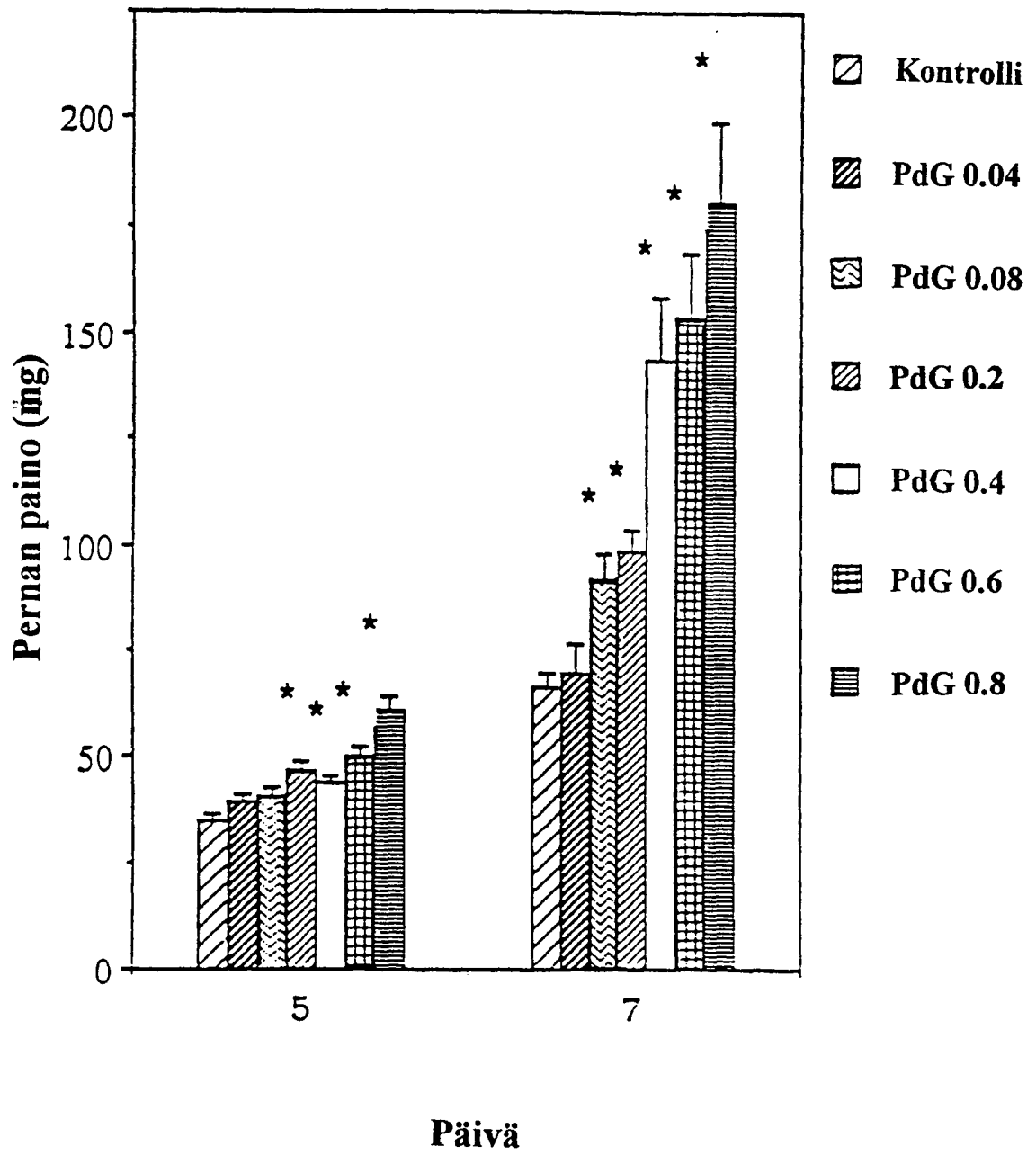
Kuvio 50



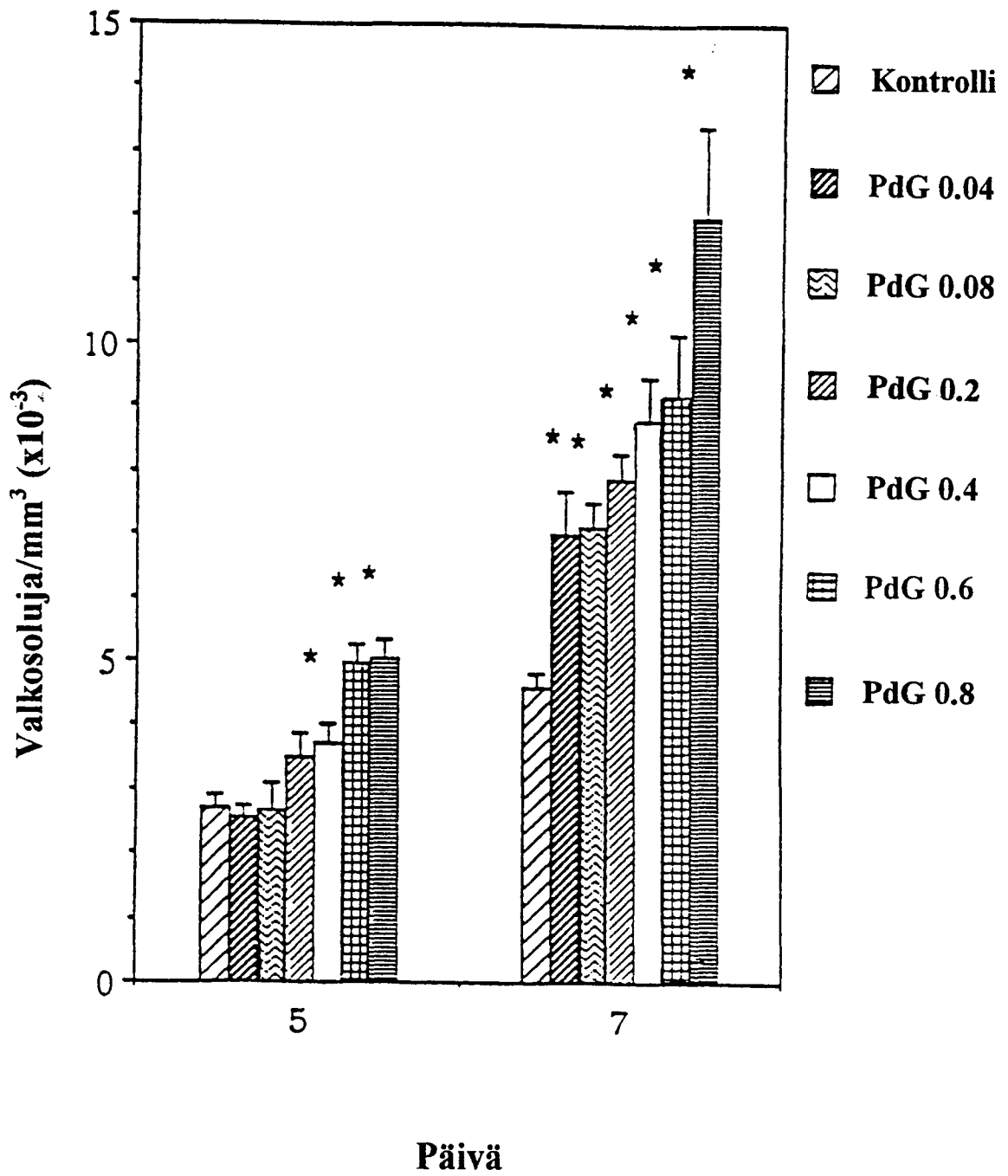
Kuvio 51



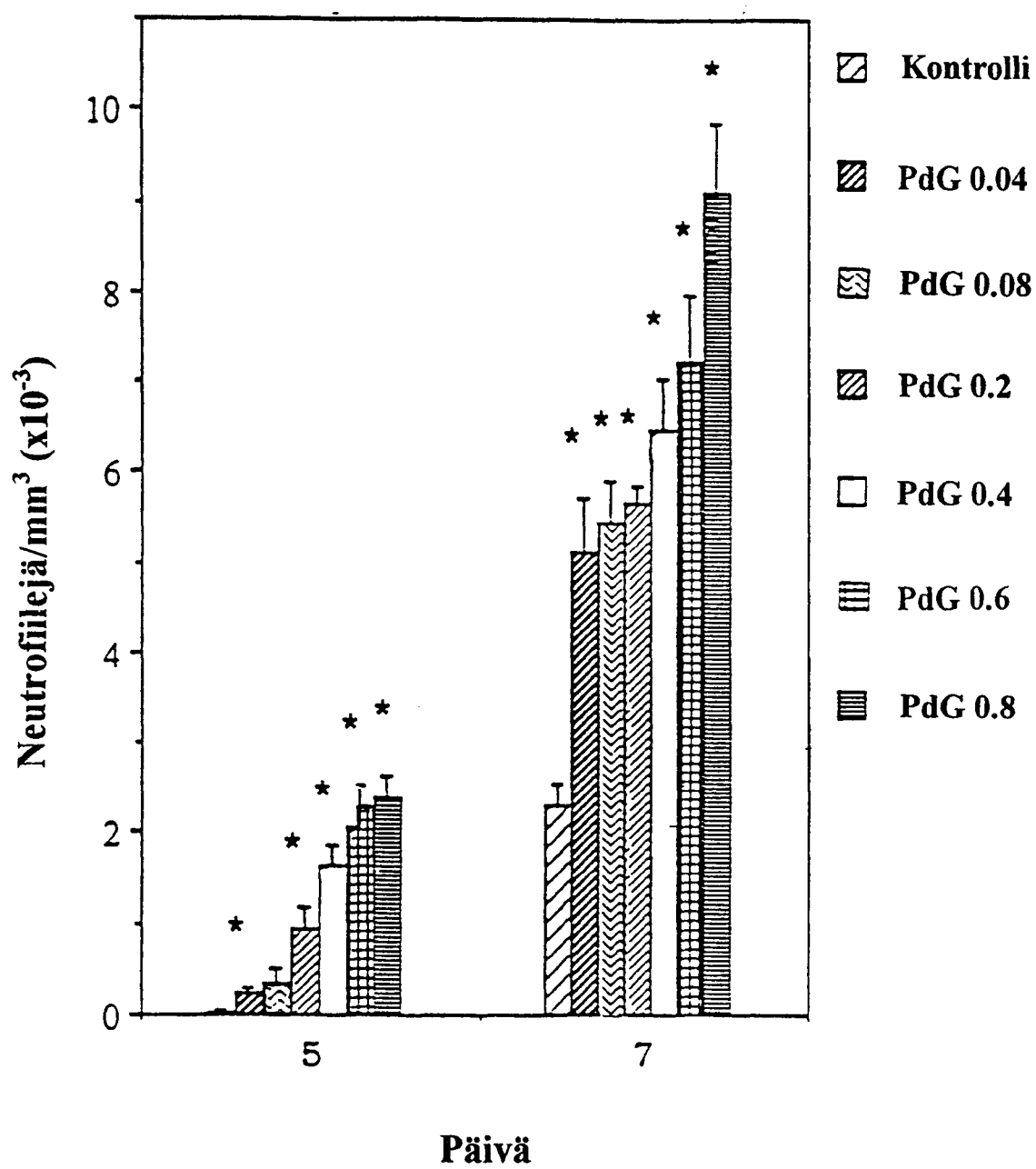
Kuvio 52



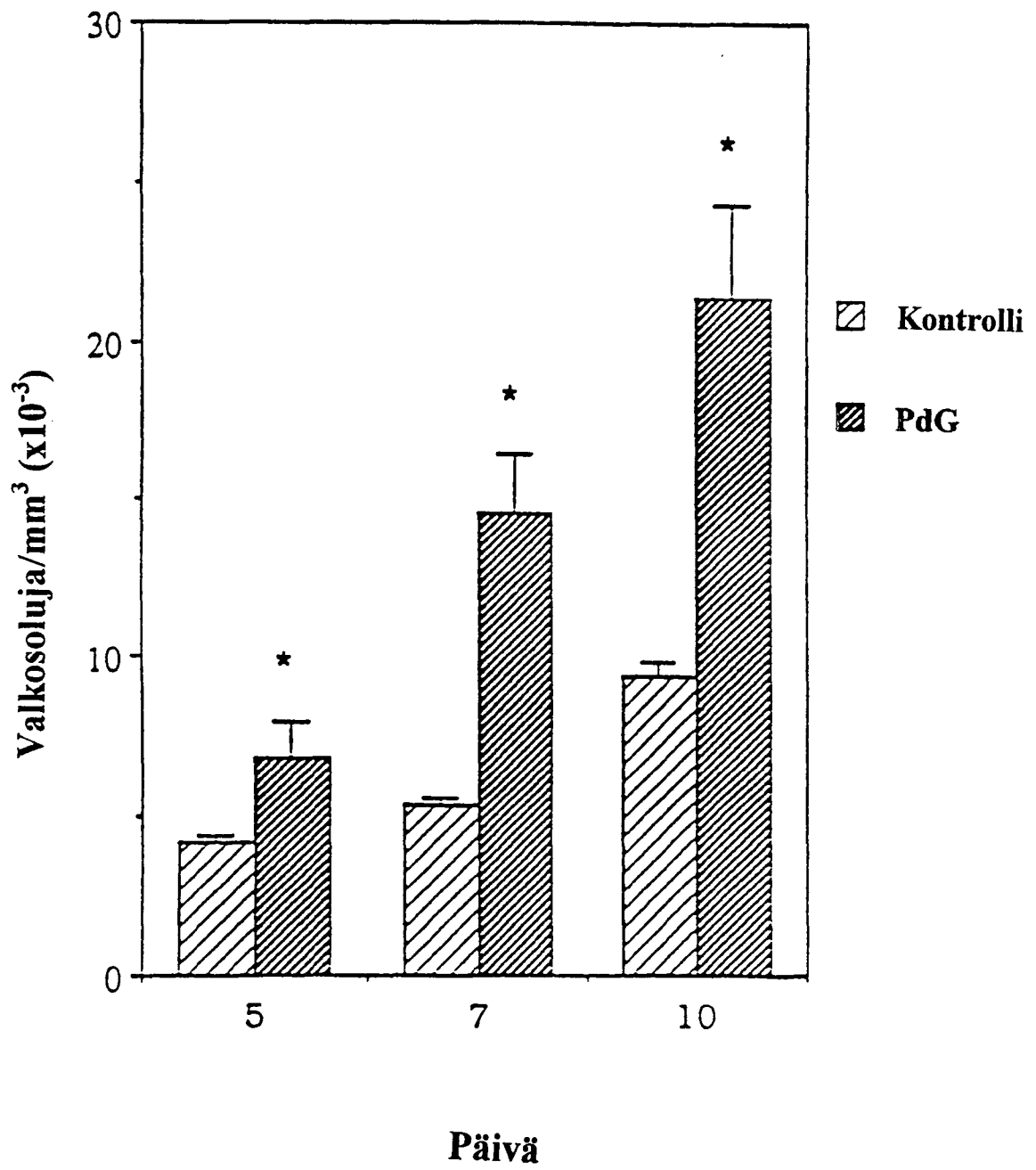
Kuvio 53



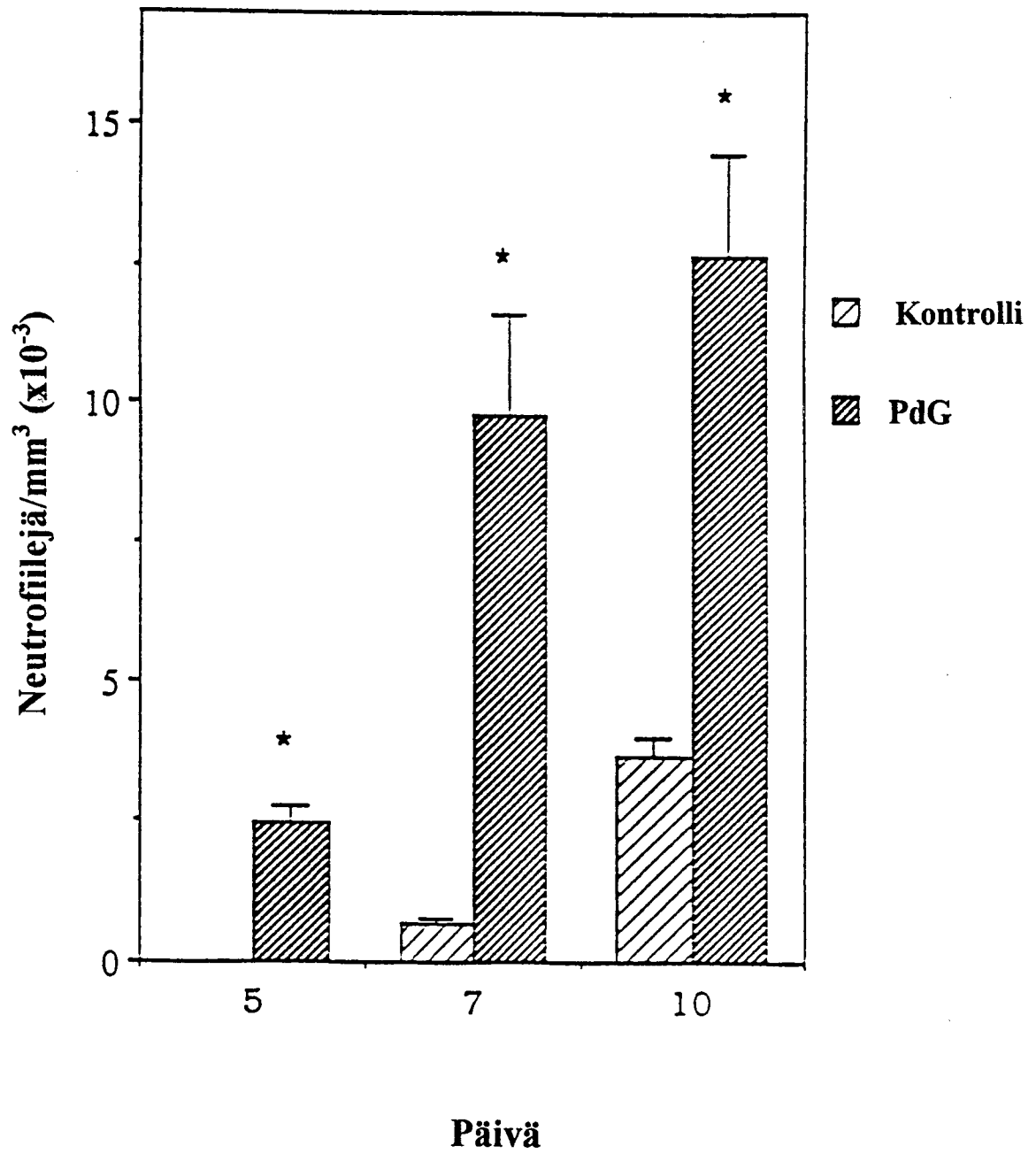
Kuvio 54



Kuvio 55

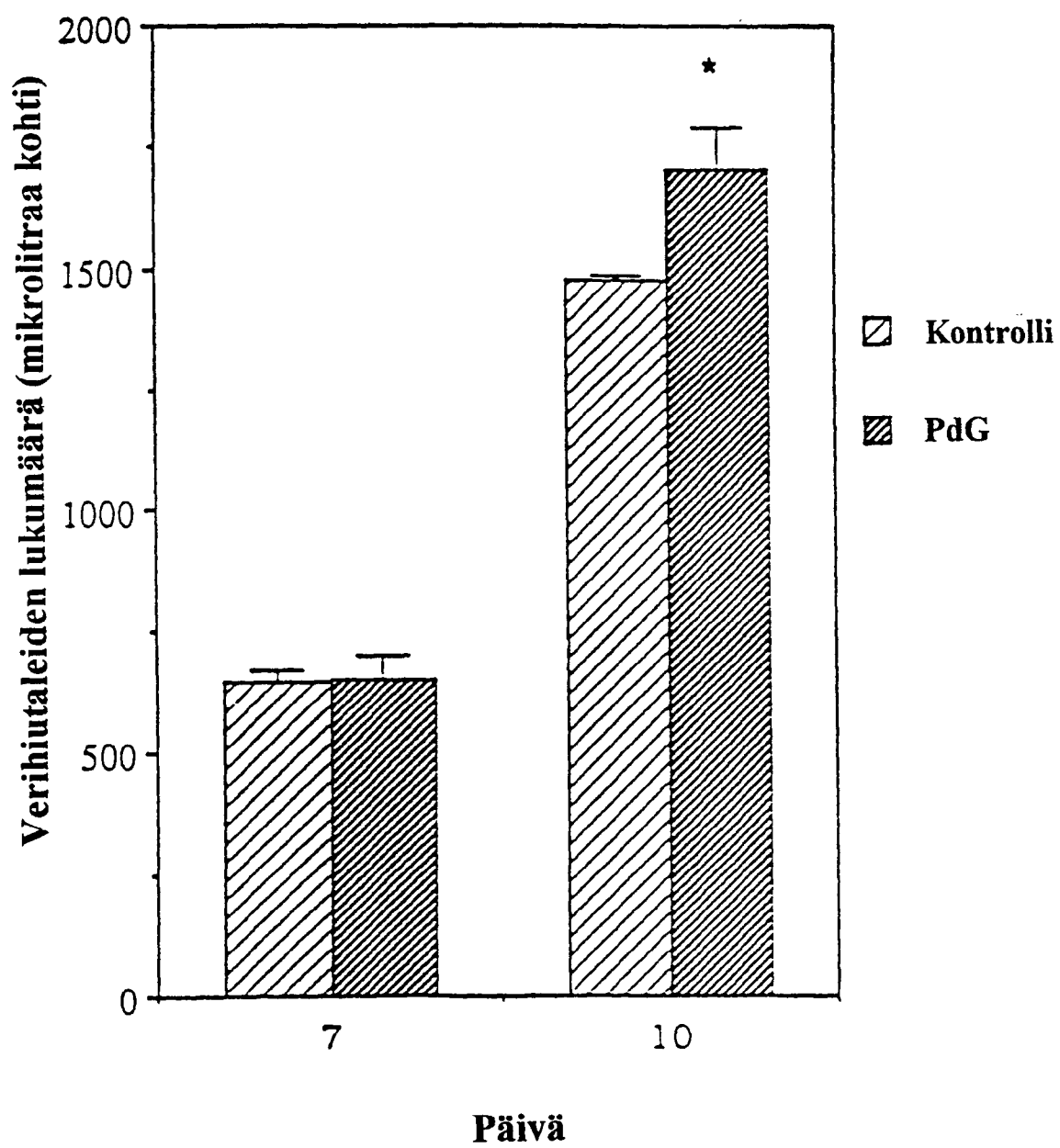


Kuvio 56



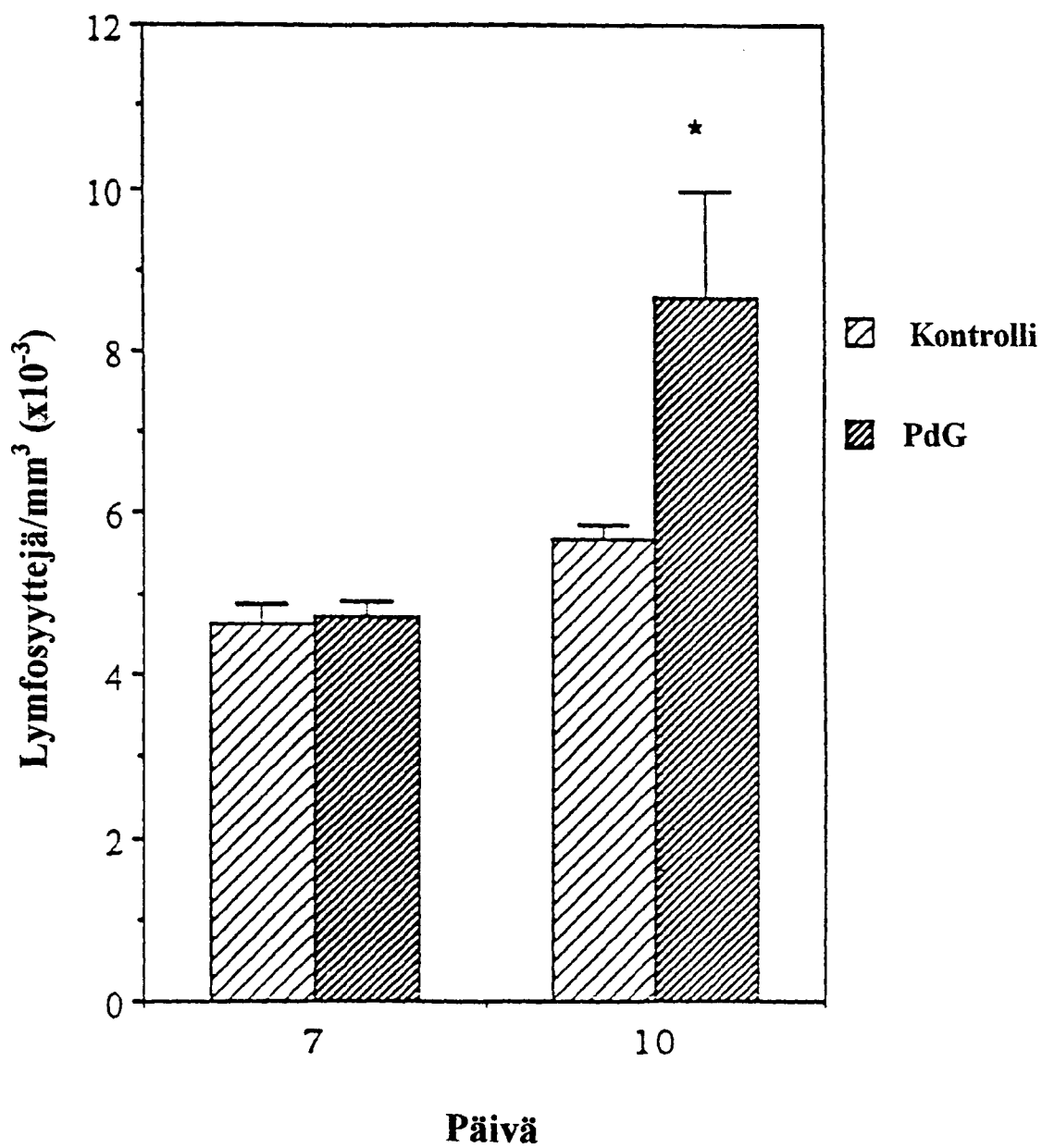
H. O. S. 37000

Kuvio 57



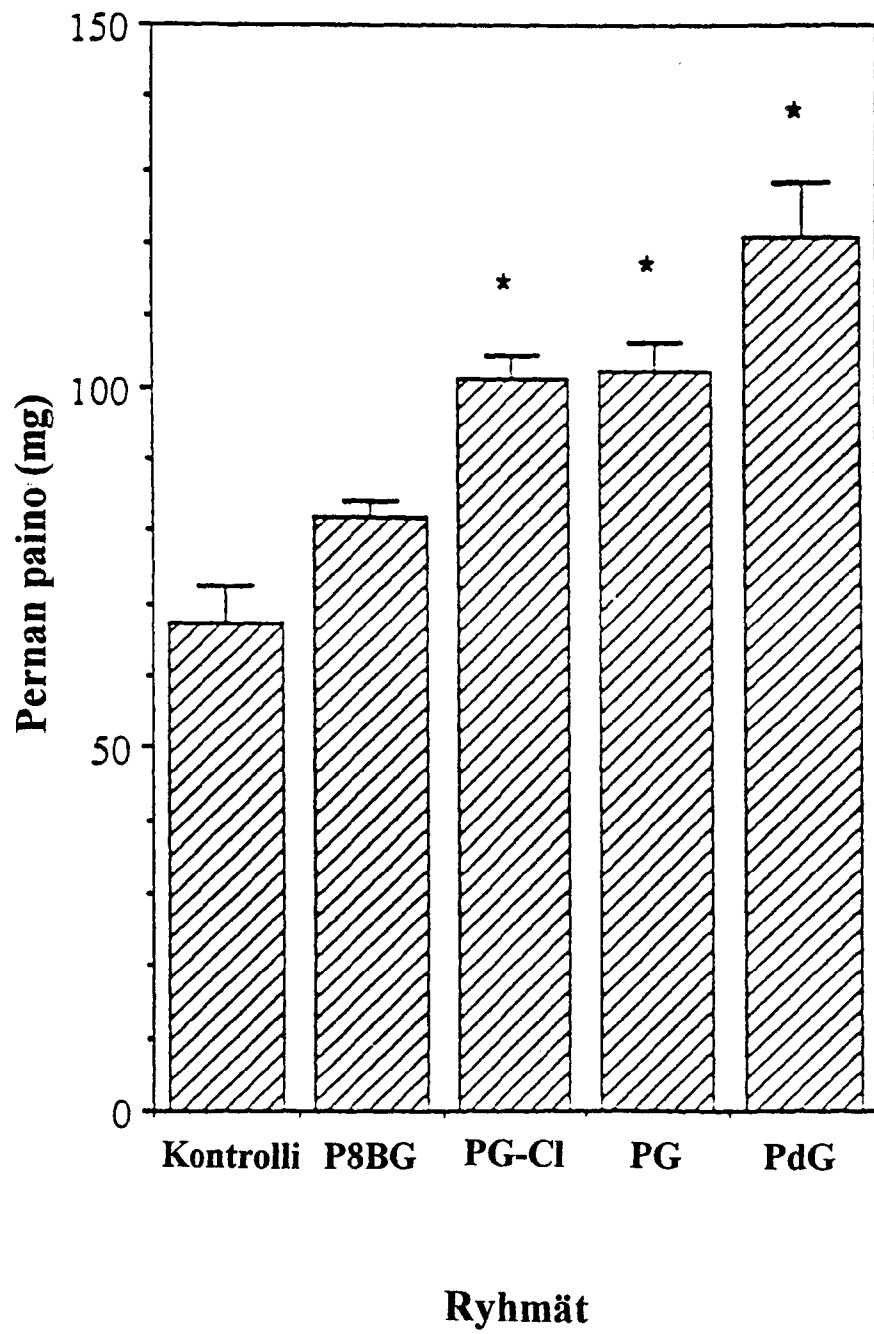
110405 370500

Kuvio 58

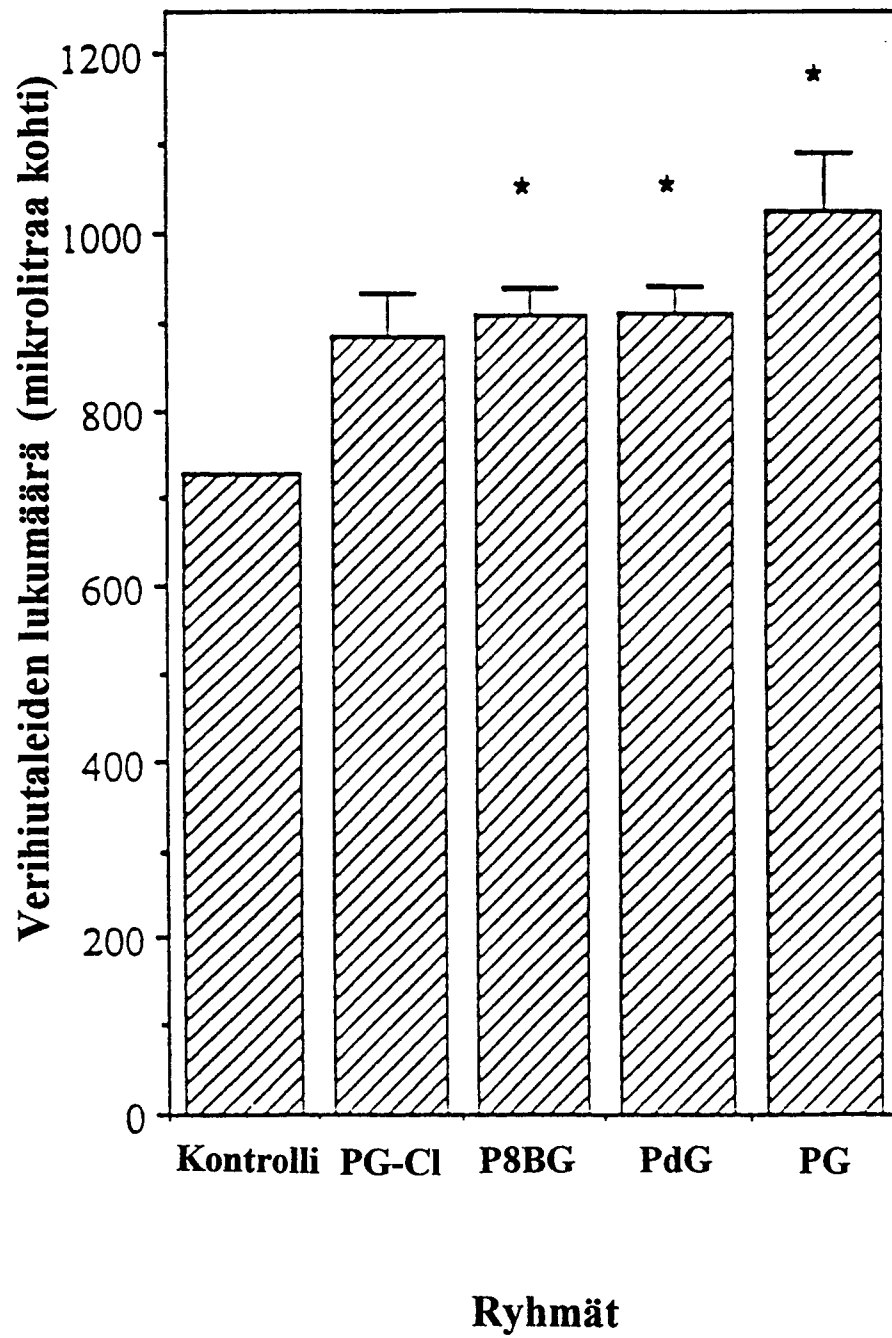


110435 370000

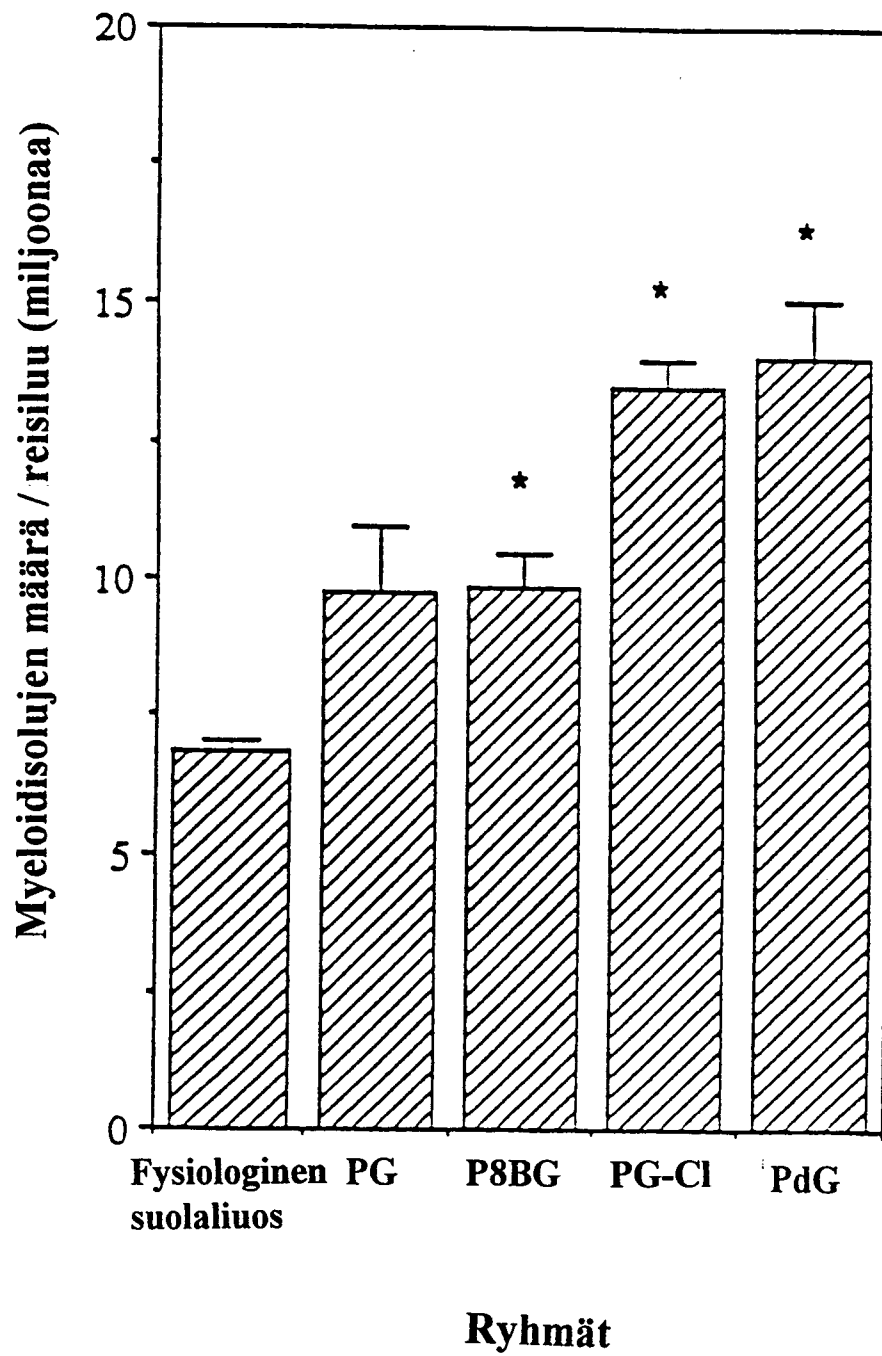
Kuvio 59



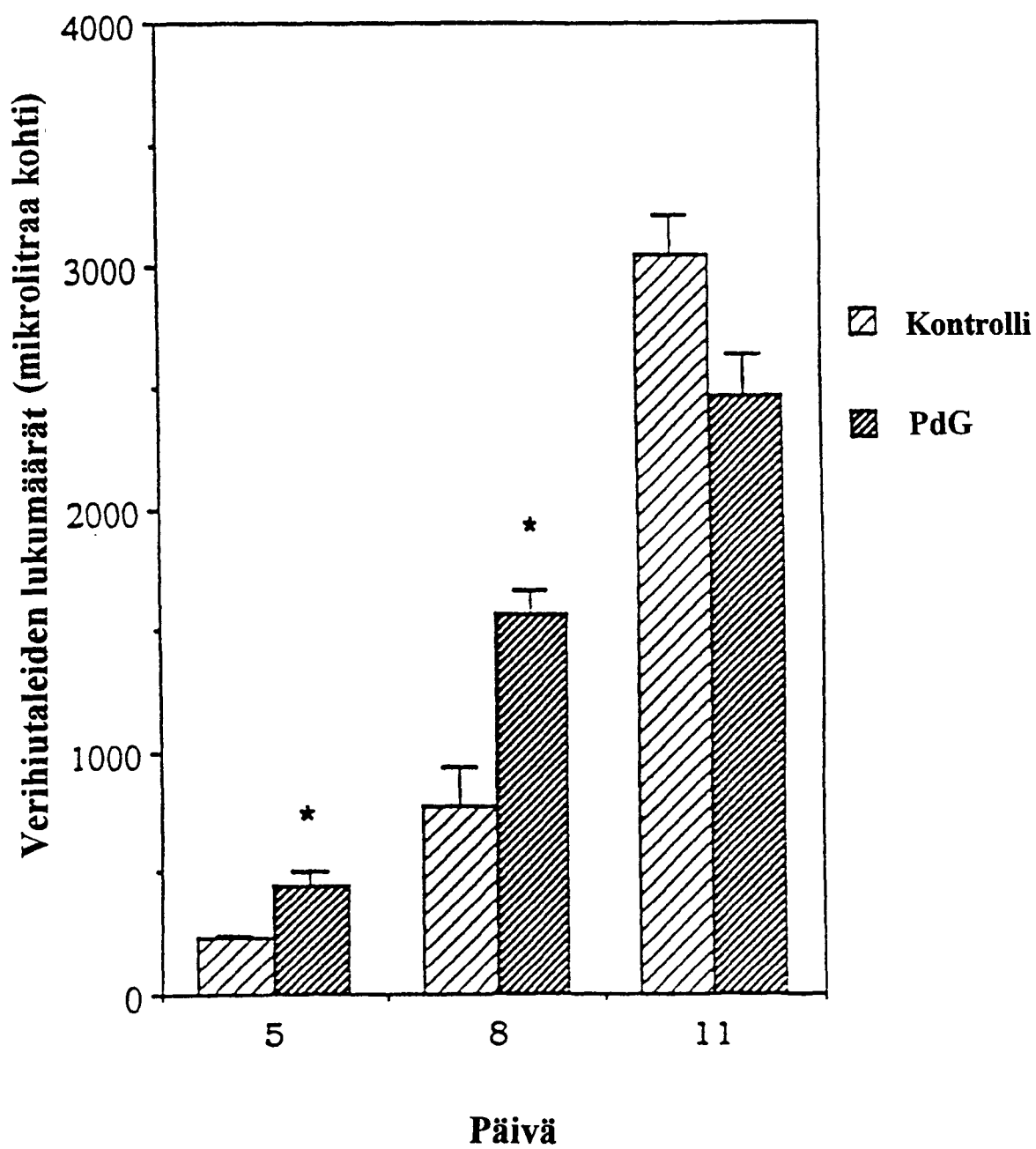
Kuvio 60



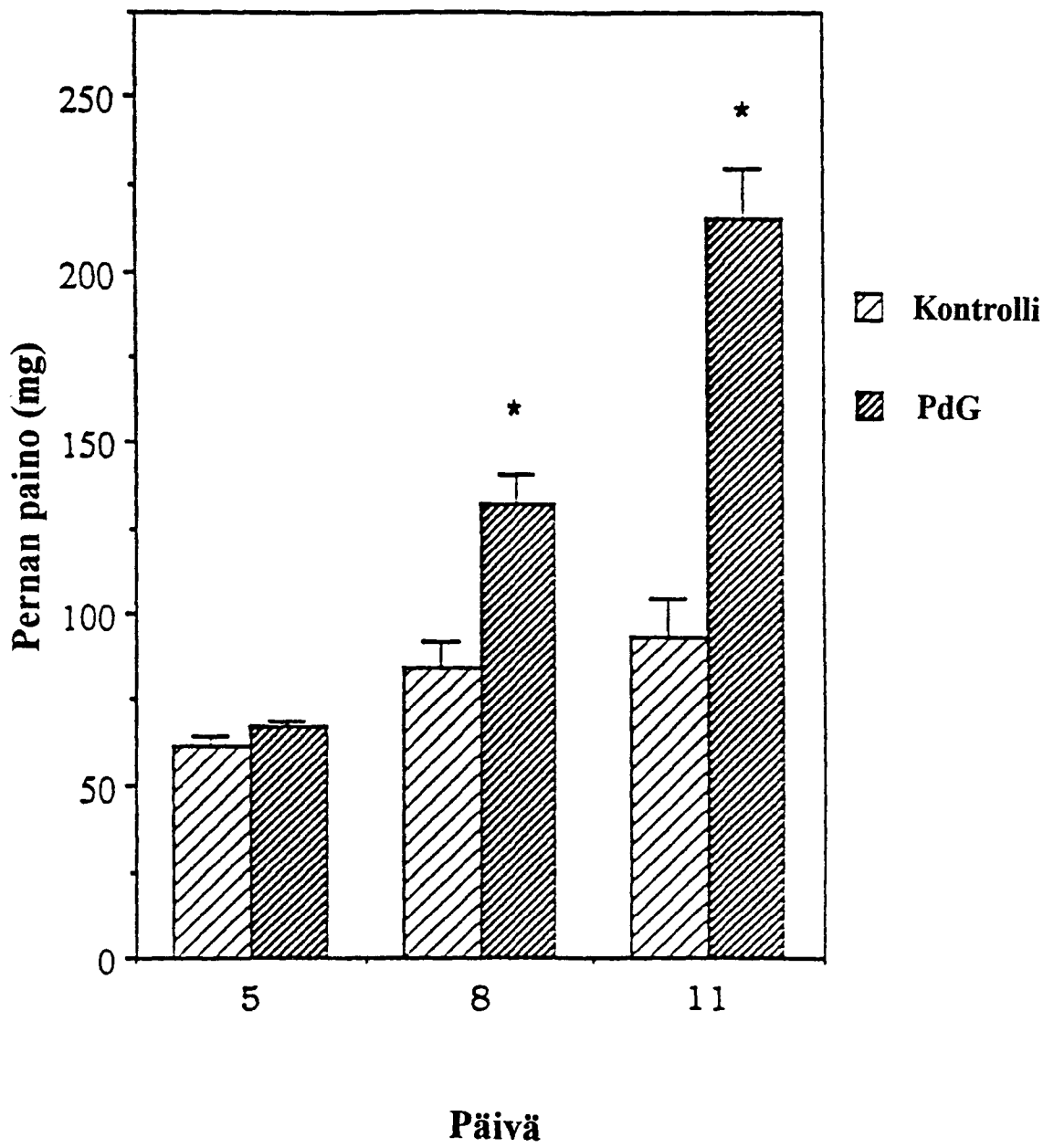
Kuvio 61



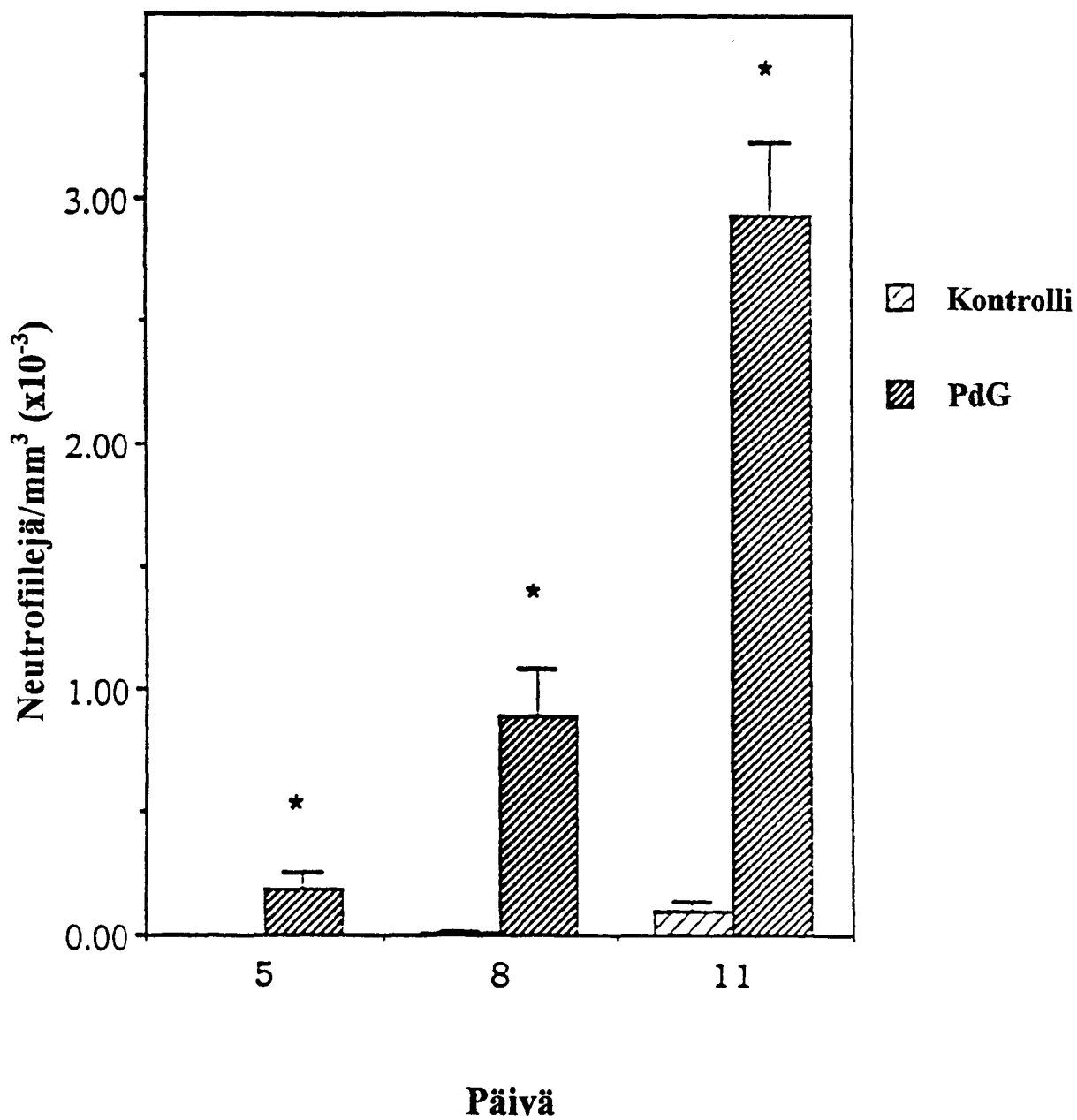
Kuvio 62



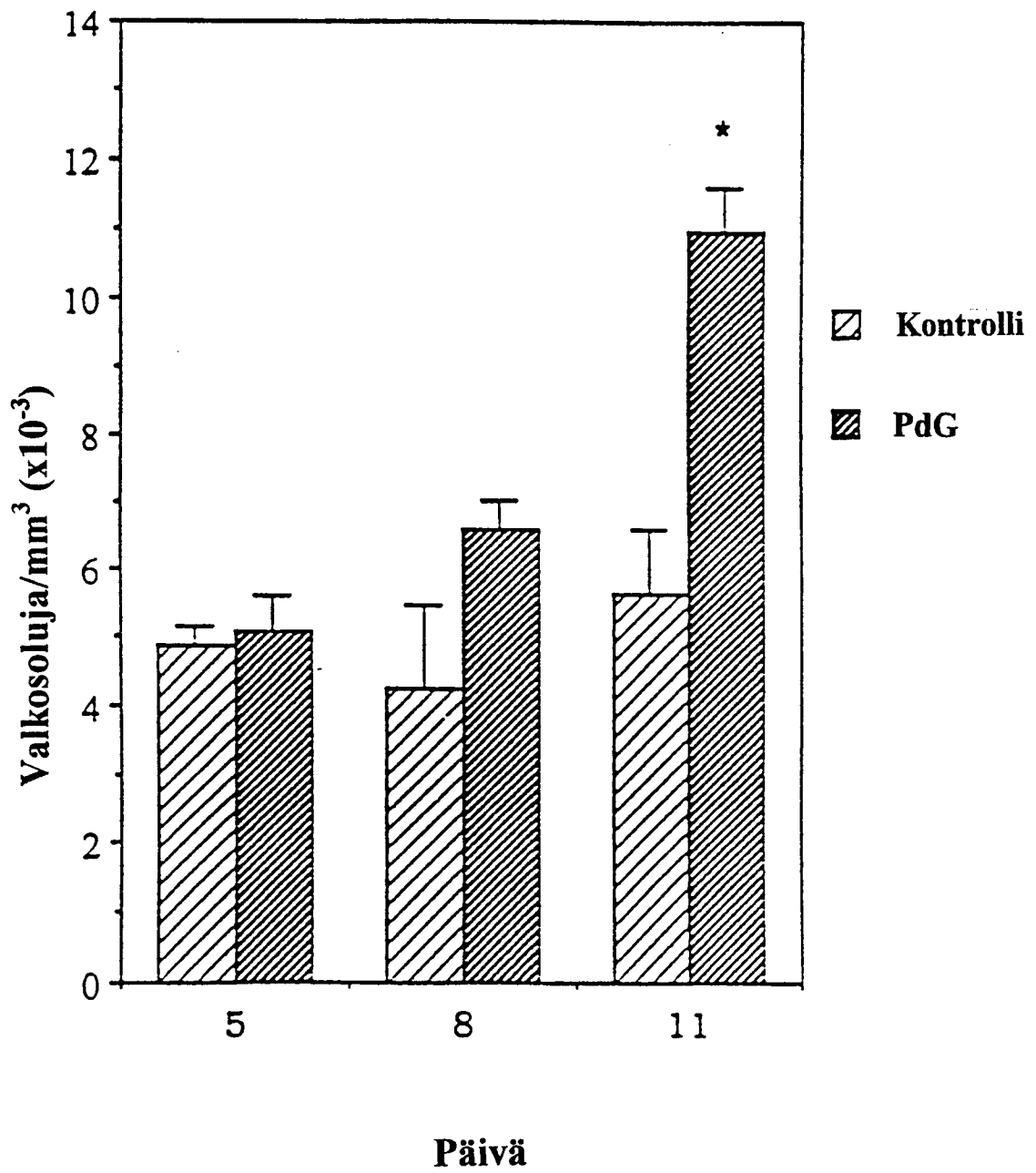
Kuvio 63



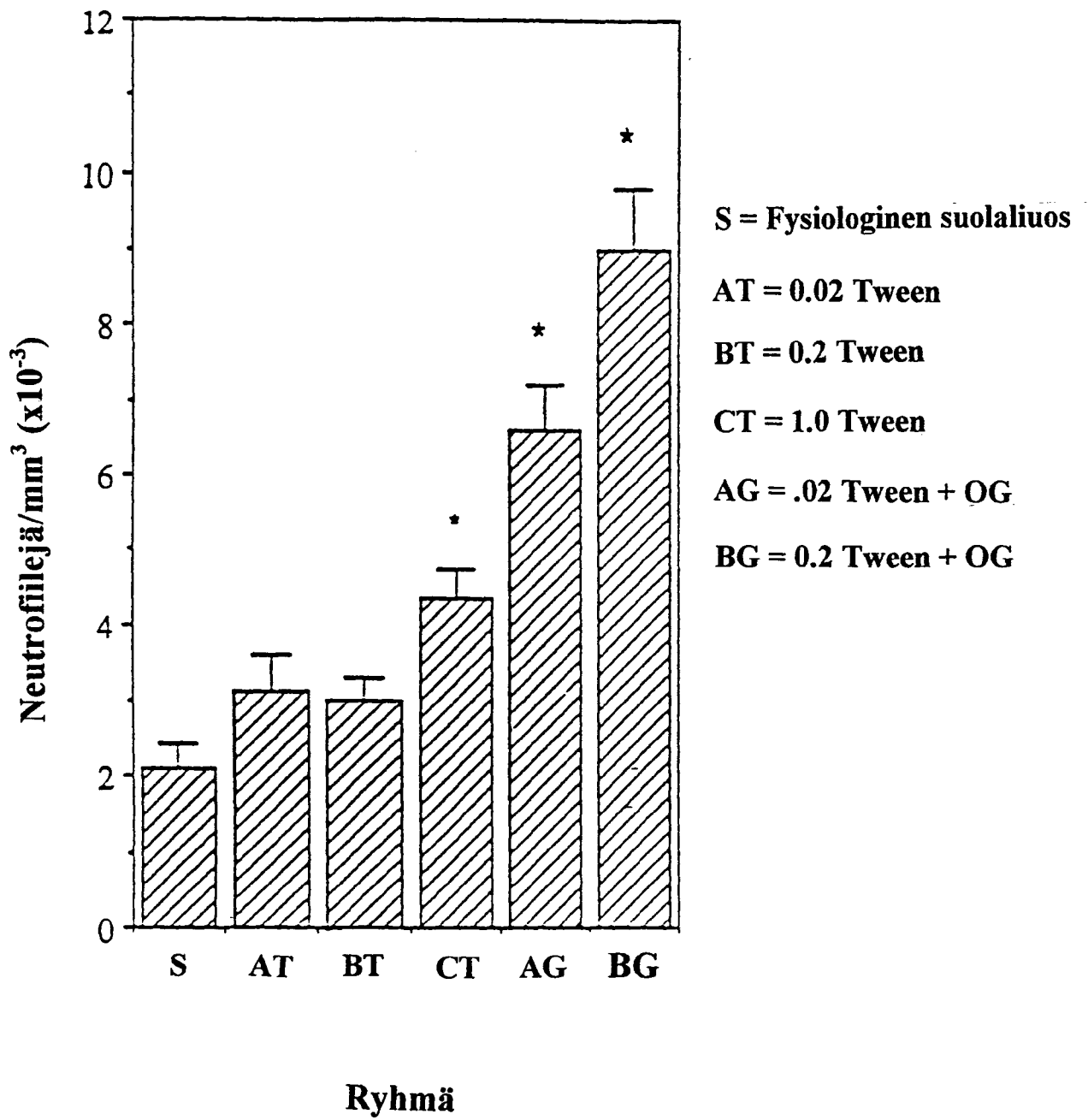
Kuvio 64



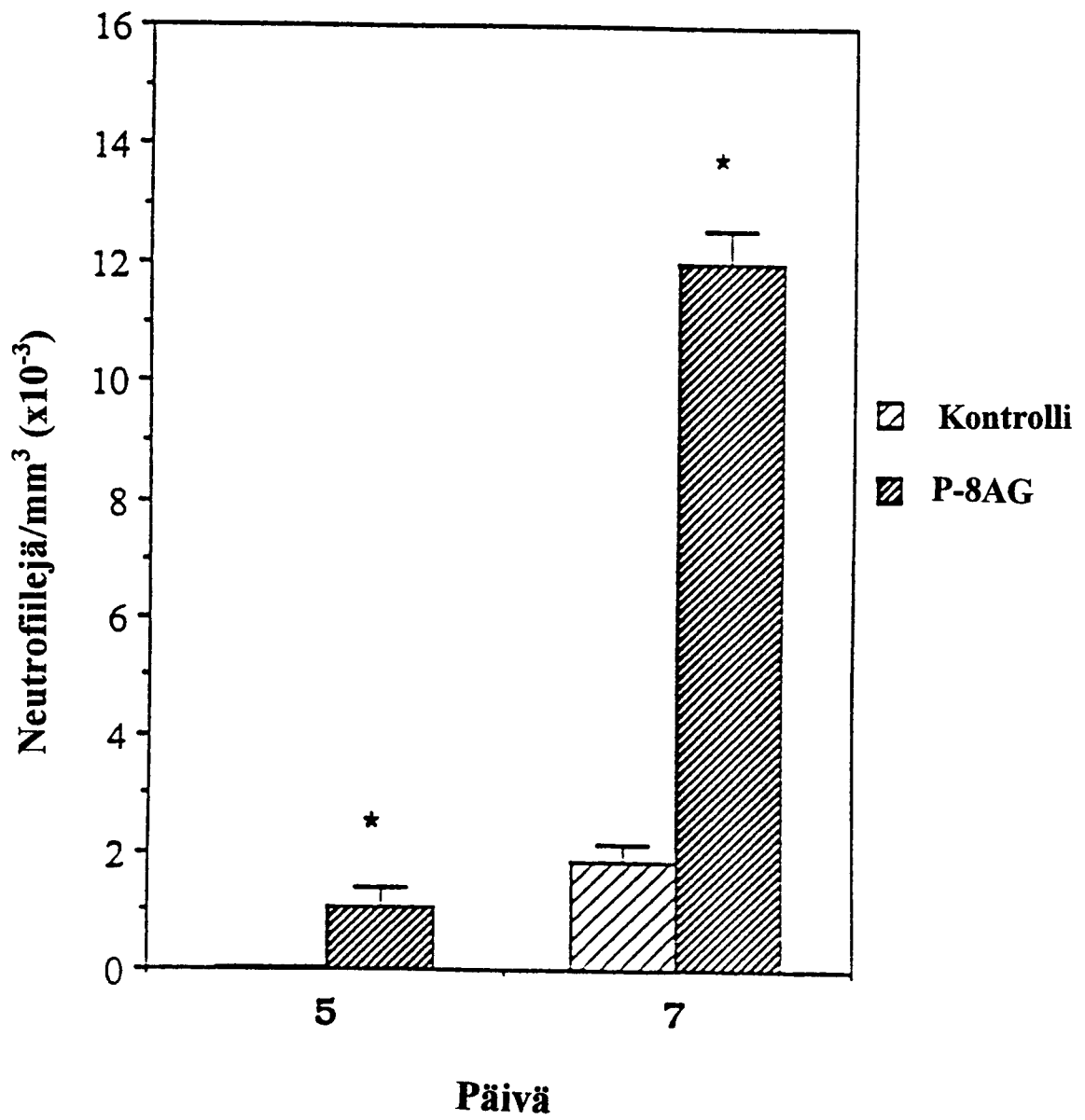
Kuvio 65



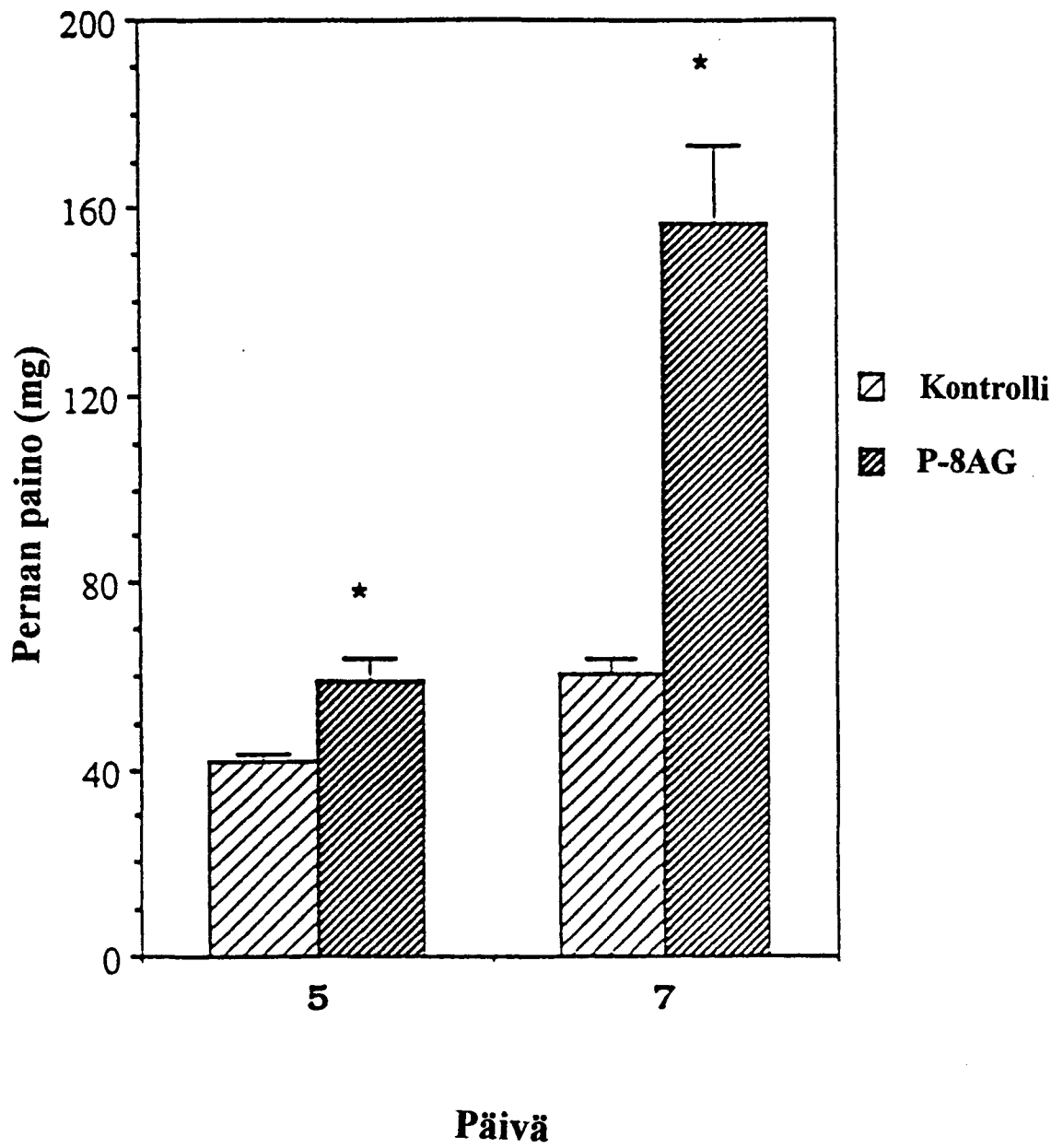
Kuvio 66



Kuvio 67



Kuvio 68



PdG mobilisoi hematopoieettisia kantasoluja

Kuvio 69

