



SUOMI - FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

(12) PATENTTIJULKAISU
PATENTSKRIFT



FI000111258B

(10) FI 111258 B

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats

30.06.2003

(51) Kv.Ik.7 - Int.kl.7

C07D 487/04 // A61K 31/40
(C07D 487/04, 209:00, 209:00)

(21) Patentihakemus - Patentansökning

953710

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag

03.08.1995

(24) Alkuperä - Löpdag

03.08.1995

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig

05.02.1996

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

04.08.1994 US 286043 P

(73) Haltija - Innehavare

1 •F. Hoffmann - La Roche AG, 124 Grenzacherstrasse, 4002 Basel, SVEITSI, (CH)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1 •Broka, Chris Allen, 821 Shell Boulevard, Boulder, CO 80301, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

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

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

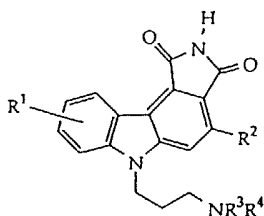
1,3-diookso-6-(3-metyyliaminopropyyli)-1,2,3,6-tetrahydro-4-(3-tienyyli)pyrrolo[3,4-c]karbatsoli ja sen suolat sekä näiden käyttö ja farmaseuttinen koostumus
1,3-diookso-6-(3-metyylaminopropyl)-1,2,3,6-tetrahydro-4-(3-tienyl)pyrrolo[3,4-c]karbazol och salter och användning och farmaceutisk komposition därav

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

DE A 4034687 (C 07D 487/04), EP A 362695 (C 07D 487/04)

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksintö koskee kaavan I mukaisia yhdisteitä,



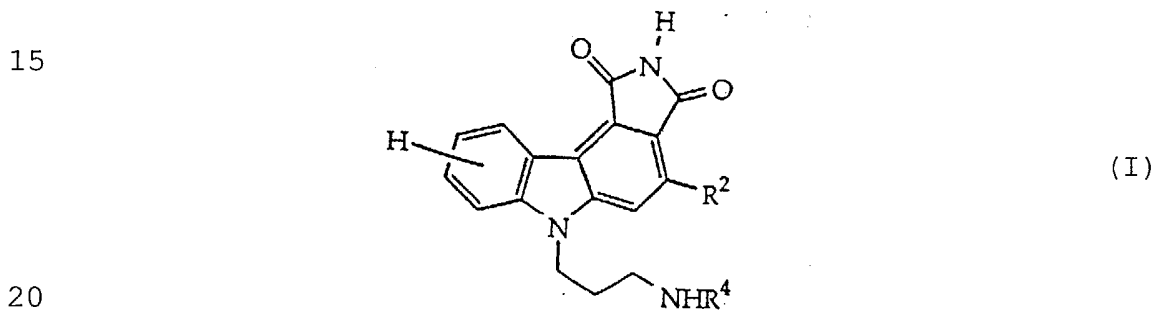
Uppfinningen avser föreningar med formeln I, vari R¹ betecknar väte eller lägre alkyl; R² betecknar heteroaryl; och R³ och R⁴ betecknar självständigt väte eller lägre alkyl; och farmaceutiskt godtagbara salter av dessa. Dessa föreningar är användbara som kemoterapeutiska ämnen.

jossa R¹ tarkoittaa vetyä tai alempaa alkyyliä; R² tarkoittaa heteroaryyliä; ja R³ ja R⁴ tarkoittavat itsenäisesti vetyä tai alempaa alkyyliä; ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja. Nämä yhdisteet ovat käyttökelpoisia kemoterapeuttisina aineina.

1,3-diokso-6-(3-metyyliaminopropyyli)-1,2,3,6-tetrahydro-4-(3-tienyyli)pyrrolo[3,4-c]karbatsoli ja sen suolat sekä näiden käyttö ja farmaseuttinen koostumus

5 Esillä oleva keksintö koskee uutta pyrrolokarbatsolijohdannaista ja sen suoloja, niitä sisältävää farmaseuttista koostumusta ja niiden käyttöä farmaseuttisten koostumusten valmistuksessa ja pahanlaatuisten sairauksien hoidossa.

10 Erityisemmin eräs esillä olevan keksinnön näkökohta koskee yhdistettä, joka on 1,3-diokso-6-(3-metyyliaminopropyyli)-1,2,3,6-tetrahydro-4-(3-tienyyli)pyrrolo[3,4-c]karbatsoli ja jolla on kaava I



jossa R² on 3-tienyyli ja R⁴ on metyyli, ja sen farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat.

Toisen näkökohdan mukaan keksintö koskee farmaseuttista koostumusta, joka on tarkoitettu pahanlaatuisten sairauksien hoitamiseen ja joka sisältää terapeuttisesti tehokkaan määrän kaavan I mukaista yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa yhdessä vähintään yhden farmaseuttisesti hyväksyttävän täyteaineen kanssa. Lisäksi keksintö koskee kaavan I mukaisen yhdisteen tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan käyttöä tällaisen farmaseuttisen koostumuksen valmistuksessa.

Erään muun näkökohdan mukaan keksintö koskee kaavan I mukaisen yhdisteen tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan käyttöä pahanlaatuisten sairauksien, erityisesti pienisoluisen keuhkosyövän, paksusuolisyövän

35

ja munuais- ja eturauhastuumorien hoitamisessa, jolloin tällaista hoitoa tarvitsevalle nisäkkäälle, erityisesti ihmiselle, annetaan terapeuttisesti tehokas annos kaavan I mukaista yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa.

Patenttijulkaisussa EP-A-0 362 695 esitetään 4-fenyyli- ja (substituoitu fenyyli)-1,3-diokso-1,2,3,6-tetrahydropyrrolo[3,4-c]karbatsoleja, joilla on proteinaasikinaasi-C aktiivisuutta. Patenttijulkaisussa DE-A-40 34 687 esitetään samankaltaisia yhdisteitä, joilla kuitenkin on kasvaintenvastaista aktiivisuutta.

"Mahdollinen" tai "mahdollisesti" tarkoittaa, että seuraavaksi kuvattu tapahtuma tai olosuhde voi tai ei voi esiintyä, ja että selitys käsittää tapaukset, joissa mainittu tapahtuma tai olosuhde esiintyy ja tapaukset, joissa se ei esiinny.

"Farmaseuttisesti hyväksyttävä suola" voi olla mikä tahansa suola, joka on johdettu epäorgaanisesta tai orgaanisesta haposta. Termi "farmaseuttisesti hyväksyttävä anioni" viittaa tällaisten happoadditiosuolojen anioneihin. Suola ja/tai anioni on valittu, jotta se ei olisi biologisesti tai muuten ei-toivottu.

Anionit on johdettu epäorgaanisista hapoista, kuten kloorivetyhaposta, bromivetyhaposta, rikkihaposta (jolloin syntyy sulfaatti- ja bisulfaattisuoloja), typpihaposta, fosforihaposta ja vastaavista, ja orgaanisista hapoista, kuten etikkahaposta, propionihaposta, glykolihaposta, palorypälehaposta, oksaalihaposta, omenahaposta, malonihaposta, meripihkahaposta, maleiinihaposta, fumaarihaposta, viinihaposta, sitruunahaposta, bentsoehaposta, kanelihaposta, mantelihaposta, metaanisulfonihaposta, etaanisulfonihaposta, salisyylilihaposta, p-tolueenisulfonihaposta ja vastaavista.

Termi "hoito" tai "hoitaminen" tarkoittaa mitä tahansa sairauden hoitamista nisäkkäällä, mukaan lukien:

(i) sairauden ennalta ehkäisy, so. aikaansaadaan että sairauden kliiniset oireet eivät kehity;

(ii) sairauden estäminen, so. estetään kliinisiä oireita kehittymästä; ja/tai

5 (ii) sairauden lievittäminen, so. aikaansaadaan että kliiniset oireet taantuvat.

Termi "tehokas annos" tarkoittaa annosta, joka on riittävä aikaansaamaan hoidettavan sairaustilan hoidon. Tämä vaihtelee riippuen potilaasta, sairaudesta ja annettavasta hoidosta.

10 Termit "liuotin", "inertti orgaaninen liuotin" ja "inertti liuotin" tarkoittavat liuotinta, joka on inertti reaktion yhteydessä kuvatuissa olosuhteissa [käsittäen esimerkiksi bentseenin, tolueenin, asetonitriilin, tetrahydrofuraanin ("THF"), dimetyyliformamidin ("DMF"), kloroformin, metyleenikloridin (tai dikloorimetaanin), dietyylietterin, metanolin, pyridiinin ja vastaavat]. Ellei muuta sanota, esillä olevaan keksintöön liittyvissä reaktioissa käytetyt liuottimet ovat inerttejä, orgaanisia liuottimia.

20 Termi "q.s." tarkoittaa että lisätään määrä, joka on riittävä, jotta saavuttaisiin mainittu funktio, esim. tuomaan liuos haluttuun tilavuuteen (so. 100 %).

25 Ellei muuta sanota, tässä kuvatut reaktiot tapahtuvat ilmakehän paineessa lämpötilavälillä 5 - 100 °C (edullisesti 10 - 50 °C; edullisimmin "huoneen" tai "ympäristön" lämpötilassa, esim. 20 °C). Lisäksi, ellei muuta sanota, reaktioajat ja -olosuhteet on tarkoitettu olemaan suuntaa antavia, esim. ne tapahtuvat noin ilmakehän paineessa lämpötilavälillä noin 5 °C - noin 100 °C (edullisesti noin 10 °C - noin 50 °C; edullisimmin noin 20 °C) aikavälillä noin 1 - noin 10 tuntia (edullisesti noin 5 tuntia). Esimerkeissä ilmoitetut parametrit on tarkoitettu olemaan tarkkoja, ei suuntaa antavia.

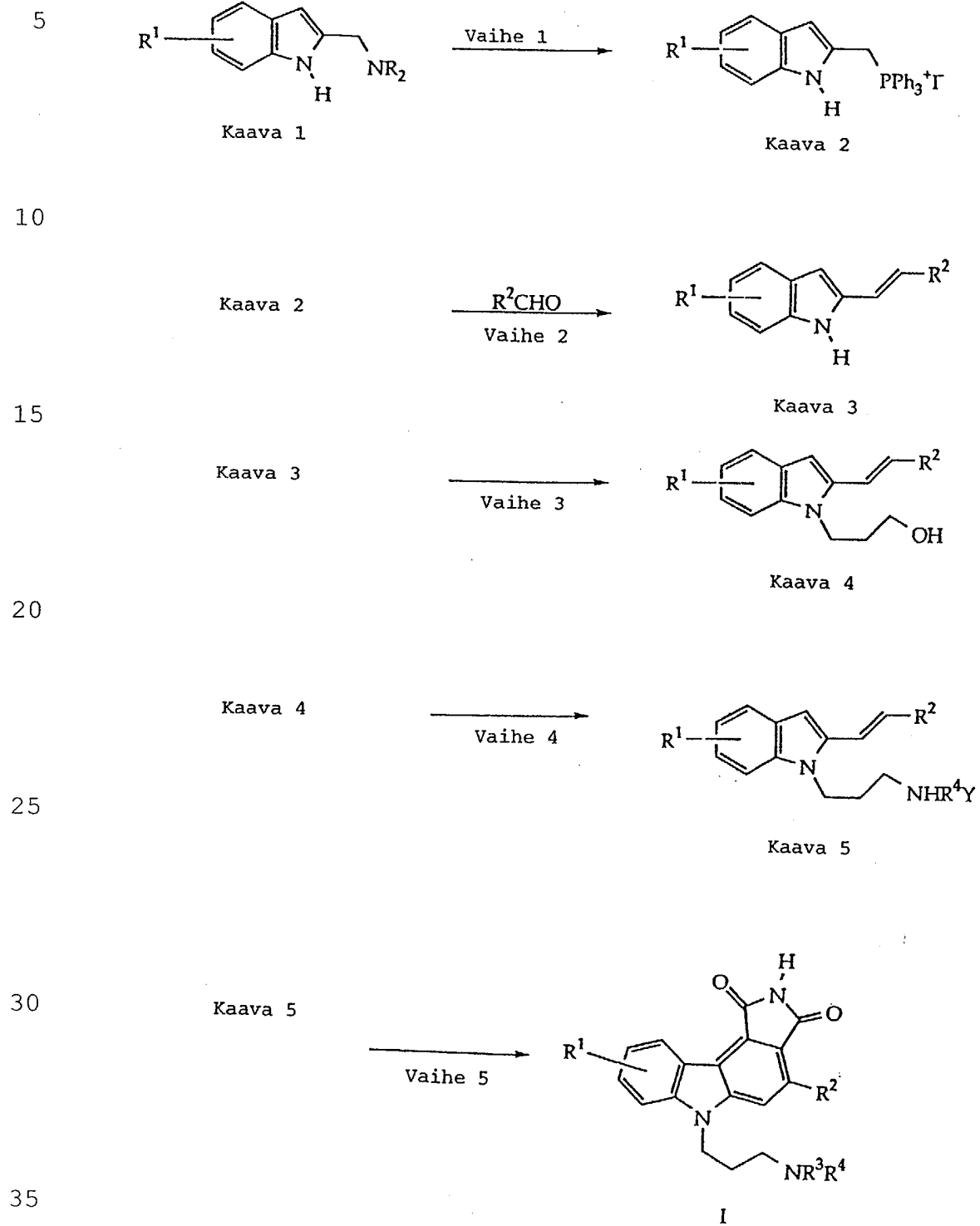
Tässä kuvattujen yhdisteiden ja välituotteiden eristäminen voidaan suorittaa, näin haluttaessa, millä tahansa sopivalla erotus- tai puhdistusmenetelmällä kuten esimerkiksi suodattamalla, uuttamalla, kiteyttämällä, pyl-
5 väskromatografialla, ohutkerroskromatografialla tai paksu-
kerroskromatografialla tai näiden menetelmien yhdis-
telmällä. Erityisten sopivien erotus- ja eristysmenetel-
mien kuvaus voidaan löytää jäljempänä olevista esimer-
keistä. Kuitenkin voidaan tietysti käyttää muita vastaavia
10 erotus- tai eristämismenetelmiä.

Kaavan I mukainen yhdiste voidaan valmistaa seuraavalla, reaktiokaavioon 1 viittaavalla menettelyllä.

Reaktiokaaviossa 1 R^1 on vety, R_2 on metyyli, R^2 on 3-tienyyli, R^3 on vety, R^4 on metyyli ja Y on amino-
15 suojaryhmä.

Kaavan I mukainen N,N-dimetyyliaminometyyli-indoli on kaupallisesti saatavissa Aldrich Chemical Companysta, Milwaukee, WI.

Reaktiokaavio 1



Kuten on kuvattu reaktiokaaviossa 1, vaiheessa 1, kaavan 1 mukainen N,N-dimetyyliaminometyyli-indoli muutetaan kaavan 2 mukaiseksi fosfoniumsuolaksi käyttäen menetelmää, joka on kuvattu julkaisussa Canadian J. Chem.,
5 Vol. 51, s. 792 (1973).

Kaavan 1 mukainen yhdiste, N,N-dimetyyliamino-
metyyli-indoli, liuotetaan proottiseen liuottimeen, edul-
lisesti metanoliin, ja saatetaan reagoimaan metyylijo-
didiylimäärän kanssa lämpötilassa 10 - 50 °C (edullisesti
10 25 °C) 1 - 10 tuntia (edullisesti 3 tuntia). Noin 1 mooli-
ekvivalentti trifenyylifosfiinia polaarissa liuot-
timessa (edullisesti dimetyyliformamidissa) lisätään
tuotteeseen, ja seosta pidetään 100 - 150 °C:ssa, edulli-
sesti refluksointilämpötilassa, 6 - 24 tuntia, edullisesti
15 16 tuntia. Kun reaktio on oleellisesti mennyt loppuun,
kaavan 2 mukainen fosfoniumsuola eristetään ja puhdis-
tetaan tavanomaisin menetelmin, edullisesti kiteyttämällä.

Kuten on kuvattu reaktiokaaviossa 1, vaiheessa 2,
kaavan 2 mukainen fosfoniumsuola saatetaan reagoimaan
20 kaavan R²CHO mukaisen tiofeeni-3-karboksisialdehydin kanssa
emäksen läsnä ollessa, jolloin saadaan kaavan 3 mukainen
vinyyli-indoli.

Kaavan 2 mukainen fosfoniumsuola liuotetaan polaa-
riseen, aproottiseen liuottimeen (edullisesti DMSO:iin) ja
25 saatetaan reagoimaan kaavan R²CHO mukaisen aldehydin
kanssa estetyn emäksen (edullisesti) 1,8-diatsabisyklo-
[5.4.0]undek-7-eenin) läsnä ollessa. Reaktio suoritetaan
20 - 100 °C:ssa (edullisesti 80 °C:ssa) noin kahden tunnin
aikana, minkä jälkeen seosta sekoitetaan noin 20 °C:ssa
30 6 - 48 tuntia (edullisesti noin 16 tuntia). Kun reaktio on
oleellisesti mennyt loppuun, kaavan 3 mukainen vinyyli-
indoli eristetään ja puhdistetaan tavanomaisin menetelmin,
edullisesti silikageelikromatografialla tai kiteyttämällä.

Kuten on kuvattu reaktiokaaviossa 1, vaiheessa 3, kaavan 3 mukainen vinyyli-indoli saatetaan reagoimaan 1-jodi-3-(t-butyyli)difenyyli-silyylioksi-propaanin kanssa ja suojaus poistetaan, jolloin saadaan kaavan 4 mukainen 5 N-hydroksipropyli-vinyyli-indoli.

Kaavan 3 mukainen vinyyli-indoli liuotetaan polaariseen, aproottiseen liuottimeen (edullisesti DMF:in) ja käsitellään alkalimetallihydridillä esimerkiksi kaliumhydridillä tai natriumhydridillä (edullisesti kaliumhydridillä) 10 lämpötilassa 0 - 50 °C (edullisesti 25 °C). Kun reaktio on kestänyt 5 minuuttia - 3 tuntia (edullisesti 15 minuuttia), 1-jodi-3-(t-butyyli)difenyyli-silyylioksi-propaani lisätään ja reaktioseosta sekoitetaan samassa lämpötilassa 1 - 24 tuntia (edullisesti noin 15 15 tuntia). Kun reaktio on oleellisesti mennyt loppuun, silyylisuojaattu yhdiste eristetään ja puhdistetaan tavanomaisiin menetelmin, edullisesti silikageelikromatografialla. Silyyliryhmä poistetaan käsittelemällä tetrabutyyliammoniumfluoridilla tai pyridiini-fluorivetyhapolla tetrahydro- 20 furaanissa tai dimetoksietaanissa 20 - 30 °C:ssa 1 - 12 tuntia (edullisesti kahden tunnin ajan). Kaavan 4 mukainen N-hydroksipropyli-vinyyli-indoli puhdistetaan edullisesti silikageelikromatografialla.

Kuten on kuvattu reaktiokaaviossa 1, vaiheessa 4, 25 kaavan 4 mukaisen yhdisteen hydroksiryhmä muutetaan suojaetuksi aminoryhmäksi kaavan 5 mukaisen yhdisteen saamiseksi.

Kaavan 4 mukainen alkoholi liuotetaan metyleenikloridiin ja käsitellään estetyllä emäksellä (esimerkiksi 30 2,6-lutidiinilla tai 2,4,6-kollidiinilla, edullisesti 2,6-lutidiinilla), sekä trifluorimetaanisulfonihappoanhydridilla lämpötilassa -10 - 20 °C (edullisesti 0 °C), 15 minuutin - 1 tunnin aikana (edullisesti 30 minuuttia). Tuote saatetaan sitten reagoimaan ylimäärän kanssa kaavan 35 R^3R^4NH mukaista metyyliamiinia lämpötilassa 0 - 40 °C

(edullisesti 25 °C), noin kolmen tunnin aikana, minkä jälkeen annetaan reagoida noin 0 °C:ssa 6 - 24 tuntia (edullisesti 12 tuntia). Kun reaktio on oleellisesti mennyt loppuun, vinyyliamiini eristetään ja joko puhdistetaan tavanomaisin menetelmin, edullisesti silikageelikromatografi-
5 grafialla, tai se käytetään suoraan seuraavassa reaktiossa.

Syntynyt välituoteamiini on primäärinen amiini ja se suojataan liuottamalla se tertiääriseen emäkseen (edullisesti pyridiiniin) ja saattamalla se reagoimaan trifluorietikkahapponanhydridin kanssa 5 minuutin - 4 tunnin ajan (edullisesti 30 minuuttia) lämpötilassa noin 25 °C. Kun reaktio on oleellisesti mennyt loppuun, kaavan 5 mukainen vinyylitrifluoriasetamidoyhdiste eristetään ja
15 puhdistetaan tavanomaisin menetelmin, edullisesti silikageelikromatografialla.

Kuten on kuvattu reaktiokaaviossa 1, vaiheessa 5, kaavan 5 mukainen suojattu vinyylitrifluoriasetamidoyhdiste muutetaan kaavan I mukaiseksi yhdisteeksi saattamalla se reagoimaan maleiini-imidin kanssa.
20

Kaavan 5 mukainen suojattu vinyyliamiini liuotetaan aromaattiseen hiilivetyyn (edullisesti tolueeniin) ja refluksoidaan yhdessä 2 - 3 mooliekvivalentin (edullisesti 2 mooliekvivalentin) kanssa maleiini-imidia 6 - 24 tuntia (edullisesti 16 tuntia). Kun reaktio on oleellisesti mennyt loppuun, Diels-Alder -addukti eristetään ja puhdistetaan, edullisesti silikageelikromatografialla. Tämä addukti liuotetaan inerttiin liuottimeen (esim. bentseeniin, tolueeniin, metyleenikloridiin, edullisesti bentseeniin)
25 ja käsitellään yhdessä 2 - 3 mooliekvivalentin (edullisesti 2 mooliekvivalentin) kanssa diklooridisyaanibentsokinonia lämpötilassa 20 - 50 °C (edullisesti 25 °C), 15 minuutin - 3 tunnin ajan (edullisesti 30 minuuttia). Kun reaktio on oleellisesti mennyt loppuun, syntynyt
30 karbatsoli eristetään tavanomaisin menetelmin. Suojaryhmä
35

Y poistetaan. Suojaryhmän poistaminen voi tapahtua sinänsä tunnetuin menetelmin. Jos esim. trifluoriasetaattisuojarahmä on läsnä, karbatsoli käsitellään epäorgaanisella emäksellä (natriumhydroksidilla, kaliumhydroksidilla ja vastaavilla, edullisesti natriumhydroksidilla) proottisessa liuottimessa (esim. esim metanolissa, etanolissa tai niiden seoksessa), sitä sekoitetaan tetrahydrofuraanin kanssa noin 15 minuutin ajan noin 25 °C:ssa trifluoriasetaattisuojarahmän lohkaisemiseksi. Vaihtoehtoisesti, jos amiini on suojattu t-BOC-ryhmällä, suojaryhmä poistetaan käsittelemällä hapolla. Syntynyt kaavan I mukainen pyrrolokarbatsoli eristetään ja puhdistetaan, edullisesti silikageelikromatografialla.

Kaavan I mukainen yhdiste voidaan muuttaa vastaaviksi happoadditiosuoloiksi. Muuttaminen suoritetaan käsittelemällä sitä stökiometrisellä määrällä vastaavaa happoa, kuten kloorivetyhapolla (esim. 3 mooliekvivalentilla trihydrokloridisuolan muodostamiseksi). Tyypillisesti vapaa emäs liuotetaan polaariseen, orgaaniseen liuottimeen, kuten metanoliin tai etanoliin, ja happo lisätään vedessä, metanolissa tai etanolissa. Lämpötila pidetään välillä 0 - 50 °C. Vastaava suola saostuu spontaanisti tai se voidaan saostaa liuoksesta vähemmän polaarisen liuottimen avulla.

Kaavan I mukaisen yhdisteen happoadditiosuolat voidaan hajottaa vastaavaksi vapaaksi emäkseksi käsittelemällä niitä sopivan emäksen ylimäärällä, kuten ammoniakilla tai natriumvetykarbonaatilla, tyypillisesti vesipitoisen liuottimen läsnä ollessa, ja lämpötilassa välillä 0 - 50 °C. Vapaa emäsmuoto eristetään tavanomaisin menetelmin, kuten uuttamalla orgaanisella liuottimella.

Keksinnön mukainen yhdiste on proteinaasikinaasi C -inhibiittori ja se on käyttökelpoinen kemoterapeuttisena aineena hoidettaessa nisäkkäitä, erityisesti ihmisiä, joilla on erilaisia pahanlaatuisia sairauksia, kuten pienisolainen keuhkosyöpä, paksusuolisyöpä, rintasyöpä-

pätuumoreita, joita vastaavat MCS7-, MDA-MB-435- ja MDA-N-solulinjat, ja PKA- yliekspressoivia tuumoreita, kuten ne, joita vastaa CHO/PK-ε.

In vitro -aktiivisuus proteinaasikinaasi C -inhibitiolle määritetään kvantitatiivisesti mittaamalla ³²P:n sisällyttäminen γ-³²P ATP:stä synteettisiin peptidisubstraatteihin.

In vivo -aktiivisuus kemoterapeuttisilla aineilla, erityisesti pahanlaatuisten sairauksien hoidossa, määritetään tuumori-inhibitiokokeilla, esimerkiksi kuten ovat kuvanneet Maneckjee et al., julkaisussa Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol 89, 1169 - 1173 (helmikuu 1992). Kokeen muunnelmia voidaan suorittaa, esim. käyttämällä HT-29 paksusuolisyöpäsoluja, SCLC H82 -soluja, CHO/PK-β- ja CHO/PKC-ε-soluja.

Seuraavissa koe-esimerkeissä 1 - 3 esitetään edellä mainituissa kokeissa saadut tulokset.

Koe-esimerkki 1

Aktiivisuuden *in vitro* -määritys käyttäen proteinaasikinaasi C -inhibitiokoetta.

Proteinaasikinaasi C (PKC) -inhibitioaktiivisuus määritetään kvantitatiivisesti mittaamalla ³²P:n sisällyttäminen γ-³²P ATP:stä synteettisiin peptidisubstraatteihin. Inhibitiopotentiaali mitataan käyttäen PKC:n β1 -isotsyymiä rotan aivoista ja synteettistä peptidisubstraattia ala-lys-arg-arg-arg-leu-ser-ser-leu-arg-ala.

Reaktioseokseen, jossa on 25 mM Tris-HCl, pH 7,5, 2,5 mM Mg(NO₃)₂, 1,0 mM EGTA, 20 μM substraattia, 1 μg/ml fosfatidyylliseriiniä (PS), 5 × 10⁻⁶ M diasyylyglyseroli(di-C8) ja 50 μM ATP, lisätään γ-³²P ATP (>5000 Ci/mmol) aiheuttamaan noin 10⁶ CPM reaktiota kohti ja 0,08 μg/ml PKC 50 μl:n tilavuuden astiaa kohti. Koe suoritetaan ilman testiyhdistettä tai sen kanssa, lisättynä eri väkevyyksinä. Viiden minuutin inkubaatioajan jälkeen huoneenlämpötilassa reaktio lopetetaan lisäämällä 0,2 V 50-%:ista TCA-

liuosta. 30 µl:n tilavuus kustakin astiasta (kontrolli ja testiyhdiste) laitetaan Whatman P-81 ioninvaihtokromatografiapaperille, ja ³²P:n sisällyttäminen lasketaan sitten Beckman LS 5000 nestetuikelaskurilla. 5 x 10⁻⁶ M di-C8:lla ja 1 µg/ml fosfatidyylikeriiniinillä aktivoituneen PKC:n prosentuaalinen inhibitio määritetään kaavalla:

$$\% \text{ inhibitio} = 1,0 - [(\text{näyte CPM} - \text{perus CPM}) / (\text{kokonais CPM} - \text{perus CPM})] \times 100$$

ja määritetään 50 %:n inhibition saavuttamiseksi tarvittava konsentraatio.

Keksinnön mukainen yhdiste on aktiivinen proteinaasi C -inhibiittori testattaessa tällä menetelmällä; 1,3-diokso-6-(3-metyyliamiinopropyli)-1,2,3,6-tetrahydro-4-(3-tienyyli)pyrrolo[3,4-c]karbatsolin IC₅₀ -arvo on 30 nM.

Koe-esimerkki 2

Aktiivisuuden *in vivo* -määrittäminen käyttäen pienisoluisen keuhkosyövän ksenograftikoetta.

Tämä menetelmä on muunnelma menetelmästä, jonka ovat kuvanneet Maneckjee et al., julkaisussa Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol 89, 1169 - 1173 (helmikuu 1992).

H82 pienisoluisen keuhkosyövän soluja (SCLC) sulatetaan jäädytetystä varastosta ja niitä kasvatetaan RPMI:ssä. Ennen injektiota solut trypsinoidaan, lasketaan ja suspendoidaan uudelleen PBS:solubilisoitu perusmembrani valmisteeseen (Matrigel^R) (1:2) konsentraationa 5 x 10⁵ tai 1,5 x 10⁶ soluja/ml. Naaraspuolisissa, kateenkorvattomia, karvattomia hiiriä, 4 - 5 viikon ikäisiä (Harlan Sprague Dawley) saavat 200 R/hiiri säteilyä päivää ennen koetta, ja niille annetaan 0,2 ml SCLC/hiiri ihonalaisena injektiona kylkeen (konsentraatiot 1 x 10⁵ tai 3 x 10⁵ SCLC -soluja/hiiri. Ryhmät, joissa on 30 hiirtä, hoidetaan vatsaontelonsisäisesti kerran päivässä tutkittavalla

yhdisteellä konsentraationa 10 mg/kg (solubilisoituneena DMSO:iin ja laimennettuna lopulliseen liuotinkonsentraatioon 20 % DMSO:a PBS:ssä). Hoito aloitetaan kaksi tuntia kokeen alkamisen jälkeen ja jatkuu 45 päivää. Liuottimella hoidettuja ja hoitamattomia hiiriä käytetään kontrollina.

5 Statistinen analyysi: Fisherin tarkkaa testiä [Kendall M., Stuart A., The Advanced Theory of Statistics, Vol. 2 (MacMillan Pub. Co. N. Y., 1979)] käytetään vertaillessa tuumorien esiintymissuhteita ryhmien välillä.
10 Mann Whitney U -testiä [Hollander N., Wolfe D. A., Non-parametric Statistical Methods (John Wiley and Sons, Inc., N. Y., 1973)] käytetään vertaillessa elinajamisaikoja ja logaritmita sija -testiä [Kalbfleisch J. D., Prentice R. L., The Statistical Analysis of Failure Time Data (John
15 Wiley and Sons, Inc., N. Y., 1980)] käytetään vertaillessa missä ajassa kukin tuumori saavuttaa 2000 mm³:n tilavuuden.

Keksinnön mukainen yhdiste inhiboi tuumorin kasvua testattaessa tällä menetelmällä.

20 **Koe-esimerkki 3**

Aktiivisuuden *in vivo* -määrittäminen käyttäen paksusuolisyövän ksenograftikoetta.

Seuraamalla koe-esimerkin 2 mukaista menetelmää ja korvaamalla H82 pienisoluisen keuhkosyövän solut HT-29
25 paksusuolisyöpäsoluilla, kasvatettuina konsentraatioon 5 x 10⁶ soluja/ml ja annettuna konsentraationa 1 x 10⁶ soluja/hiiri määritetään aktiivisuus paksusuolisyöpää vastaan.

Keksinnön mukainen yhdiste inhiboi tuumorin kasvua
30 testattaessa tällä menetelmällä.

Kaavan I mukainen yhdiste annetaan terapeuttisesti tehokkaalla annostuksella, esim. annoksena, joka on riittävä hoitamaan edellä kuvattuja sairaustiloja. Keksinnön mukainen yhdiste ja sen farmaseuttisesti hyväksyttävät
35 suolat voidaan antaa millä tahansa menetelmällä, joka on

hyväksytyt aineille, jotka palvelevat samoja hyötynäkökohtia.

Vaikka keksinnön mukaisen yhdisteen ihmisille annettavat annokset on vielä optimoitava, päivittäinen annos on yleensä noin 0,1 - 20,0 mg/kg ruumiinpainoa edullisesti noin 0,5 - 10,0 mg/kg ruumiinpainoa, ja edullisimmin noin 1,0 - 5,0 mg/kg ruumiinpainoa. Siten annettaessa 70 kg painavalle henkilölle, annostusväli olisi noin 7,0 - 1400 mg vuorokautta kohti, edullisesti noin 35,0 - 700 mg vuorokautta kohti, ja edullisimmin noin 70 - 350 mg vuorokautta kohti. Annettavan aktiivisen yhdisteen määrä riippuu tietysti kohteesta ja hoidettavasta sairaudesta, taudin vakavuudesta, antotavasta ja -ohjelmasta ja määräävän lääkärin harkinnasta.

Käytettäessä keksinnön mukaista yhdistettä hoidettaessa edellä mainittuja tiloja voidaan käyttää mitä tahansa farmaseuttisesti hyväksyttävää antotapaa. Kaavan I mukainen yhdiste voidaan antaa joko sellaisinaan tai yhdessä farmaseuttisesti hyväksyttävien täyteaineiden kanssa, käsittäen kiinteät, puolikiinteät, nestemäiset tai aerosoliantomuodot, kuten tabletit, kapselit, jauheet, nesteet, suspensiot, peräpuikot, aerosolit tai vastaavat. Kaavan I mukainen yhdiste voidaan myös antaa viivästetyllä tai kontrolloidulla vapautuksella varustettujen koostumusten muodossa, käsittäen depootti-injektiot, osmoottiset pumput, pillerit, transdermaaliset (mukaan lukien elektronisiirto-) laastarit ja vastaavat, yhdisteen pidennettyä antoa varten etukäteen määrätyllä tavalla, edullisesti yksikköannoksina, jotka ovat sopivat tarkkojen annosten yksittäistä antoa varten. Koostumukset käsittävät tyypillisesti tavanomaisen farmaseuttisen kantajan tai täyteaineen ja kaavan I mukaisen yhdisteen tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan. Lisäksi nämä koostumukset voivat käsittää muita lääkinnällisiä aineita, farmaseuttisia aineita, kantajia, apuaineita jne., kuten moni-

lääkeaineen resistanssia vastustavia aineita.

Yleensä, riippuen suunnitellusta antotavasta, farmaseuttisesti hyväksyttävät koostumukset sisältävät noin 0,1 - 90 paino-%, edullisesti noin 0,5 - 50 paino-% kaavan I mukaista yhdistettä tai sen suolaa, jolloin loppuosa koostuu sopivista farmaseuttisista täyteaineista, kantajista jne.

Edullinen antotapa edellä kuvattuja olosuhteita varten on suun kautta, käyttäen tavanomaista päivittäistä annosta, jota voidaan säätää riippuen sairausasteesta. Tällaista suun kautta tapahtuvaa antoa varten muodostetaan farmaseuttisesti hyväksyttävä, myrkytön koostumus sisällyttämällä mitä tahansa tavanomaisesti käytettävää täyteainetta, kuten mannitolia, laktoosia, tärkkelystä, magnesiumstearaattia, natriumsakkarinaattia, talkkia, selluloosaa, natriumkroskaramelloosia, glukoosia, gelatiinia, sakkaroosia, magnesiumkarbonaattia ja vastaavia. Tällaiset koostumukset voivat olla liuosten, suspensioiden, tablettien, dispergoivien tablettien, pillereiden, kapselien, jauheiden, viivästetyllä vapautuksella varustettujen koostumusten ja vastaavien muodossa.

Koostumukset ovat edullisesti pillerin tai tabletin muodossa ja koostumus sisältää siten yhdessä aktiivisen aineosan kanssa laimentimen, kuten laktoosi, sakkaroosi, dikalsiumfosfaatti ja vastaavat; voiteluaineen, kuten magnesiumstearaatti tai vastaava; ja sideaineen, kuten tärkkelys, akasiakumi, polyvinyylipyrrolidoni, gelatiini, selluloosa ja niiden johdannaiset ja vastaavat.

Nestemäiset farmaseuttisesti annettavat koostumukset voidaan esimerkiksi valmistaa liuottamalla, dispergoimalla jne. edellä määritelty aktiivinen yhdiste ja mahdolliset farmaseuttiset apuaineet kantajaan, kuten esimerkiksi veteen, suolaliuokseen, dekstroosin vesiliuokseen, glyseroliin, etanoliin ja vastaaviin, jolloin muodostuu liuos tai suspensio. Haluttaessa voi annettava farmaseuttinen

koostumus myös sisältää pieniä määriä myrkyttömiä apuaineita, kuten kostutusaineita, emulgointiaineita tai liukoisuutta parantavia aineita, pH-puskuriaineita ja vastaavia, esimerkiksi natriumasettaattia, natriumsitraattia, 5 syklodekstriinijohdannaisia, sorbitaanimonolauraattia, trietanoliamiiniasettaattia, trietanoliamiinioleaattia jne. Varsinaiset menetelmät tällaisten antomuotojen valmistamiseksi ovat tunnettuja tai ilmeisiä alan ammattimiehille; esimerkiksi katso Remington's Pharmaceutical Sciences, 10 Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 15th Edition, 1975. Anettava koostumus tai formulaatio sisältää joka tapauksessa tietyn määrän vaikuttavaa yhdistettä määränä, joka lievittää hoidettavan sairauden oireita.

Voidaan valmistaa antomuuotoja, jotka sisältävät 15 0,005 - 95 % vaikuttavaa yhdistettä, loppuosan koostuessa myrkyttömästä kantajasta.

Suun kautta tapahtuvaa antoa varten muodostetaan farmaseuttisesti hyväksyttävä, myrkytön koostumus sisällyttämällä mitä tahansa tavanomaisesti käytettävää 20 täyteainetta, kuten esimerkiksi farmaseuttista laatua olevaa mannitolia, laktoosia, tärkkelystä, talkkia, selluloosajohdannaisia, natriumkroskaramelloosia, glukosia, sakkaroosia, magnesiumkarbonaattia, natriumsakkariinaattia, talkkia ja vastaavia. Tällaiset koostumukset voivat olla liuosten, suspensioiden, tablettien, kapseleiden, 25 jauheiden, viivästetyllä vapautuksella varustettujen koostumusten ja vastaavien muodossa. Tällaiset koostumukset voivat sisältää 0,01 - 95 % vaikuttavaa yhdistettä, edullisesti 0,1 - 50 %.

Kiinteätä antomuotoa varten liuokset tai 30 suspensiot esimerkiksi propyleenikarbonaatissa, kasvisöljyssä tai triglyserideissä, kapseloidaan edullisesti gelaatiinikapseleihin. Tällaiset diesteriliuokset ja niiden valmistamista ja kapseloimista kuvataan US-patenteissa 35 4 328 245; 4 409 239 ja 4 410 545. Nestemäistä antomuotoa

varten liuos esimerkiksi polyetyleeniglykolissa voidaan laimentaa tarpeellisella määrällä farmaseuttisesti hyväksyttävällä nestemäisellä kantajalla esim. vedellä, jotta se olisi helposti mitattavissa antoa varten.

5 Vaihtoehtoisesti, nestemäiset tai puolikiinteät antomuodot voidaan valmistaa liuottamalla tai dispergoimalla vaikuttava yhdiste tai suola kasvisöljyihin, glykoleihin, triglyserideihin, propyleeniglykoliestereihin (esim. propyleenikarbonaattiin) ja vastaaviin ja kapseloi-
10 malla nämä liuokset tai suspensiot koviin tai pehmeisiin gelatiinikapselikuoriin.

Muita käyttökelpoisia koostumuksia ovat ne, jotka on kuvattu US-patenteissa Re. 28 819 ja 4 358 603.

Ruansulatuskanavan ulkopuolella tapahtuvalle an-
15 nolle on yleensä tunnusomaista injektio, joko ihonalainen, lihaksensisäinen tai suonensisäinen. Injektiot voidaan valmistaa tavanomaiseen tapaan, joko nestemäisinä liuok-
sina tai suspensioina, kiinteinä muotoina, jotka sopivat liuotettavaksi tai suspendoitavaksi nesteeseen ennen in-
20 jektiota, tai emulsioina. Sopivia täyteaineita ovat esimerkiksi vesi, suolaliuos, dekstroosi, glyseroli, etanoli tai vastaavat. Lisäksi voi annettava farmaseuttinen koos-
tumus, niin haluttaessa, myös sisältää pieniä määriä myr-
kyttömiä apuaineita, kuten kostutus- tai emulgointiainei-
25 ta, pH-puskuriaineita, liukoisuutta parantavia aineita ja vastaavia, kuten esimerkiksi natriumasetaattia, sorbitaanimonolauraattia, trietanoliamiiniioleaattia syklodekstrii-
nejä jne. Hiljattain kuvattu menetelmä ruansulatuskanavan ulkopuolella tapahtuvalle annolle käyttää hyväksi hidaste-
30 tulla tai viivästetyllä vapautuksella varustettua implantaatiota siten, että ylläpidetään vakioannostus. Ks. esim. US-patentti 3 710 795.

Tällaisissa ruansulatuskanavan ulkopuolella annettavissa kostumuksissa olevan vaikuttavan yhdisteen
35 prosenttimäärä riippuu hyvin paljon sen suhteellisesta

luonteesta, sekä yhdisteen aktiivisuudesta ja kohteen tarpeista. Kuitenkin, aktiivisen aineosan prosenttimääriä välillä 0,01 - 10 % liuoksessa ovat käyttökelpoisia, ja ne ovat korkeampia jos koostumus on kiinteä, joka sitten
5 laimennetaan edellä mainituiksi prosenttimääriksi. Edullisesti koostumus sisältää 0,2 - 2 % aktiivista ainetta liuoksessa.

Nenäliuoksia, joissa on vaikuttavaa yhdistettä yksin tai yhdessä muiden farmaseuttisesti hyväksyttävien
10 täyteaineiden kanssa, voidaan myös antaa.

Koostumuksia, joissa on vaikuttavaa yhdistettä tai suolaa, voidaan myös antaa hengitystiehyeihin aerosolina tai liuoksena nebulisaattoria varten, tai mikrohienona jauheena insufflaatiota varten, yksin tai yhdessä inertin
15 kantajan, kuten laktoosin kanssa. Tällaisessa tapauksessa koostumuksen hiukkasilla on läpimitta, joka on pienempi kuin 50 μm , edullisesti pienempi kuin 10 μm mikronia.

Seuraavat valmistukset ja esimerkit annetaan, jotta alan ammattimiehet selvemmin ymmärtäisivät ja sovellettaisivat esillä olevaa keksintöä. Niitä ei pitäisi
20 tulkita keksinnön piiriä rajoittavaksi, vaan lähinnä sitä kuvaaviksi ja edustaviksi.

Esimerkki 1

Kaavan 2 mukaisen yhdisteen valmistus,
25 jossa R^1 on vety

Liuos, jossa oli 2-N,N-dimetyyliaminometyyli-indolia (5,4 g) (Acta. Chim. Acad. Sci. Hung., Vol 34, s. 439 (1962) 40 ml:ssa metanolia, sekoitettiin metyylijodidin (15 ml) kanssa ja jätettiin kolmeksi tunniksi. Haihduttamalla liuotin saatiin lasi, johon lisättiin trifenyylifosfiinia (11,6 g) ja dimetyyliformamidia (DMF) (100 ml).
30 Seosta refluksoitiin yön yli, suurin osa DMF:sta tislattiin pois alennetussa paineessa ja jäännös trituroitiin benseenin (75 ml) kanssa. Muodostuneet kiteet suodatettiin
35 pois, pestiin pienellä benseenimäärällä ja kuivattiin va-

kuumissa, jolloin saatiin indoli-2-metyylitrifenyylifosfoniumjodidia (10,4 g).

Esimerkki 2

Kaavan 3 mukaisen yhdisteen valmistus,
5 jossa R¹ on vety ja R² on 3-tienyyli
Liuokseen, jossa oli 1,04 g indoli-2-metyylitrifenyylifosfoniumjodidia 60 ml:ssa dimetyylisulfoksidia, lisättiin 175 µl tiofeeni-3-karboksialdehydiä sekä 250 µl 1,8-diatsabisyklo[5.4.0]undek-7-eeniä. Seosota sekoitettiin 10 tiin typen alla 40 °C:ssa tunnin ajan, sitten 80 °C:ssa kaksi tuntia ja lopuksi sitä sekoitettiin yön yli 20 °C:ssa. Seos kaadettiin veteen ja uutettiin dietyylieetterillä. Orgaaninen kerros kuivattiin, liuotin poistettiin alennetussa paineessa ja jäännös puhdistettiin 15 teyttämällä metanolista. 2-[2-(3-tienyyli)vinyyli]indolin saanto oli 200 mg (44 %).

Esimerkki 3

Kaavan 4 mukaisen yhdisteen valmistus,
jossa R¹ on vety ja R² on 3-tienyyli
20 Liuos, jossa oli 2-[2-(3-tienyyli)vinyyli]indolia (200 mg), liuotettiin 3 ml:aan dimetyyliformamidia ja käsiteltiin 40 mg:lla kaliumhydridiä 25 °C:ssa 15 minuuttia. 1-jodi-3-(t-butyylidifenyylisilyylioksi)propaania (500 mg) lisättiin ja reaktioseosta sekoitettiin 25 yli 25 °C:ssa. Kun seos oli jaettu dietylieetterin ja 25 veden välillä, orgaaninen kerros kuivattiin, ja liuotin poistettiin alennetussa paineessa. Jäännös puhdistettiin preparatiivisella TLC:llä silikageelillä (eluoimalla 5:1 heksaani/EtOAc-seoksella). 1-[3-(t-butyylidifenyylisilyylioksi)propyyli]-2-[2-(3-tienyyli)vinyyli]indolin 30 saanto oli 330 mg (71 %).

Materiaali liuotettiin 2 ml:aan tetrahydrofuraania ja sitä käsiteltiin 2 ml:lla 1 M tetrabutyyliammoniumfluoridiliuosta 25 °C:ssa kaksi tuntia. Kun seos oli jaettu 35 dietylieetterin ja veden välillä, orgaaninen kerros kui-

vattiin ja liuotin poistettiin alennetussa paineessa. Jäännös puhdistettiin preparatiivisella TLC:llä silikageelillä (eluoimalla 2:1 heksaani/EtOAc-seoksella), jolloin saatiin 121 mg 1-(3-hydroksipropyli)-2-[2-(3-tienyyli)vinyyli]indolia (68 %).

Esimerkki 4

Kaavan 5 mukaisen yhdisteen valmistus,
jossa R¹ on vety, R² on 3-tienyyli, R³ on vety ja R⁴ on metyyli

10 Liuos, jossa oli 1-(3-hydroksipropyli)-2-[2-(3-tienyyli)vinyyli]indolia (121 mg) 3 ml:ssa metyleenikloridia, käsiteltiin 120 µl:lla 2,6-lutidiinia ja jäädytettiin 0 °C:seen. Trifluorimetaanisulfonihappoanhydridiä (100 µl) lisättiin ja kun seosta oli sekoitettu 30
15 minuuttia lisättiin 5 ml 40-%:ista metyyliamiinin vesiliuosta ja reaktioseosta sekoitettiin kolme tuntia 25 °C:ssa. Kun seosta oli sekoitettu vielä 12 tuntia 0 °C:ssa, reaktioseos jaettiin metyleenikloridin ja veden välillä, orgaaninen kerros kuivattiin, ja liuotin poistettiin alennetussa paineessa. Preparatiivisella TLC:llä
20 silikageelillä (eluoimalla 10-%:isella metanoli/metyleenikloridi-seoksella) saatiin 83 mg 1-[3-(metyyliamino)propyyli)-2-[2-(3-tienyyli)vinyyli]indolia (67 %). Tämä tuote liuotettiin 3 ml:aan metyleenikloridia, jossa oli
25 150 µl pyridiiniä, ja trifluorietikkahappoanhydridiä (40 µl) lisättiin. 30 minuutin kuluttua seos jaettiin dietyylieetterin ja natriumvetykarbonaatin vesiliuoksen välillä, orgaaninen kerros kuivattiin, ja liuotin poistettiin alennetussa paineessa. Preparatiivisella TLC:llä
30 silikageelillä (eluoimalla 3:1 heksaani/EtOAc-seoksella) saatiin 80 mg 1-[3-(N-metyylitri-fluorimetyyliasetamido)-propyyli)-2-[2-(3-tienyyli)vinyyli]indolia (73 %).

Esimerkki 5

Kaavan I mukaisen yhdisteen valmistus,
jossa R¹ on vety, R² on 3-tienyyli, R³ on vety ja R⁴
on metyyli

5 Liuos, jossa oli 1-[3-(N-metyylitrifluorimetyyli-
asetamido]propyyli)-2-[2-(3-tienyyli)vinyyli]indolia (80
mg) 2 ml:ssa tolueenia, käsiteltiin 40 mg:lla maleiini-
imidia. Kun seosta oli refluksoitu yön yli, liuotin pois-
tettiin alennetussa paineessa ja jäännös puhdistettiin
10 preparatiivisella TLC:llä silikageelillä, jolloin saatiin
20 mg Diels-Alder -adduktia (20 %).

¹H NMR (CDCl₃): 7,96 (m, 1H), 7,35 - 7,15 (m, 4H),
7,13 (m, 1H), 7,02 (m, 1H), 4,40 (d, 1H), 4,13 (t, 2H),
3,73 (m, 2H), 3,45 (t, 2H), 3,12 (m, 2H), 3,06 (s, 3H),
15 2,02 (t, 2 H).

Tämä materiaali liuotettiin 3 ml:aan bentseeniä ja
käsiteltiin 20 mg:lla diklooridisyaanibentsokinonia (DDQ).
20 minuutin kuluttua lisättiin vielä 10 mg DDQ:ta. 10 mi-
nuutin kuluttua reaktioseos laitettiin preparatiiviselle
20 TLC-levylle ja eluointiin 2:1 heksaani/EtOAc-seoksella.
Tällä tavalla saatiin 18 mg 1,3-diokso-6-(N-metyylitri-
fluorimetyyliasetamido)-1,2,3,6-tetrahydro-4-(3-tienyyli)-
pyrrolo[3,4-c]karbatsolia keltaisena vaahtona.

Tämä tuote liuotettiin 4 ml:aan 1:1 MeOH/THF-
25 seosta ja 1 ml 1 M natriumhydroksidiliuosta lisättiin. Kun
seosta oli sekoitettu 15 minuuttia, se jaettiin
metyleenikloridin ja veden välillä. Orgaaninen kerros
erotettiin ja liuotin poistettiin alennetussa paineessa.
Jäännöksen preparatiivisella TLC:llä (eluoimalla 10-
30 %:isella metanoli/metyleenikloridi-seoksella) saatiin 15
mg 1,3-diokso-6-(3-metyyliaminopropyyli)-1,2,3,6-tetrahyd-
ro-4-(3-tienyyli)pyrrolo[3,4-c]karbatsolia.

¹H NMR (d₆-DMSO): 8,96 (d, 1H), 8,00 (s, 1H), 7,95
(m, 1H), 7,74 (d, 1H) 7,62 (m, 3H), 7,35 (t, 1H), 4,59 (t,

2H), 2,55 (t, 2H), 2,29 (s, 3H), 1,97 (t, 2 H). HRMS laskettu $C_{22}H_{19}N_3O_2S$:lle 389,1197; saatu 389,1198.

Esimerkki 6

Tämä esimerkki kuvaa edustavan, suun kautta annettavan farmaseuttisen koostumuksen valmistamista, joka sisältää kaavan I mukaista vaikuttavaa yhdistettä, 1,3-diokso-6-(3-metyyliaminopropyyli)-1,2,3,6-tetrahydro-4-(3-tienyyli)pyrrolo[3,4-c]karbatsolia.

	<u>Aineosat</u>	<u>määrä/tabletti, mg</u>
10	Vaikuttava yhdiste	200
	Laktoosi, spraykuivattu	148
	Magnesiumstearaatti	2

Edellä mainitut aineosat sekoitetaan ja laitetaan kovakuorisiin gelatiinikapseleihin.

15 **Esimerkki 7**

Tämä esimerkki kuvaa toisen edustavan, suun kautta annettavan farmaseuttisen koostumuksen valmistamista, joka sisältää kaavan I mukaista vaikuttavaa yhdistettä, 1,3-diokso-6-(3-metyyliaminopropyyli)-1,2,3,6-tetrahydro-4-(3-tienyyli)pyrrolo[3,4-c]karbatsolia.

	<u>Aineosat</u>	<u>määrä/tabletti, mg</u>
	Vaikuttava yhdiste	400
	Maissitärkkelys	50
	Laktoosi	145
25	Magnesiumstearaatti	5

Edellä mainitut aineosat sekoitetaan huolellisesti ja puristetaan yksittäisuratableteiksi.

Esimerkki 8

Tämä esimerkki kuvaa edustavan, suun kautta annettavan farmaseuttisen koostumuksen valmistamista, joka sisältää kaavan I mukaista vaikuttavaa yhdistettä, 1,3-diokso-6-(3-metyyliaminopropyyli)-1,2,3,6-tetrahydro-4-(3-tienyyli)pyrrolo[3,4-c]karbatsolia.

Valmistetaan suun kautta annettava suspensio, jolla on seuraava koostumus:

	<u>Aineosat</u>	<u>määrä</u>
	Vaikuttava yhdiste	1,0 g
	Fumaarihappo	0,5 g
	Natriumkloridi	2,0 g
5	Metyyliparabeeni	0,1 g
	Granuloitu sokeri	25,5 g
	Sorbitoli (70-%:inen liuos)	12,85 g
	Veegum K (Vanderbilt Co.)	1,0 g
	Makuaine	0,035 ml
10	Väriaine	0,5 mg
	Tislattu vesi	q.s. 100 ml

Esimerkki 9

Tämä esimerkki kuvaa edustavan, suun kautta annettavan farmaseuttisen koostumuksen valmistamista, joka sisältää kaavan I mukaista vaikuttavaa yhdistettä, 1,3-diokso-6-(3-metyyliaminopropyyli)-1,2,3,6-tetrahydro-4-(3-tienyyli)pyrrolo[3,4-c]karbatsolia.

Valmistetaan injektoitava valmiste, joka on puskuroidu pH-arvoon 7,4 ja jolla on seuraava koostumus:

	<u>Aineosat</u>	<u>määrä</u>
	Vaikuttava yhdiste	0,2 g
	Natriumasetaatipuskuriliuos (0,4 M)	2,0 ml
	HCl (1 N)	q.s. pH 7,4
	Vesi (tislattu, steriili)	q.s. 20 ml

Esimerkki 10

Tämä esimerkki kuvaa edustavan, suun kautta annettavan farmaseuttisen koostumuksen valmistamista, joka sisältää kaavan I mukaista vaikuttavaa yhdistettä, 1,3-diokso-6-(3-metyyliaminopropyyli)-1,2,3,6-tetrahydro-4-(3-tienyyli)pyrrolo[3,4-c]karbatsolia.

Valmistetaan peräpuikko, joka painaa yhteensä 2,5 g ja jolla on seuraava koostumus:

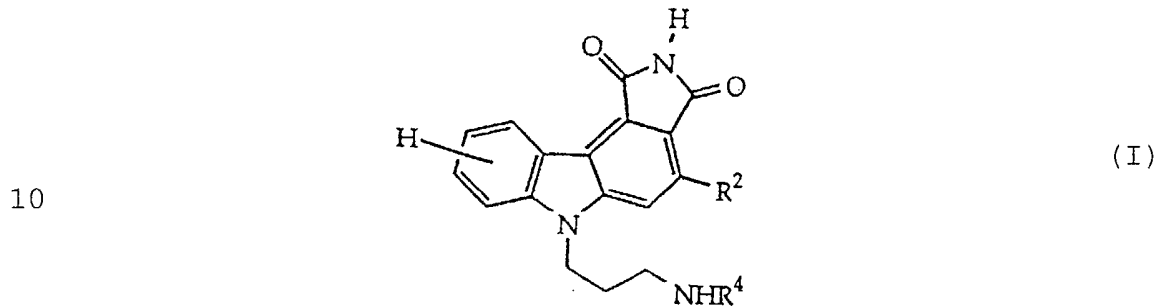
Vaikuttava yhdiste 500 mg
Witepsol H-15* loppuosa

(* tyydytetyn kasvirasvahapon triglyseridejä; tuotetta valmistaa Riches-Nelson, Inc., New York, N. Y.).

5 Vaikkakin esillä oleva keksintö on kuvattu viitaen sen tiettyihin suoritusmuotoihin, alan ammattimiehet ymmärtävät että siihen voidaan tehdä erilaisia muunnelmia ja ekvivalentteja voidaan korvata poikkeamatta keksinnön todellisesta hengestä ja piiristä. Lisäksi voidaan suorittaa
10 useita muunnelmia tietyn tilanteen, materiaalin, ainekoostumuksen, menetelmän, menetelmävaiheen tai menetelmävaiheiden soveltamiseksi esillä olevan keksinnön päämäärään, henkeen ja piiriin. Kaikki tällaiset muunnelmat tarkoitetaan sisällytettäväksi tähän liitettyjen patenttivaatusten
15 piiriin.

Patenttivaatimukset

1. Yhdiste, joka on 1,3-diokso-6-(3-metyyliamino-
 propyyli)-1,2,3,6-tetrahydro-4-(3-tienyyli)pyrrolo[3,4-
 5 c]karbatsoli ja jolla on kaava I



jossa R² on 3-tienyyli ja R⁴ on metyyli,
 ja sen farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat.

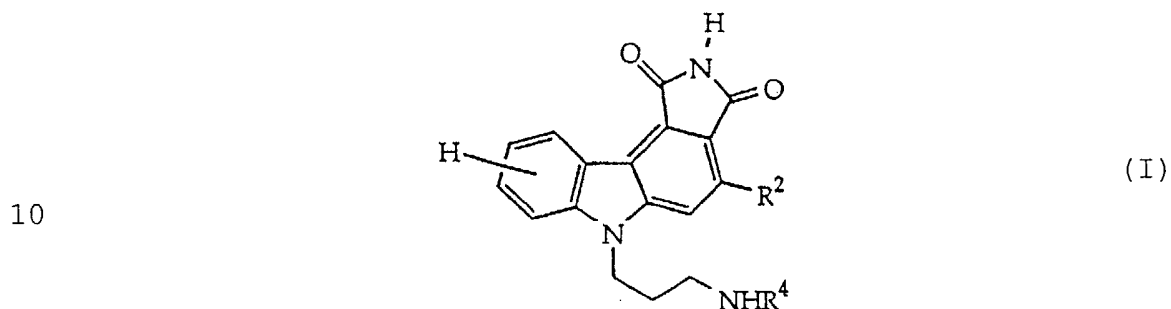
15 2. Farmaseuttinen koostumus, joka on tarkoitettu
 pahanlaatuisten sairauksien hoitamiseen, t u n n e t t u
 siitä, että se käsittää patenttivaatimuksen 1 mukaisen
 yhdisteen tai suolan ja farmaseuttisesti hyväksyttävän
 täyteaineen.

20 3. Patenttivaatimuksen 1 mukaisen yhdisteen tai
 suolan käyttö farmaseuttisten koostumusten valmistuksessa.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukaisen yhdisteen tai
 suolan käyttö pahanlaatuisten sairauksien, erityisesti
 pienisoluisen keuhkosyövän, paksusuolisyövän ja munuais- ja
 25 eturauhastuumorien hoitamisessa.

Patentkrav

1. Förening som är 1,3-dioxo-6-(3-metylamino-
propyl)-1,2,3,6-tetrahydro-4-(3-tienyl)pyrrolo[3,4-c]kar-
5 bazol och har formeln I



vari R^2 är 3-tienyl och R^4 är metyl,
samt farmaceutiskt godtagbara salter därav.

15 2. Farmaceutisk komposition som är avsedd för skö-
tande av maligna sjukdomar, k ä n n e t e c k n a d d ä-
rav, att den omfattar föreningen eller ett salt enligt pa-
tentkrav 1 och ett farmaceutiskt godtagbart fyllmedel.

20 3. Användning av föreningen eller ett salt enligt
patentkrav 1 vid framställning av en farmaceutisk komposi-
tion.

25 4. Användning av föreningen eller ett salt enligt
patentkrav 1 vid skötande av maligna sjukdomar, skärskilt
småcellig lungkancer, tjocktarmkancer och njur- och
prostatatumörer.