



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 75625

(13) C2

(51) МПК (2006)

C07D 487/14 (2006.01)

A61K 31/505

A61P 9/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД(54) КОНДЕНСОВАНІ ПОХІДНІ ПУРИНУ ЯК АНТАГОНІСТИ РЕЦЕПТОРІВ АДЕНОЗИНУ A₁

1

2

(21) 2003066041

(22) 30.11.2001

(24) 15.05.2006

(86) PCT/US01/44991, 30.11.2001

(31) 60/250,658

(32) 01.12.2000

(33) US

(46) 15.05.2006, Бюл. № 5, 2006 р.

(72) Лін Ко-Чунг, US, Бу Чі, US

(73) БАЙОДЖЕН АЙДЕК МА ІНК., US

(56) EP 0 423 805 A 24.04.1991

WO 98 57651 A 23.12.1998

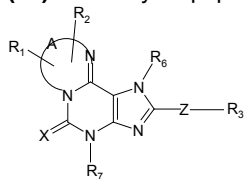
WO 00 01388 A 13.01.2000

M.J.DOOLEY ET AL.: "Theoretical structure-activity studies of adenosine A₁ ligands: requirements for receptor affinity" BIOORG. MED. CHEM., vol. 4, no. 6, 1996

EP 0 415 456 A 06.03.1991

EP 0 884 318 A 16.12.1998

(57) 1. Сполука формули I:



Формула I

де R₁ і R₂ незалежно вибирають з групи, що складається з:

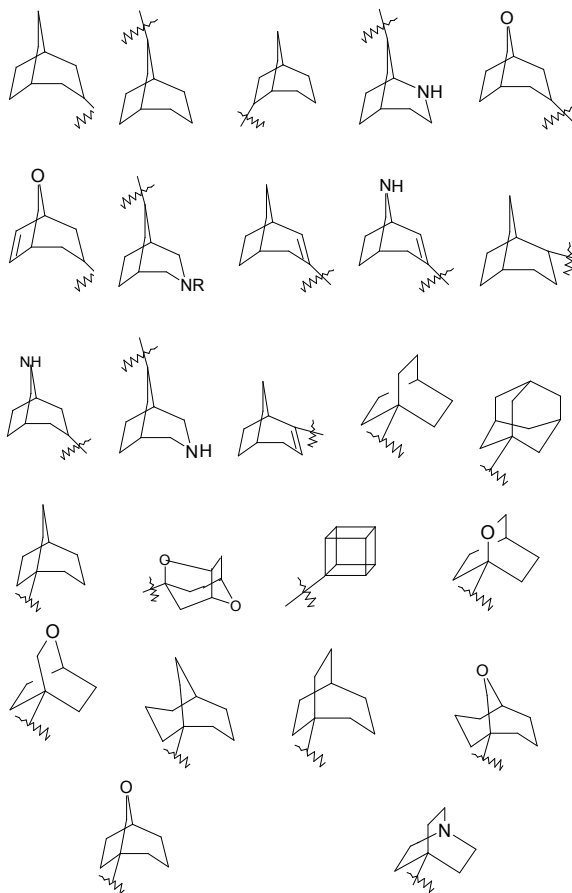
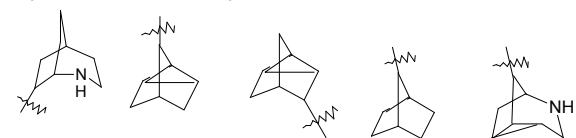
а) водню;

б) алкілу, алкенілу або алкінілу, де вказаний алкіл, алкеніл або алкініл є або незаміщеним, або функціоналізованим одним або більше із замісників, вибраних з групи, що складається з гідрокси, алкокси, аміно, алкіламіно, діалкіламіно, гетероциклілу, ациламіно, алкілсульфоніламіно і гетероциклілкарбоніламіно; і

с) арилу або заміщеного арилу;

R₃ вибирають з групи, що складається з:

(а) біциклічної, трициклічної або пентациклічної групи, вибраної з групи, що складається з:



де біциклічна, трициклічна або пентациклічна група є або незаміщеною, або функціоналізованою одним або більше із замісників, вибраних з групи, що складається з:

(і) алкілу, алкенілу і алкінілу; де кожна алкільна, алкенільна або алкінільна група є або незаміщеною, або функціоналізованою одним або більше із замісників, вибраних з групи, що складається з (алкоксикарбоніл)аралкілкарбамоїлу, (аміно) (R₅)ацилгідрозинілкарбонілу, (аміно) (R₅)ацилоксикарбокси, (гідрокси)(карбоалкокси)алкілкарбамоїлу,

(13) C2

(11) 75625

(19) UA

ціоналізованим одним або більше із замісників, вибраних з групи, що складається з гідрокси, алкокси, аміно, алкіламіно, діалкіламіно, гетероциклілу, ациламіно, алкілсульфоніламіно і гетероциклілкарбоніламіно; і

b) арилу або заміщеного арилу.

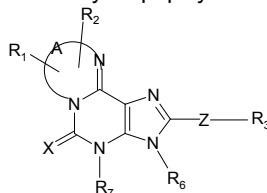
4. Сполука за п. 3, де, щонайменше, один з R_1 і R_2 являє собою алкіл.

5. Сполука за п. 1, де А являє собою $-(CH)_m-(CH)_m-$.

6. Сполука за п. 1, де R_7 являє собою алкіл.

7. Сполука за п. 1, де Z являє собою простий зв'язок.

8. Сполука формули II:



Формула II

де R_1 і R_2 незалежно вибирають з групи, що складається з:

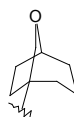
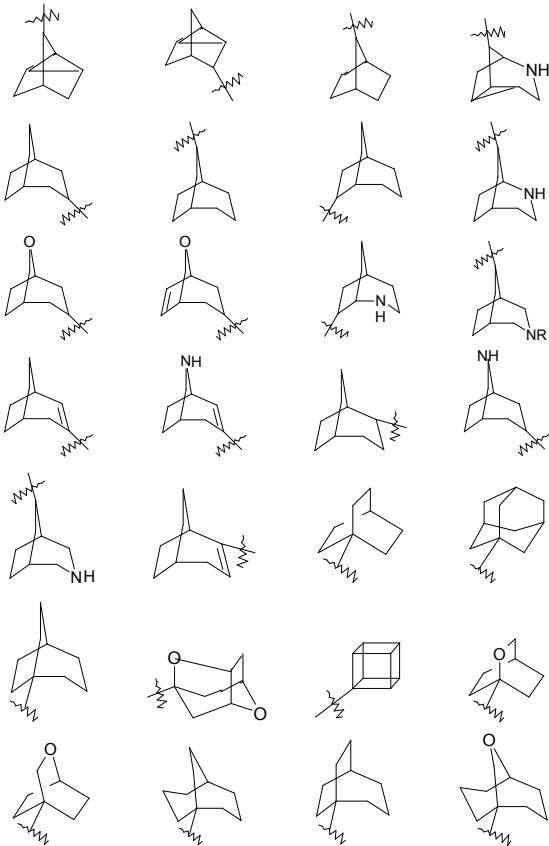
a) водню;

b) алкілу, алкенілу або алкінілу, де вказаний алкіл, алкеніл або алкініл є або незаміщеним, або функціоналізованим одним або більше із замісників, вибраних з групи, що складається з гідрокси, алкокси, аміно, алкіламіно, діалкіламіно, гетероциклілу, ациламіно, алкілсульфоніламіно і гетероциклілкарбоніламіно; і

c) арилу або заміщеного арилу;

R_3 вибирають з групи, що складається з:

(a) біциклічної, трициклічної або пентациклічної групи, вибраної з групи, що складається з:



де біциклічна, трициклічна або пентациклічна група є або незаміщеною, або функціоналізованою одним або більше із замісників, вибраних з групи, що складається з:

(i) алкілу, алкенілу і алкінілу; де кожна алкільна, алкенільна або алкінільна група є або незаміщеною, або функціоналізованою одним або більше із замісників, вибраних з групи, що складається з

(алкоксикарбоніл)аралкілкарбамоїлу,

(аміно) (R_5)ацилгідразинілкарбонілу,

(аміно) (R_5)ацилоксикарбокси,

(гідрокси)(карбоалкокси)алкілкарбамоїлу, ациламіноалкіламіно, ацилокси, альдегідо, алкенокси, алкениламіно, алкенілсульфоніламіно, алкокси, алкоксикарбоніламіно, алкоксикарбоніламіноацилокси, алкоксикарбоніламіноалкіламіно, алкіламіно, алкіламіноалкіламіно, алкілкарбамоїлу, алкілфосфоно,

алкілсульфоніламіно, алкілсульфонілокси, аміно, аміноалкіларалкілкарбамоїлу, аміноацилокси, аміноалкілкарбамоїлу, аміноалкілгетероциклілакілкарбамоїлу, аміноциклоалкілалкілциклоалкілкарбамоїлу, аміноциклоалкілкарбамоїлу, аралкоксикарбонілу, аралкоксикарбоніламіно, арилгетероциклілу, арилокси, арилсульфоніламіно, арилсульфонілокси, карбамоїлу, карбонілу, ціано, ціаноалкілкарбамоїлу, циклоалкіламіно, діалкіламіно, діалкіламіноалкіламіно, діалкіламіноалкілкарбамоїлу, діалкілфосфоно, галоалкілсульфоніламіно, галогену, гетероциклілу, гетероциклілакіламіно, гетероциклілкарбамоїлу, гідрокси, гідроксипалкілсульфоніламіно, оксіміно, фосфату, фосфоно, $-R_5$, R_5 -алкокси, R_5 -алкіл(алкіл)аміно, R_5 -алкіларалкілкарбамоїлу, R_5 -алкіламіно, R_5 -алкілкарбамоїлу, R_5 -алкілсульфонілу, R_5 -алкілсульфоніламіно, R_5 -алкілтіо, R_5 -гетероциклілкарбонілу, заміщеного аралкіламіно, заміщеного арилкарбоксиалкоксикарбонілу, заміщеного арилсульфоніламіноалкіламіно, заміщеного гетероарилсульфоніламіно, заміщеного гетероциклілу, заміщеного гетероцикліламіноалкіламіно, заміщеного гетероциклілсульфоніламіно, сульфоксиациламіно, тіокарбамоїлу, трифторметилу;

(ii) (алкоксикарбоніл)аралкілкарбамоїлу,

(аміно) (R_5)ацилгідразинілкарбонілу,

(аміно) (R_5)ацилоксикарбокси,

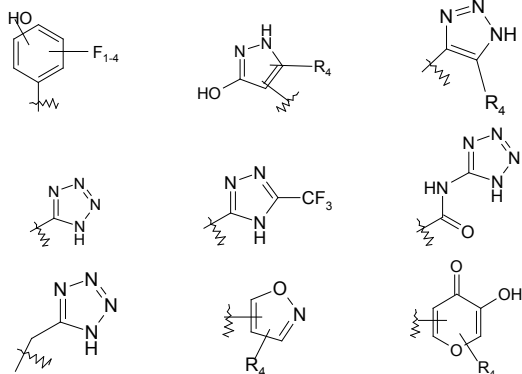
(гідрокси)(карбоалкокси)алкілкарбамоїлу, ациламіноалкіламіно, ацилокси, альдегідо, алкенокси, алкеніламіно, алкенілсульфоніламіно, алкокси, алкоксикарбонілу, алкоксикарбонілакіламіно, алкоксикарбоніламіно, алкоксикарбоніламіноацилокси, алкоксикарбоніламіноалкіламіно, алкіламіно, алкіламіноалкіламіно, алкілкарбамоїлу, алкілфосфоно,

алкілсульфоніламіно, алкілсульфонілокси, аміно, аміноалкіларалкілкарбамоїлу, аміноацилокси, аміноалкілкарбамоїлу, аміноалкілгетероциклілакілкарбамоїлу, аміноциклоалкілалкілциклоалкілкарбамоїлу, аміноциклоалкілкарбамоїлу, аралкоксикарбонілу, аралкоксикарбоніламіно, арилгетероциклілу, ари-

локси, арилсульфоніламіно, арилсульфонілокси, карбамоїлу, карбонілу, ціано, ціаноалкілкарбамоїлу, циклоалкіламіно, діалкіламіно, діалкіламіноалкіламіно, діалкіламіноалкілкарбамоїлу, діалкілфосфоно, галоалкілсульфоніламіно, галогену, гетероциклілу, гетероцикліламіно, гетероциклілкарбамоїлу, гідрокси, гідроксіалкілсульфоніламіно, оксіміно, фосфату, фосфоно, -R₅, R₅-алкокси, R₅-алкіл(алкіл)аміно, R₅-алкілалкілкарбамоїлу, R₅-алкіламіно, R₅-алкілкарбамоїлу, R₅-алкілсульфонілу, R₅-алкілсульфоніламіно, R₅-алкілтіо, R₅-гетероциклілкарбонілу, заміщеного аралкіламіно, заміщеного арилкарбоксіалкоксикарбонілу, заміщеного арилсульфоніламіноалкіламіно, заміщеного гетероарилсульфоніламіно, заміщеного гетероциклілу, заміщеного гетероцикліламіноалкіламіно, заміщеного гетероциклілсульфоніламіно, сульфоксіациламіно, тіокарбамоїлу, трифторметилу;

R₄ вибирають з групи, що складається з водню, C₁₋₄-алкілу, C₁₋₄-алкіл-CO₂H і фенілу, де C₁₋₄-алкільна, C₁₋₄-алкіл-CO₂H і фенільна групи є або незаміщеними, або функціоналізованими одним-трьма замісниками, вибраними з групи, що складається з галогену, -OH, -OMe, -NH₂, NO₂, бензилу і бензилу, функціоналізованого одним-трьма замісниками, вибраними з групи, що складається з галогену, -OH, -OMe, -NH₂, і -NO₂;

R₅ вибирають з групи, що складається з - (CR₁R₂)_nCOOH, -C(CF₃)₂OH, -CONHNH₂SO₂CF₃, -CONHOR₄, -CONHSO₂R₄, -CONHSO₂NHR₄, -C(OH)R₄PO₃H₂, -NHCOCF₃, -NHCONHSO₂R₄, -NHPO₃H₂, -NHSO₂R₄, -NHSO₂NHCOR₄, -OPO₃H₂, -OSO₃H, -PO(OH)R₄, -PO₃H₂, -SO₃H, -SO₃NHR₄, -SO₃NHCOR₄, -SO₃NHCONHCO₂R₄ і наступних груп:



n = 0, 1, 2 або 3;

A вибирають з групи, що складається з -CH=CH-, (CH)_m-(CH)_m, CH=CH-CH₂ і -CH₂-CH=CH-;

m = 1 або 2;

X являє собою O або S;

Z вибирають з групи, що складається з простого зв'язку, -O-, -(CH₂)_n-, -O(CH₂)₁₋₂-, -CH₂OCH₂- і -(CH₂)₁₋₂O-;

R₆ вибирають з групи, що складається з водню, алкілу, ацилу, алкілсульфонілу, аралкілу, заміщеного аралкілу, заміщеного алкілу і гетероциклілу; і

R₇ вибирають з групи, що складається з:

a) водню;

b) алкілу, алкенілу, що містить не менше 3 атомів вуглецю, або алкінілу, що містить не менше 3 атомів вуглецю; де вказаний алкіл, алкеніл або алкініл є або незаміщеним або функціоналізованим одним

або більше із замісників, вибраних з групи, що складається з гідрокси, алкокси, аміно, алкіламіно, діалкіламіно, гетероциклілу, ациламіно, алкілсульфоніламіно і гетероциклілкарбоніламіно; і

c) арилу або заміщеного арилу;

d) алкіларилу або арилу, заміщеного алкілом.

9. Сполука за п. 8, де сполука знаходиться в формі, вибраній з групи, що складається з ахіральної сполуки, рацемату, оптично активної сполуки, чистого діастереоізомеру, суміші діастереоізомерів і фармакологічно прийнятних солей приєднання.

10. Сполука за п. 8, де R₁ і R₂ незалежно вибирають з групи, що складається з

a) алкілу, алкенілу або алкінілу, де вказаний алкіл, алкеніл або алкініл є або незаміщеним, або функціоналізованим одним або більше із замісників, вибраних з групи, що складається з гідрокси, алкокси, аміно, алкіламіно, діалкіламіно, гетероциклілу, ациламіно, алкілсульфоніламіно, і гетероциклілкарбоніламіно; і

b) арилу або заміщеного арилу.

11. Сполука за п. 10, де, щонайменше, один з R₁ і R₂ являє собою алкіл.

12. Сполука за п. 8, де A являє собою - (CH)_m-(CH)_m.

13. Сполука за п. 8, де R₇ являє собою алкіл.

14. Сполука за п. 1, де Z являє собою простий зв'язок.

15. Сполука за п. 1 або 8, де сполуку вибирають з групи, що складається із сполук 1-32 таблиці 1.

16. Сполука за п. 15, де сполуку вибирають з групи, що складається з:

2-(4-гідроксибіцикло[2.2.2]окт-1-ил)-7-ізопропіл-4-пропіл-1,4,6,7-тетрагідро-1,3,4,5а, 8-пентааза-аз-індацен-5-ону (сполука 1);

7-етил-2-(4-гідроксибіцикло[2.2.2]окт-1-ил)-4-пропіл-1,4,6,7-тетрагідро-1,3,4,5а, 8-пентааза-аз-індацен-5-ону (сполука 2);

3-[4-(7-етил-5-оксо-4-пропіл-4,5,6,7-тетрагідро-1Н-1,3,4,5а,8-пентааза-аз-індацен-2-

іл)біцикло[2.2.2]окт-1-ил]пропіонової кислоти (сполука 3);

2-(4-гідроксибіцикло[2.2.2]окт-1-ил)-7-метил-4-пропіл-1,4,6,7-тетрагідро-1,3,4,5а, 8-пентааза-аз-індацен-5-ону (сполука 4); і

3-[4-(7-ізопропіл-5-оксо-4-пропіл-4,5,6,7-тетрагідро-1Н-1,3,4,5а,8-пентааза-аз-індацен-2-іл)біцикло[2.2.2]окт-1-ил]пропіонової кислоти (сполука 5).

17. Фармацевтична композиція, що включає фармацевтично ефективну кількість сполуки за пп. 1 або 8 і фармацевтично прийнятний носій, ад'ювант або засіб доставки.

18. Фармацевтична композиція за п. 17, яка додатково включає не аденозинмодифікуючий агент.

19. Фармацевтична композиція за п. 17 в формі для перорального, внутрішньовенного, внутрішньом'язового або підшкірного введення.

20. Застосування сполуки за будь-яким з пп. 1-16 для одержання ліків для блокування у пацієнта рецепторів аденозину А₁.

21. Застосування сполуки за будь-яким з пп. 1-16 для одержання ліків для лікування або профілактики у пацієнта захворювання або порушення, при яких активація рецепторів аденозину А₁ відіграє

важливу роль в цьому захворюванні або порушенні.

22. Спосіб лікування пацієнта з ознаками або симптомами захворювання або порушення, при яких активація рецепторів аденозину A_1 грає важливу роль в цьому захворюванні або порушенні, що включає введення вказаному пацієнту фармацевтично ефективною кількістю фармацевтичної композиції за п. 17.

23. Спосіб за п. 22, де захворювання або порушення вибирають з групи, що складається з системою гіпертонії, ниркової недостатності, діабету, астми, набряклого стану, застійної серцевої недостатності і ниркової дисфункції.

24. Спосіб одержання сполуки за пп. 1 або 8, що включає стадії:

- a) алкілювання тіокетону до одержання тіоефіру;
- b) здійснення взаємодії тіоефіру із заміщеним аміноспиртом до одержання проміжної сполуки спирту; і
- c) циклізації проміжної сполуки спирту до одержання циклізованого продукту.

25. Спосіб за п. 24, який включає далі стадію:

- a) перетворення циклізованого продукту в похідне карбонової кислоти.

26. Спосіб за п. 25, який включає далі стадії:

- a) здійснення реакції поєднання діаміноурацилу з монометиліновим складним ефіром біцик-

ло[2.2.2]октан-1,4-дикарбонової кислоти до одержання кислоти;

b) відновлення кислоти до відповідного спирту;

c) окислення спирту до альдегіду;

d) здійснення реакції поєднання альдегіду з метил(трифенілфосфораніліден) ацетатом до одержання продукту реакції поєднання; і

e) перетворення продукту реакції поєднання в тіокетон.

27. Спосіб за п. 25, який включає далі стадії:

a) здійснення реакції поєднання діаміноурацилу з монометиліновим складним ефіром біцикло[2.2.2]октан-1,4-дикарбонової кислоти до одержання кислоти;

b) етерифікації кислоти до відповідного складного ефіру;

c) перетворення складного ефіру в тіокетон.

28. Спосіб за п. 24, який включає далі стадії:

a) нітрозуювання 6-аміно-1-пропіл-1H-піримідин-2,4-діону до одержання проміжної нітрозосполуки;

b) відновлення проміжної нітрозосполуки до відповідного діаміноурацилу;

c) перетворення діаміноурацилу в сіль аміну;

d) здійснення реакції сполучення солі аміну з 4-гідроксибіцикло[2.2.2]октан-1-карбоною кислотою до одержання продукту реакції поєднання; і

e) перетворення продукту реакції сполучення в тіокетон.

Заявка, що розглядається, заявляє пріоритет від попередньої заявки [на патент США №60/250658, поданої 1 грудня 2000 року], яка включена сюди для посилання.

Даний винахід відноситься до області медичної хімії і фармакології. Більш конкретно він відноситься до антагоністів рецепторів аденозину, фармацевтичних композицій, що включають ці сполуки, і до способів їх одержання і використання для лікування захворювань.

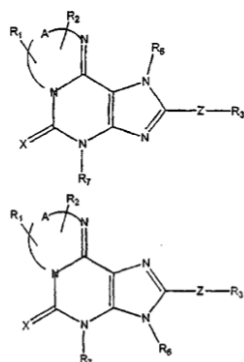
Аденозин являє собою поширений біохімічний месенджер. Аденозин зв'язується з сімома трансмембранними, зв'язуючими G-білок рецепторами, і активує їх, викликаючи різні фізіологічні реакції. Рецептори аденозину поділяються на чотири відомих підтипи (тобто A_b , A_{2a} , A_{2b} , і A_3). Ці підтипи рецепторів опосередковують різні і, іноді, протилежні ефекти. Наприклад, активізація рецептора аденозину A_1 спричиняє підвищення опірності ниркових судин, тоді як активізація рецептора аденозину A_{2a} спричиняє зменшення опірності ниркових судин.

У більшості систем органів ссавців періоди метаболічного стресу приводять до істотного підвищення концентрації аденозину в тканинах. Наприклад, серце виробляє і виділяє аденозин для опосередкування адаптивних реакцій на стрес, таких як зменшення швидкості серцевих скорочень і розширення коронарних судин. Аналогічно, концентрації аденозину в нирках підвищуються при реакції на гіпоксію, метаболічний стрес і багато які нефротоксичні речовини. Нирки також виробляють аденозин конститутивно. Нирки регулюють кількість аденозину, що виробляється конститутивно, для регулювання гломерулярної фільтрації і елек-

тролітичної реабсорбції. Що стосується регулювання гломерулярної фільтрації, то активація рецепторів A_1 приводить до скорочення артеріол, що приносять, тоді як активація A_{2a} рецепторів приводить до розширення артеріол, що відносять. Активація A_{2a} рецепторів викликає ефекти розширення судин у артеріол, що приносять. Загалом, ефект активації цих гломерулярних аденозинових рецепторів повинен зменшити швидкість гломерулярної фільтрації. Крім того, рецептори аденозину A_1 розташовані в проксимальних трубчастих і дистальних трубчастих сайтах. Активація цих рецепторів стимулює реабсорбцію натрію з просвітів трубочок. Відповідно, ефекти блокування аденозину на цих рецепторах викликають підвищення швидкості гломерулярної фільтрації і підвищення виділення натрію.

Даний винахід заснований на відкритті того факту, що сполуки формули I і II є ефективними і селективними інгібіторами конкретних підтипів рецепторів аденозину. На основі цього відкриття в даному винаході представлені антагоністи аденозину, які можна використати для профілактики і/або лікування множини захворювань, включаючи серцеві і циркуляторні порушення, дегенеративні порушення центральної нервової системи, респіраторні порушення і багато які захворювання, при лікуванні яких використовують діуретики. У загальних рисах в даному винаході представлені ефективні і селективні антагоністи рецепторів аденозину A_1 .

У даному винаході представлені сполуки формул I або II:



де R_1 і R_2 незалежно вибирають з групи, що складається з:

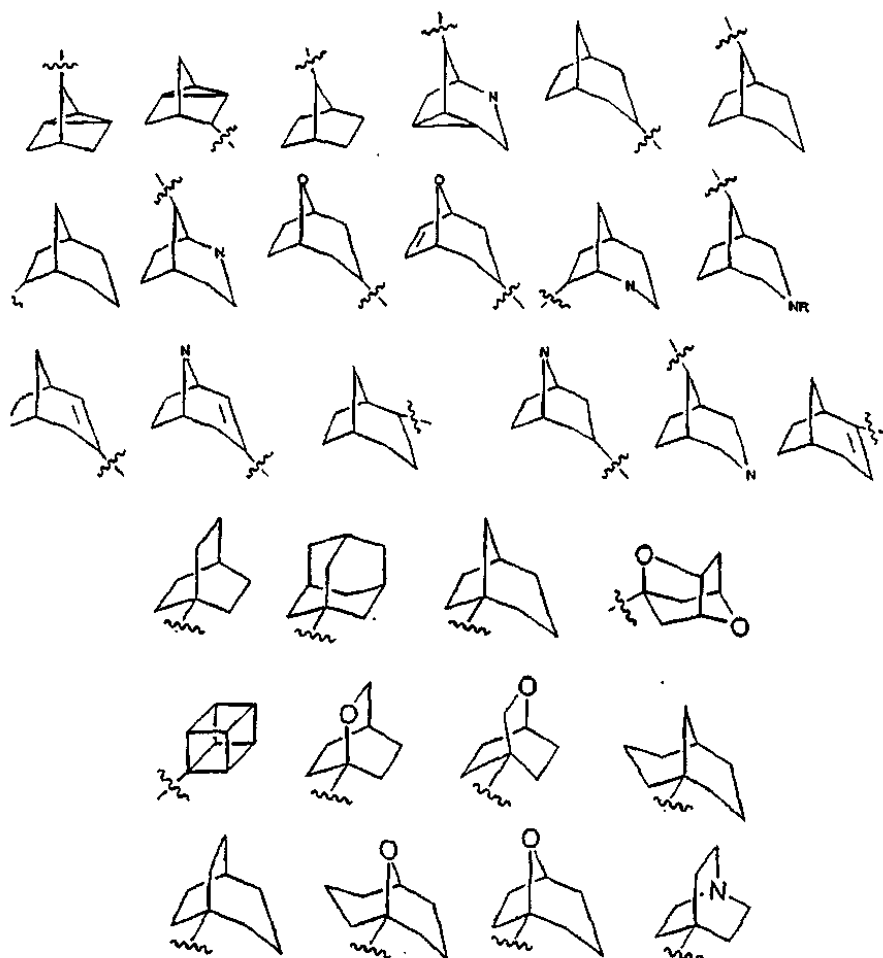
а) водню;

б) алкілу, алкенілу або алкінілу, де вказаний алкіл, алкеніл або алкініл є незаміщеним або функціоналізованим одним або більше із замісників, вибраних з групи, що складається з гідрокси, алкокси, аміно, алкіламіно, діалкіламіно, гетероциклілу, ациламіно, алкілсульфоніламіно і гетероциклікарбоніламіно; і

с) арилу або заміщеного арилу;

R_3 вибирають з групи, що складається з:

(а) біциклічної, трициклічної або пентациклічної групи, вибраної з групи, що складається з:



де біциклічна, трициклічна або пентациклічна група є або незаміщеною, або функціоналізованою одним або більше із замісників, вибраних з групи, що складається з:

(i) алкілу, алкенілу і алкінілу; де кожна алкільна, алкенільна або алкінільна група є або незаміщеною, або функціоналізованою одним або більше із замісників, вибраних з групи, що складається з (алкоксикарбоніл)аралкілкарбамоїлу,

(аміно) (R_5)ацилгідразинілкарбонілу,

(аміно) (R_5)ацилоксикарбокси,

(гідрокси)(карбоалкокси)алкілкарбамоїлу,

ациламіноалкіламіно, ацилокси, альдегідо, ал-

кенокси, алкеніламіно, алкенілсульфоніламіно, алкокси, алкоксикарбонілу, алкоксикарбоніламіно, алкоксикарбоніламіно, алкоксикарбоніламіноацилокси, алкоксикарбоніламіноалкіламіно, алкіламіно, алкіламіноалкіламіно, алкілкарбамоїлу, алкілфосфоно, алкілсульфоніламіно, алкілсульфонілокси, аміно, аміноацилокси, аміноалкіларалкілкарбамоїлу, аміноалкілкарбамоїлу, аміноалкілгетероцикліл алкілкарбамоїлу, аміноциклоалкілалкілциклоалкілкарбамоїлу, аміноциклоалкілкарбамоїлу, аралкоксикарбонілу, аралкоксикарбоніламіно, арилгетероциклілу, арилокси, арилсульфоніламіно, арилсульфонілокси,

карбамоїлу, карбонілу, ціано, ціаноалкілкарбамоїлу, циклоалкіламіно, діалкіламіно, діалкіламіноалкіламіно, діалкіламіноалкілкарбамоїлу, діалкілфосфоно, галоалкілсульфоніламіно, галогену, гетероциклілу, гетероцикліалкіламіно, гетероциклілкарбамоїлу, гідрокси, гідроксialкілсульфоніламіно, оксиміно, фосфату, фосфоно, $-R_5$, $-R_5$ -алкокси, $-R_5$ -алкіл(алкіл)аміно, R_5 -алкілалкілкарбамоїлу, R_5 -алкіламіно, R_5 -алкілкарбамоїлу, R_5 -алкілсульфонілу, R_5 -алкілсульфоніламіно, R_5 -алкілтіо, R_5 -гетероциклілкарбонілу, заміщеного аралкіламіно, заміщеного арилкарбоксіалкоксикарбонілу, заміщеного арилсульфоніламіноалкіламіно, заміщеного гетероарилсульфоніламіно, заміщеного гетероциклілу, заміщеного гетероцикліламіноалкіламіно, заміщеного гетероциклілсульфоніламіно, сульфоксіяциламіно, тіокарбамоїлу, трифторметилу; і

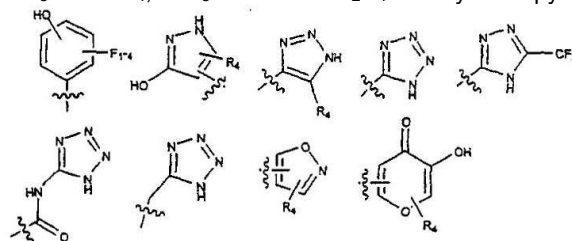
- (ii) (алкоксикарбоніл)аралкілкарбамоїлу,
(аміно) (R_5)ацилгідрозинілкарбонілу,
(аміно) (R_5)ацилоксикарбокси,
(гідрокси)(карбоалкокси)алкілкарбамоїлу,

ациламіноалкіламіно, ацилокси, альдегідо, алкенокси, алкеніламіно, алкенілсульфоніламіно, алкокси, алкоксикарбонілу, алкоксикарбоніалкіламіно, алкоксикарбоніламіно, алкоксикарбоніламіноацилокси, алкоксикарбоніламіноалкіламіно, алкіламіно, алкіламіноалкіламіно, алкілкарбамоїлу, алкілфосфоно, алкілсульфоніламіно, алкілсульфонілокси, аміно, аміноацилокси, аміноалкіларалкілкарбамоїлу, аміноалкілкарбамоїлу, аміноалкілгетероцикліл алкілкарбамоїлу, аміноциклоалкілалкілциклоалкілкарбамоїлу, аміноциклоалкілкарбамоїлу, аралкоксикарбонілу, аралкоксикарбоніламіно, арилгетероциклілу, арилокси, арилсульфоніламіно, арилсульфонілокси, карбамоїлу, карбонілу, ціано, ціаноалкілкарбамоїлу, циклоалкіламіно, діалкіламіно, діалкіламіноалкіламіно, діалкіламіноалкілкарбамоїлу, діалкілфосфоно, галоалкілсульфоніламіно, галогену, гетероциклілу, гетероцикліалкіламіно, гетероциклілкарбамоїлу, гідрокси, гідроксialкілсульфоніламіно, оксиміно, фосфату, фосфоно, $-R_5$, R_5 -алкокси, R_5 -алкіл(алкіл)аміно, R_5 -алкілалкілкарбамоїл, R_5 -алкіламіно, R_5 -алкілкарбамоїлу, R_5 -алкілсульфонілу, R_5 -алкілсульфоніламіно, R_5 -алкілтіо, R_5 -гетероциклілкарбонілу, заміщеного аралкіламіно, заміщеного арилкарбоксіалкоксикарбонілу, заміщеного арилсульфоніламіноалкіламіно, заміщеного гетероарилсульфоніламіно, заміщеного гетероциклілу, заміщеного гетероцикліламіноалкіламіно, заміщеного гетероциклілсульфоніламіно, заміщеного гетероциклілсульфоніламіно, сульфоксіяциламіно, тіокарбамоїлу, трифторметилу;

R_4 вибирають з групи, що складається з водню, C_{1-4} -алкілу, C_{1-4} -алкіл- CO_2H і фенілу, де C_{1-4} -алкільна, C_{1-4} -алкіл- CO_2H у фенільна групи є або незаміщеними, або функціоналізованими одним-трьома замісниками, вибраними з групи, що складається з галогену, $-OH$, $-OMe$, $-NH_2$, NO_2 , бензилу і бензилу, функціоналізованого одним-трьома замісниками, вибраними з групи, що складається з галогену, $-OH$, $-OMe$, $-NH_2$, і $-NO_2$;

R_5 вибирають з групи, що складається з $-(CR_1R_2)_nCOOH$, $-C(CF_3)_2OH$, $-CONHNHOSO_2CF_3$, $-$

$CONHOR_4$, $-CONHSO_2R_4$, $-CONHSO_2NHR_4$, $-C(OH)R_4PO_3H_2$, $-NHCOCF_3$, $-NHCONHSO_2R_4$, $-NHPO_3H_2$, $-NHSO_2R_4$, $-NHSO_2NHCOR_4$, $-OPO_3H_2$, $-OSO_3H$, $-PO(OH)R_4$, $-PO_3H_2$, $-SO_3H$, $-SO_3NHR_4$, $-SO_3NHCOR_4$, $-SO_3NHCONHCO_2R_4$ і наступних груп:



$n=0, 1, 2$ або 3 ;

A вибирають з групи, що складається з $-CH=CH$, $-(CH)_m-(CH)_m$, $CH=CH-CH_2$, і $-CH_2-CH=CH$; $m=1$ або 2 ;

X являє собою O або S ;

Z вибирають з групи, що складається з простою зв'язку, $-O-$, $-(CH_2)_n-$, $-O(CH_2)_{1-2}-$, $-CH_2OCH_2-$, $-(CH_2)_{1-2}O-$, $-CH=CHCH_2-$, $-CH=CH-$ і $-CH_2CH=CH-$; і

R_6 вибирають з групи, що складається з водню, алкілу, ацилу, алкілсульфонілу, аралкілу, заміщеного аралкілу, заміщеного алкілу і гетероциклілу; і

R_7 вибирають з групи, що складається з:

a) водню;

b) алкілу, алкенілу, що містить не менше 3 атомів вуглецю, або алкінілу, що містить не менше 3 атомів вуглецю; де вказаний алкіл, алкеніл або алкініл є або незаміщеним, або функціоналізованим одним або більше із замісників, вибраних з групи, що складається з гідрокси, алкокси, аміно, алкіламіно, діалкіламіно, гетероциклілу, ациламіно, алкілсульфоніламіно і гетероциклілкарбоніламіно; і

c) арилу або заміщеного арилу;

d) алкіларилу або арилу, заміщеного алкілом.

Сполуки формули I або II не обов'язково можуть бути в таких формах, як ахіральні сполуки, рацемати, оптично активні сполуки, чисті діастереоізомери, суміші діастереоізомерів або фармакологічно прийнятні солі приєднання кислот. У деяких переважних варіантах сполуки даного винаходу є сполуками формули I або II, де ні R_1 , ні R_2 не є воднями, тобто кожний з R_1 і R_2 незалежно вибрані з групи, що складається з

a) алкілу, алкенілу або алкінілу, де вказаний алкіл, алкеніл або алкініл є або незаміщеним, або функціоналізованим одним або більше із замісників, вибраних з групи, що складається з гідрокси, алкокси, аміно, алкіламіно, діалкіламіно, гетероциклілу, ацил аміно, алкілсульфоніл аміно і гетероцикліл карбоніл аміно; і

b) арилу або заміщеного арилу.

Більш переважно, щоб, щонайменше, один з R_1 і R_2 являв собою алкіл. У інших переважних варіантах A являє собою $-(CH)_m-(CH)_m$.

R_7 являє собою алкіл в інших переважних варіантах, і Z , переважно, являє собою простий зв'язок.

Переважними сполуками даного винаходу є:

2-(4-гідроксибіцикло[2.2.2]окт-1-іл)-7-ізопропіл-4-пропіл-1,4,6,7-тетрагідро-1,3,4,5а, 8-пентааза-аз-індацен-5-он (сполука 1);

7-етил-2-(4-гідроксибіцикло[2.2.2]окт-1-іл)-4-пропіл-1,4,6,7-тетрагідро-1,3,4,5а, 8-пентааза-аз-індацен-5-он (сполука 2);

3-[4-(7-етил-5-оксо-4-пропіл-4,5,6,7-тетрагідро-1Н-1,3,4,5а, 8-пентааза-аз-індацен-2-іл)біцикло[2.2.2]окт-1-іл]пропіонова кислота (сполука 3);

2-(4-гідроксибіцикло[2.2.2]окт-1-іл)-7-метил-4-пропіл-1,4,6,7-тетрагідро-1,3,4,5а, 8-пентааза-аз-індацен-5-он (сполука 4); і

3-[4-(7-ізопропіл-5-оксо-4-пропіл-4,5,6,7-тетрагідро-1Н-1,3,4,5а,8-пентааза-аз-індацен-2-іл)біцикло[2.2.2]окт-1-іл]пропіонова кислота (сполука 5).

Сполуки даного винаходу можна модифікувати для посилення бажаних характеристик. Такі модифікації відомі фахівцям і включають ті, які посилюють біологічну проникність в конкретну біологічну систему (наприклад, в кров, лімфатичну систему, центральну нервову систему), підвищують доступність при пероральному введенні, підвищують розчинність для введення за допомогою ін'єкцій, змінюють метаболізм і/або змінюють швидкість виведення. Приклади таких модифікацій включають (але цим не обмежуються) етерифікацію поліетилентгліколями, одержання похідних піволатів або заміщення жирними кислотами, перетворення в карбамати, гідроксилування ароматичних кілець і введення гетероатомів-замісників в ароматичні кільця.

Даний винахід охоплює також фармацевтичні композиції, що включають будь-які з вищезгаданих сполук, взятих окремо або в комбінації з відповідними ексципієнтами.

Даний винахід включає спосіб лікування пацієнта, у якого виявляються ознаки або симптоми захворювання або порушення, при яких активація рецепторів аденозину А₁ є причиною захворювання або порушення. Спосіб включає введення пацієнту ефективної кількості будь-якої з вищезгаданих сполук. Таким захворюванням або порушенням може бути, наприклад, системна гіпертонія, ниркова недостатність, діабет, астма, набряклість, застійна серцева недостатність або ниркова дисфункція (наприклад, ниркова дисфункція, виникаюча як побічний ефект при прийомі діуретиків, які використовують при лікуванні застійної серцевої недостатності, або отруєння нирок, виникаюче як побічний ефект при лікуванні хіміотерапевтичними агентами).

Сполуки даного винаходу забезпечують переваги, включаючи наступні. Так, наприклад, (1) їх можна використовувати в малих дозах для мінімізації імовірності вияву побічних ефектів і (2) їх можна включати в численні дозовані форми, включаючи (але цим не обмежуючись) пілюлі, таблетки, капсули, аерозолі, супозиторії, рідкі композиції для перорального введення або для ін'єкцій, дієтичні добавки або препарати для зовнішнього застосування. У доповнення до застосувань в медицині сполуки даного винаходу можна використовувати у ветеринарії для лікування тварин. У деяких варіантах фармацевтичну композицію приготують у формі для перорального, внутрішньовенного, внутрішньом'язового або підшкірного введення.

У даному винаході запропонований також спо-

сіб одержання вищезгаданих сполук, який включає стадії:

а) алкілування тіокетону до одержання тіоефіру;

б) здійснення взаємодії тіоефіру із заміщеним аміноспиртом до одержання проміжної сполуки спирту; і

с) циклізації проміжної сполуки спирту до одержання циклізованого продукту.

У деяких варіантах вищезгаданий спосіб включає далі стадію а) перетворення циклізованого продукту в похідне карбонової кислоти. У деяких варіантах спосіб включає далі стадії: а) здійснення реакції поєднання діаміноурацилу з монометилловим складним ефіром біцикло[2.2.2]октан-1,4-дикарбонової кислоти з одержанням кислоти; б) відновлення кислоти до відповідного спирту; с) окислення спирту до альдегіду; d) здійснення реакції поєднання альдегіду з метил(трифенілфосфораніліден)ацетатом до одержання продукту реакції поєднання; е) перетворення продукту реакції поєднання в тіокетон; f) алкілування тіокетону з одержанням тіоефіру; g) здійснення взаємодії тіоефіру із заміщеним аміноспиртом з одержанням проміжної сполуки спирту; і h) циклізації проміжної сполуки спирту до одержання продукту циклізації; і i) перетворення продукту циклізації в похідне карбонової кислоти.

У деяких варіантах спосіб включає стадії: а) здійснення реакції поєднання діаміноурацилу з монометилловим складним ефіром біцикло[2.2.2]октан-1,4-дикарбонової кислоти до одержання кислоти; б) етерифікації кислоти до відповідного складного ефіру; с) перетворення складного ефіру з одержанням тіокетону; d) алкілування тіокетону з одержанням тіоефіру; е) відновлення тіоефіру заміщеним аміноспиртом з одержанням проміжної сполуки спирту; і f) циклізації проміжної сполуки спирту до одержання продукту циклізації, і g) перетворення продукту циклізації в похідне карбонової кислоти.

У деяких варіантах спосіб включає стадії: а) нітрозування 6-аміно-1-пропіл-1Н-піримідин-2,4-діону до одержання проміжної нітрозосполуки; б) здійснення відновлення проміжної нітрозосполуки до відповідного діаміноурацилу; с) перетворення діаміноурацилу в сіль аміну; d) здійснення реакції поєднання солі аміну з 4-гідроксибіцикло[2.2.2]октан-1-карбоновою, кислотою до одержання продукту реакції поєднання; і е) перетворення продукту реакції поєднання в тіокетон; f) алкілування тіокетону з одержанням тіоефіру; g) здійснення взаємодії тіоефіру із заміщеним аміноспиртом з одержанням проміжної сполуки спирту; і h) циклізації проміжної сполуки спирту до одержання продукту циклізації.

Інші відмітні ознаки і переваги даного винаходу будуть ясні з подальшого докладного опису і з формули винаходу.

Якщо немає інших вказівок, то всі технічні і наукові терміни, що використовуються тут мають ті ж значення, які звичайно відомі фахівцям в тій області, до якої відноситься даний винахід. Хоча в практиці здійснення або перевірки даного винаходу можна використати способи і матеріали, аналогічні або еквівалентні тим, які розкриті тут, відпові-

дні способи і матеріали розкриті далі. Всі публікації, патентні заявки, патенти і інші розкриті тут посилання включені сюди тільки як посилання. Крім того, матеріали, способи і приклади є тільки ілюстративними, а не такими, що обмежують. У всьому описі термін "включати" або такі його варіанти, як "включає" або, "що включає", потрібно розглядати як такі, що означають включення вказаного цілого або груп цілого, а не виключення якого-небудь цілого або груп цілого.

Термін, що використовується в описі, "алкенільна" група являє собою аліфатичну вуглецеву групу, яка містить, щонайменше, один подвійний зв'язок. Алкенільна група може бути нерозгалуженою або розгалуженою і може містити, наприклад, від 3 до 6 атомів вуглецю в ланцюжку і 1 або 2 подвійні зв'язки. Приклади алкенільних груп включають (але цим не обмежуються) аліл і ізопреніл.

Термін, що використовується в описі, "алкінільна" група являє собою аліфатичну вуглецеву групу, що містить, щонайменше, один потрійний зв'язок. Алкінільна група може бути нерозгалуженою або розгалуженою і може містити, наприклад, від 3 до 6 атомів вуглецю в ланцюжку і 1-2 потрійні зв'язки. Приклади алкінільних груп включають (але цим не обмежуються) пропаргил і бутиніл.

Термін, що використовується в описі, "арильна" група являє собою фенільну або нафтильну групу або їх похідні. "Заміщена арильна" група являє собою арильну групу, яка заміщена одним або більше із замісників, таких як алкіл, алкокси, аміно, нітро, карбокси, карбоалкокси, ціано, алкіламіно, діалкіламіно, галоген, гідрокси, гідроксіалкіл, меркаптил, алкілмеркаптил, тригалоалкіл, карбоксіалкіл, сульфокси або карбамоїл.

Термін, що використовується в описі, "аралкільна" група являє собою алкільну групу, яка заміщена арильною групою. Прикладом аралкільної групи є бензил.

Термін, що використовується в описі, "циклоалкільна" група являє собою аліфатичне кільце, що містить, наприклад, 3-8 атомів вуглецю. Приклади циклоалкільних груп включають циклопропіл і циклогексил.

Термін, що використовується в описі, "ацильна" група являє собою нерозгалужену або розгалужену алкіл-С(=О)-групу або групу формілу. Приклади ацильних груп включають алканойльні групи (наприклад, що містять від 1 до 6 атомів вуглецю в алкільній групі). Ацетил і півалоїл є прикладами ацильних груп. Ацильні групи можуть бути заміщеними або незаміщеними.

Термін, що використовується в описі, "карбамоїльна" група являє собою групу, що містить структуру $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}_2$. Терміни "алкілкарбамоїл" і "діалкілкарбамоїл" відносяться до карбамоїльних груп, в яких до атома азоту замість атомів водню приєднані одна або дві алкільні групи, відповідно. Аналогічно, "арилкарбамоїльна" і "арилалкілкарбамоїльна" групи включають арильну групу замість одного з атомів водню, а в останньому випадку - алкільну групу замість другого атома водню.

Термін, що використовується в описі, "карбоксильна" група являє собою $-\text{COOH}$ групу.

Термін, що використовується в описі, "алкоксигрупа" являє собою алкіл-О-групу, в якій "алкіл"

має вказані раніше значення.

Термін, що використовується в описі, "алкоксіалкільна" група являє собою алкільну групу, як визначено вище, в якій водень замінений алкоксигрупою, як визначено вище.

Термін, що використовується в описі, "галоген" або "гало" група являє собою фтор, хлор, бром або йод.

Термін, що використовується в описі, "гетероциклільна" група являє собою 5-10-членну кільцеву структуру, в якій один або більше з атомів в кільці відмінні від вуглецю, наприклад, N, O, S. Гетероциклільна група може бути ароматичною або не ароматичною, тобто може бути насиченою або може бути частково або повністю ненасиченою. Приклади гетероциклільних груп включають піридил, імідазоліл, фураніл, тієніл, тіазоліл, тетрагідрофураніл, тетрагідропіраніл, морфолініл, тіоморфолініл, індоліл, індолініл, ізоіндолініл, піперидиніл, піримідиніл, піперазиніл, ізоксазоліл, ізоксазолідиніл, тетразоліл і бензімідазоліл.

Термін, що використовується в описі, "заміщена гетероциклільна" група являє собою гетероциклільну групу, в якій один або більше з воднів замінений замісником, таким як алкокси, алкіламіно, діалкіламіно, карбалкокси, карбамоїл, ціано, галоген, тригалометил, гідрокси, карбоніл, тіокарбоніл, гідроксіалкіл або нітро.

Термін, що використовується в описі, "гідроксіалкіл" означає алкільну групу, заміщену гідроксигрупою.

Термін, що використовується в описі, "сульфамойльна група" являє собою групу структури $-\text{S}(\text{O})_2\text{NH}_2$.

Терміни "алкілсульфамойл" і "діалкілсульфамойл" являють собою сульфамойльні групи, в яких до атома азоту замість атомів водню приєднані сульфамойльні групи, відповідно. Аналогічно, "арилсульфамойльна" і "арилалкілсульфамойльна" групи включають арильну групу замість одного з атомів водню, а в останньому випадку алкільну групу замість другого атома водню.

Термін, що використовується в описі, "антагоніст" являє собою молекулу, яка зв'язується з рецептором без активування рецептора. Він конкурує з ендogenousним лігандом за цей сайт скріплення, і таким чином зменшує можливість ендogenousного ліганду стимулювати цей рецептор.

У контексті даного винаходу термін "селективний антагоніст" відноситься до антагоніста, який зв'язується зі специфічним підтипом аденозинового рецептора з більш високою спорідненістю, ніж з іншими підтипами аденозинових рецепторів. Антагоністи відповідно до даного винаходу можуть, наприклад, володіти більш високою спорідненістю до A_1 рецепторів і бути селективними, володіючи (а) нанолярною зв'язуючою спорідненістю до A_1 рецептору, і (b), щонайменше, в 10 разів, більш переважно, в 50 разів і, найбільш переважно, щонайменше, в 100 разів більш високою спорідненістю до підтипу рецептора A_1 , ніж до будь-якого іншого підтипу рецепторів.

Термін, що використовується в описі, "фармацевтично ефективна кількість" означає кількість, ефективну для лікування або профілактики станів, що характеризується підвищеною концентрацією

аденозину і/або підвищеною чутливістю до аденозину. Термін, що використовується в описі, "пацієнт" відноситься до ссавців, включаючи людину.

Термін, що використовується в описі, "фармацевтично прийнятний носій або ад'ювант" являє собою нетоксичний носій або ад'ювант, який можна вводити тварині разом із сполукою даного винаходу і який не порушує фармакологічної активності цієї сполуки.

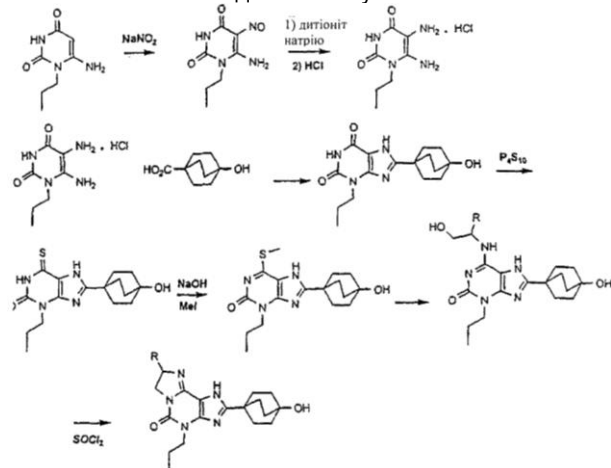
В основному даний винахід відноситься до ефективних і селективних антагоністів рецепторів аденозину A₁. Одержані сполуки даного винаходу представлені в таблиці 1. Наведені тут сполуки демонструють величини IC₅₀ відносно рецептора A₁ у щурів в інтервалі від близько 7 до близько 1095.

Синтез сполук - антагоністів аденозину

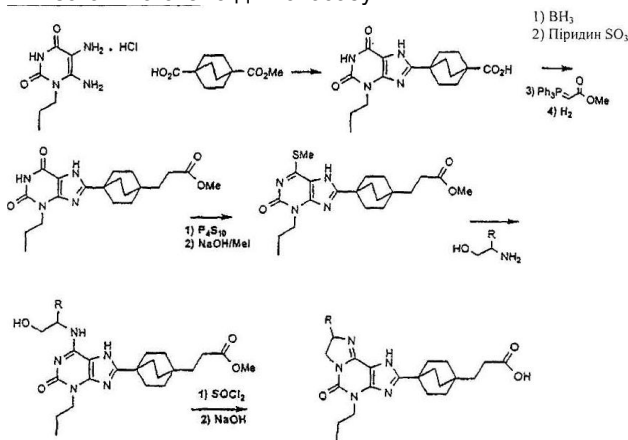
Сполуки даного винаходу можна одержати, використовуючи цілий ряд відомих способів. Наприклад, ці сполуки можна одержати способами, розкритими [Suzuki, F. et al. J. Med. Chem. 1992, 35, 3581-3583, і/або Shimada, J.; Suzuki, F. Tetrahedron Lett. 1992, 33, 3151-3154].

Три загальні схеми синтезу сполук даного винаходу розкриті далі.

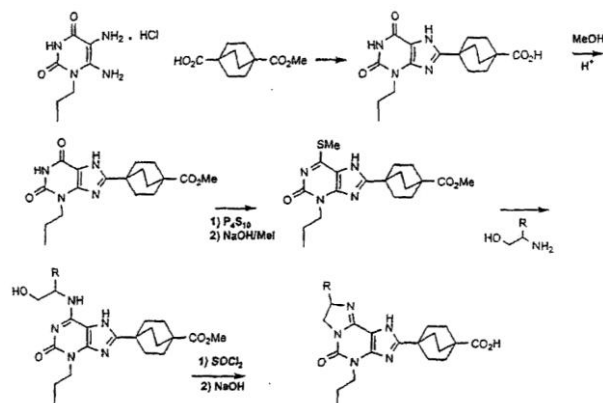
Загальна схема для способу 1



Загальна схема для способу 2



Загальна схема для способу 3



Як повинно бути очевидно фахівцям, даний винахід не обмежується приведеними вище схемами синтезу. Фахівцям будуть очевидні і інші способи.

Застосування сполук - антагоністів аденозину

Активация рецепторів аденозину підтипу A₁ викликає багато які фізіологічні реакції, включаючи зменшення потоку крові через нирки, зменшення швидкості гломерулярної фільтрації і збільшення реабсорбції натрію в нирках. Активация рецепторів аденозину A₁ знижує також частоту серцевих скорочень, знижує швидкість проведення збудження і зменшує скорочуваність. Ці і інші ефекти, пов'язані з активациєю рецепторів аденозину A₁ в інших органах, є нормальними регуляторними процесами. Однак ці ефекти стають патологічними при багатьох хворобливих станах. Так, антагоністи рецепторів A₁ знаходять широке застосування як для профілактики так і при лікуванні захворювань. Захворювання, при яких можна провести профілактику або провести лікування антагоністами рецепторів A₁ включають такі захворювання і порушення, при яких активация антагоністів рецепторів A₁ грає роль в патофізіології. Приклади таких захворювань і порушень включають (але цим не обмежуються) застійну серцеву недостатність; респіраторні порушення (наприклад, бронхіальну астму, алергічні захворювання легенів); і багато які захворювання, при яких показано лікування діуретиками (наприклад, гостра і хронічна ниркова недостатність, слабе функціонування нирок, гіпертонія).

Крім того, в даному винаході запропоновано введення високо селективних і ефективних антагоністів рецепторів A₁, наприклад, для того, щоб викликати діуретичну реакцію при окремому введенні, і потенціювання діуретичної реакції на традиційні діуретики. Крім того, введення антагоністів рецепторів A₁ спільно з традиційними діуретиками ослабляє зменшення швидкості гломерулярної фільтрації, яке викликають традиційні діуретики. Це використовують, наприклад, при лікуванні набряклих станів, таких як застійна серцева недостатність і асцит.

Введення сполук - антагоністів аденозину

Сполуки можна вводити тваринам (наприклад, ссавцям, таким як люди, примати, коні, собаки, корови, вівці, кози, кішки, миші, щури, морські свинки, кролики, хом'яки, піщанки, тхори, ящірки, рептилії або птахи). Сполуки можна вводити будь-яким способом, придатним для введення фарма-

цвітних сполук, включаючи (але цим не обмежуючись) пілюлі, таблетки, капсули, аерозолі, супозиторії, рідкі форми для перорального введення або для ін'єкцій, або для використання як очні або вушні краплі, дієтичні добавки і препарати для зовнішнього використання. Сполуки можна вводити перорально, інтраназально, трансдермально, інтрадермально, вагінально, інтрааурально (у вухо), інтраокулярно, букально, ректально, трансмукозально або за допомогою інгаляцій або імплантатів (наприклад, хірургічно) або внутрішньовенно.

Необов'язково сполуки можна вводити разом з не аденозинмодифікуючою фармакологічною композицією (наприклад, в комбінації з не аденозинмодифікуючим діуретиком, як розкрито, наприклад, в заявці, що знаходиться на одночасному розгляді, [PCT/US99/08879, поданій 23 квітня 1999 року]).

Фармацевтичні композиції

Антагоністи рецепторів A_1 можна приготувати в формі фармацевтичних композицій для введення тваринам, включаючи людей. Ці фармацевтичні композиції, переважно, включають таку кількість антагоністів рецепторів аденозину A_1 , яка ефективно знижує звуження судин або посилює легеневу гемодинаміку, і фармацевтично прийнятний носій.

Фармацевтично прийнятні носії, придатні для цих фармацевтичних композицій, включають, наприклад, іонообмінники, окисел алюмінію, стеарат алюмінію, лецитин, білки сироватки, такі як альбумін сироватки людини, буферні речовини, такі як фосфати, гліцин, сорбінова кислота, сорбат калію, суміші гліцеридів або насичені рослинні жирні кислоти, вода, солі або електроліти, такі як протамін-сульфат, динатрійгідрофосфат, гідрофосфат калію, хлорид натрію, солі цинку, колоїдний окисел кремнію, трисилікат магнію, полівінілпіролідон, речовини на основі целюлози, поліетиленгліколь, натрійкарбоксиметилцелюлозу, поліакрилати, віск, блокполімери поліетилен-поліоксипропілену, поліетиленгліколь і шерстний жир (ланолін).

Композиції даного винаходу можна вводити парентерально, перорально, за допомогою спреїв для інгаляцій, зовнішньо, ректально, інтраназально, букально, вагінально або за допомогою імплантованих ємностей. Термін "парентерально", що використовується в описі, включає такі способи введення, як підшкірні, внутрішньовенні, внутрішньом'язові, інтраартикулярні, інтрасиновіальні, інтрастемальні, інтратекальні, інтрагепатичні, інтралезіональні і інтракраніальні ін'єкції або вливання. Переважно вводити композиції перорально, інтраперитонально або внутрішньовенно.

Стерильні форми композицій даного винаходу для ін'єкцій можуть бути водними або масляними суспензіями. Ці суспензії можна приготувати відомими фахівцям способами, використовуючи відповідні диспергуючі або змочувальні агенти і суспендуючі агенти. Стерильні препарати для ін'єкцій також можуть бути стерильними розчинами або суспензіями для ін'єкцій в нетоксичних парентерально прийнятних розріджувачах або розчинниках, наприклад, у вигляді розчинів в 1,3-бутандіолі. Серед прийнятних носіїв і розчинників, які можна використати, потрібно указати воду, розчин Рінгера і ізотонічний розчин хлориду натрію. Крім того,

стерильні жирні олії звичайно використовують як розчинник або суспендуче середовище. Для цієї мети можна використати будь-які негусті жирні олії, включаючи синтетичні моно- або дигліцериди. Жирні кислоти, такі як олеїнову кислоту і її гліцеридні похідні, можна використати для приготування придатних для ін'єкцій препаратів, якими є природні фармацевтично прийнятні олії, такі як оливкова олія або касторова олія, особливо їх поліоксіетиленові похідні. Такі олійні розчини або суспензії можуть також містити розріджувачі або диспергатори - довголанцетові спирти (вищі), такі як карбоксиметилцелюлоза або аналогічні диспергуючі агенти, які звичайно використовують при приготуванні фармацевтично прийнятних дозованих форм, включаючи емульсії і суспензії. Інші поверхнево-активні агенти, що звичайно використовуються, такі як Tweens, Spans і інші емульгуючі агенти або агенти, що підвищують біодоступність, які звичайно використовують при приготуванні фармацевтично прийнятних твердих, рідких або інших дозованих форм, також можна використати з метою одержання препаратів.

Композиції для парентерального введення можуть бути у вигляді єдиної болюсної дози, болюсної дози для вливання або прийому, після якої слідує підтримуюча доза. Такі композиції можна вводити один раз на день або "у міру необхідності".

Фармацевтичні композиції даного винаходу можна вводити перорально у вигляді будь-яких прийнятних для перорального прийому дозованих форм, включаючи капсули, таблетки, водні суспензії або розчини. У випадку таблеток для перорального введення носії, що звичайно використовуються включають лактозу і кукурудзяний крохмаль. Звичайно також додають змачувальні агенти, такі як стеарат магнію. Для перорального введення в формі капсул придатні розріджувачі включають лактозу і висушений кукурудзяний крохмаль. Якщо для перорального введення необхідні водні суспензії, активний інгредієнт комбінують з емульгуючими або суспендуючими агентами. При бажанні можуть бути також додані деякі підсолоджуючі агенти, агенти що додають смак, або забарвлюють.

В іншому варіанті фармацевтичні композиції даного винаходу можна вводити в формі супозиторіїв для ректального введення. Їх можна одержати, змішуючи агент з відповідним не подразнюючим ексципієнтом, який є твердим при кімнатній температурі, але стає рідким при ректальній температурі і тому розплавляється в ректумі, виділяючи ліки. Такі матеріали включають кокосове масло, бджолиний віск і поліетиленгліколи.

Фармацевтичні композиції даного винаходу придатні також для поверхневого застосування. Поверхневе нанесення можна здійснити, використовуючи композиції в формі ректальних супозиторіїв (див. вище) або в формі для введення за допомогою клізм. Можна також використати поверхневі-крізьшкірні пластири.

Для зовнішнього застосування фармацевтичні композиції можна приготувати у вигляді відповідних мазей, що містять активний компонент, суспендований або розчинений в одному або більше

з носіїв. Носії для зовнішнього застосування сполук даного винаходу включають мінеральну олію, рідкий петролатум, білий петролатум, пропіленгліколь, поліоксіетилен, поліоксипропіленові сполуки, емульгуючий віск і воду. В іншому варіанті фармацевтичні композиції можна приготувати у вигляді лосьйону або крему, які містять активні компоненти, суспендовані або розчинені в одному або більше з фармацевтично прийнятних носіїв. Відповідні носії включають (але цим не обмежуються) мінеральну олію, сорбітанмоностеарат, полісорбат 60, цетилові складні ефіри, віск, цетеариловий спирт, 2-октилдодеканол, бензиловий спирт і воду.

Для очних ліків фармацевтичні композиції даного винаходу можна приготувати у вигляді суспензій мікрочастинок в ізотонічному, з регульованим рН, стерильному сольовому розчині або, переважно, у вигляді розчинів в ізотонічному, з регульованим рН, стерильному сольовому розчині з доданням або без додання консерванту, такого як бензилалконійхлорид. В іншому варіанті для очних ліків фармацевтичні композиції можна приготувати в такій мазі, як петролатум.

Фармацевтичні композиції даного винаходу можна також вводити у вигляді аерозолів для носа або у вигляді інгаляцій. Такі композиції приготують відомими фахівцям-фармацевтам способами приготування фармацевтичних композицій, і їх можна приготувати у вигляді розчинів в сольовому розчині, використовуючи бензиловий спирт або інші відповідні консерванти, промотори абсорбції для підвищення біодоступності, фторвуглеводні і/або інші звичайні солюбілізуючі або диспергуючі агенти.

Кількість антагоністів рецепторів аденозину A_1 , яку можна скомбінувати з матеріалом носія для одержання одиничної дозованої форми, буде залежати від пацієнта, що піддається лікуванню і конкретного способу введення. Композиції можна приготувати таким чином, щоб вводити пацієнту, який одержує цю композицію, дозу від 0,01 до 100 мг/кг ваги тіла антагоністів рецепторів аденозину A_1 . У деяких варіантах даного винаходу доза становить 0,1-10 мг/кг ваги тіла. Композицію можна вводити у вигляді однієї дози, багаторазових доз або як вливання протягом певного проміжку часу.

Конкретні дози і схема лікування для конкретного пацієнта залежать від різних чинників, включаючи конкретний антагоніст, вік пацієнта, вагу тіла, загальний стан здоров'я, стать і дієту, а також час введення, швидкість виведення, комбінація ліків і тяжкість конкретного, підлягаючого лікуванню захворювання. Визначення ролі таких чинників знаходиться в компетенції звичайних фахівців. Кількість антагоніста буде також залежати від конкретного, підлягаючого лікуванню пацієнта, способу введення, типу композиції, характеристик сполуки, що вводиться, тяжкості захворювання і необхідного ефекту. Кількості антагоністів можна визначити на основі фармакологічних і фармакокінетичних принципів, які добре відомі фахівцям.

Для більш повного розуміння розкритого тут винаходу далі приводяться наступні приклади. Потрібно враховувати, що ці приклади представлені тільки для ілюстративних цілей, і їх не треба розглядати як такі, що обмежують яким-небудь

чином даний винахід.

ПРИКЛАДИ

ПРИКЛАД 1

Сполуки 1, 2, 4, 8, 9, 11, 12-21, 24, 27, 28, 31 і 32 одержують у відповідності до наступного способу, використовуючи відповідний аміноспирт на стадії 5. Для одержання сполук використовують наступні аміноспирти: (R)-2-аміно-3-метил-1-бутанол (сполука 1); (R)-2-аміно-1-бутанол (сполука 2); (R)-2-аміно-1-пропанол (сполука 4); (R)-ізолейцинол (сполука 8); (R)-2-аміно-1-бутанол (сполука 9); (R)-2-аміно-1-пентанол (сполука 11); (S)-1-аміно-2-пропанол (сполука 12); (R)-2-аміно-2-фенетанол (сполука 13); (R)-1-аміно-2-пропанол (сполука 14); (S)-ізолейцинол (сполука 15); (R)-2-аміно-3,3-диметилбутан-1-ол (сполука 16); (R)-2-аміно-4-метилпентан-1-ол (сполука 17); (R)-2-аміно-3-фенілпропан-1-ол (сполука 18); (R)-2-аміногексан-1-ол (сполука 19); 3-амінопропанол (сполука 20); 2-аміноетанол (сполука 21); (S)-2-аміно-1-бутанол (сполука 24); 4-амінобутанол (сполука 27); (R)-4-(2-аміно-3-гідроксипропіл)фенол (сполука 28); (R)-3-амінобутан-1-ол (сполука 31); і (R)-3-амінопентан-1-ол (сполука 32).

У таблиці 1 представлені структури синтезованих сполук, спосіб одержання сполук і результати мас-спектрометрії для цих сполук.

Стадія 1: хлористоводнева сіль 5,6-діаміно-1-пропіл-1Н-піримідин-2,4-діону

Початковий матеріал, 6-аміно-1-пропіл-1Н-піримідин-2,4-діон, одержують відповідно до відомого з літератури способу [J. Med. Chem. 1989, p.1231]. Цей матеріал (8,5г, 50ммоль) розчиняють в 250мл водної оцтової кислоти, і потім охолоджують в бані з льодом. Нітрит натрію (4,14г, 1,2екв.) додають у вигляді розчину в 10мл води протягом приблизно 15 хвилин. Приблизно через 10 хвилин з реакційної суміші починає осаджуватися ясно-червона тверда речовина. Тверду частину збирають фільтруванням і сушать у вакуумі протягом ночі, одержуючи 8,0г проміжної нітрозосполуки.

Проміжну нітрозосполуку (6,0 г, 30ммоль) суспендують в 100мл води і нагрівають до 80-85°C. Дитоніт натрію (15,8г, 3,0екв.) додають досить швидко протягом близько 5 хвилин. Приблизно через 5 хвилин джерело нагрівання видаляють і ясно-зелену реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури, а потім на бані з льодом. Тверду частину збирають фільтруванням і сушать у вакуумі, одержуючи діаміноурацил. Потім його перетворюють в хлористоводневу сіль, розчиняючи в 10мл H_2O , що містить 1,5екв. HCl, а потім піддають ліофілізації.

Стадія 2: 8-(4-гідроксибіцикло[2.2.2]окт-1-іл)-3-пропіл-3,7-дигідропурин-2,6-діон

Хлористоводневу сіль 5,6-діаміно-1-пропіл-1Н-піримідин-2,4-діону (3,4г) розчиняють в 80мл ДМФ разом з 4-гідроксибіцикло[2.2.2]октан-1-карбоною кислотою (2,5г, 15ммоль). Додають НАТУ (5,9г, 1,05екв.), а потім Et_3N (8,30мл, 4,05екв.). Одержану реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі. Реакційну суміш фільтрують для видалення осаду. Фільтрат концентрують при зниженому тиску. Одержаний залишок розчиняють в 60мл H_2O , що містить

10екв. NaOH (5,9г). Реакційну суміш перемішують при кипінні із зворотним холодильником протягом 1 години, охолоджують до кімнатної температури і підкисляють до pH2 концентрованою HCl. Одержаний осад збирають фільтруванням і сушать, одержуючи 1,85г похідного ксантину.

Стадія 3: 8-(4-гідроксибіцикло[2.2.2]окт-1-іл)-3-пропіл-6-тіооксо-1,3,6,7-тетрагідропурин-2-он

8-(4-гідроксибіцикло[2.2.2]окт-1-іл)-3-пропіл-3,7-дигідропурин-2,6-діон (500мг, 1,57ммоль) розчиняють в 10мл піридину. Додають P_4S_{10} (1,05г, 1,5екв.) і реакційну суміш перемішують при кипінні із зворотним холодильником протягом 6 годин. Потім реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури і повільно гасять 5мл H_2O . Потім суміш підкисляють при $0^\circ C$ до pH5, використовуючи 6н. HCl. Водний шар екстрагують EtOAc. Об'єднаний органічний шар сушать (Na_2SO_4) і концентрують при зниженому тиску. Внаслідок очищення за допомогою препаративної ВЕРХ одержують 100мг вказаної в заголовку сполуки.

Стадія 4: 8-(4-гідроксибіцикло[2.2.2]окт-1-іл)-6-метилсульфаніл-3-пропіл-3,7-дигідропурин-2-он

8-(4-гідроксибіцикло[2.2.2]окт-1-іл)-3-пропіл-6-тіооксо-1,3,6,7-тетрагідропурин-2-он (120мг, 0,36ммоль) суспендують в 3мл H_2O і 1,5мл EtOH. Додають NaOH у вигляді розчину в 0,4мл H_2O , а потім MeI. Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 1 години. Потім суміш нейтралізують 0,1н. HCl і екстрагують $CHCl_3$. Об'єднані органічні шари сушать (Na_2SO_4) і концентрують при зниженому тиску, одержуючи практично кількісний вихід вказаної в заголовку сполуки.

Стадія 5: 8-(4-гідроксибіцикло[2.2.2]окт-1-іл)-6-(1-гідроксиметилпропіламіно)-3-пропіл-3,7-дигідропурин-2-он

8-(4-гідроксибіцикло[2.2.2]окт-1-іл)-6-метилсульфаніл-3-пропіл-3,7-дигідропурин-2-он (125мг, 0,36ммоль) розчиняють в 3мл ДМСО разом з надлишком відповідного аміноспирту (наприклад, (R)-(-)-2-аміно-1-бутанолу (0,24мл, 7екв.) для сполуки 2). Одержану реакційну суміш перемішують при $150^\circ C$ протягом 3 годин. Потім її охолоджують до кімнатної температури і внаслідок очищення за допомогою препаративної ВЕРХ одержують 110мг вказаної в заголовку сполуки.

Стадія 6: 7-етил-2-(4-гідроксибіцикло[2.2.2]окт-1-іл)-4-пропіл-1,4,6,7-тетрагідро-1,3,4,5а, 8-пентааза-аз-індацен-5-он (сполука 2)

8-(4-гідроксибіцикло[2.2.2]окт-1-іл)-6-(1-гідроксиметилпропіламіно)-3-пропіл-3,7-дигідропурин-2-он (110мг) розчиняють в 3мл $SOCl_2$ і перемішують при кипінні із зворотним холодильником протягом 20 хвилин. Потім охолоджують до кімнатної температури і концентрують. Залишок гасять насиченим водним $NaHCO_3$ і екстрагують $CHCl_3$. Об'єднані органічні шари сушать (Na_2SO_4) і концентрують при зниженому тиску. Внаслідок очищення за допомогою ВЕРХ одержують 50 мг вказаної в заголовку сполуки у вигляді солі трифтороцтової кислоти.

ПРИКЛАД 2

Сполуки 3, 5 і 7 одержують у відповідності до наступного способу, використовуючи відповідний аміноспирт на стадії 8. Для одержання сполук використовують наступні аміноспирти: (R)-2-аміно-1-

бутанол (сполука 3); (R)-2-аміно-3-метил-1-бутанол (сполука 5); і (R)-2-аміно-1-пропанол (сполука 7).

У таблиці 1 представлені структури синтезованих сполук, способи їх одержання і результати мас-спектрометричних досліджень цих сполук.

Стадія 1: 4-(2,6-діоксо-3-пропіл-2,3,6,7-тетрагідро-1H-пурин-8-іл)біцикло [2.2.2]октан-1-карбонова кислота

Хлористоводневу сіль 5,6-діаміно-1-пропіл-1H-піримідин-2,4-діону (570мг) розчиняють в 20мл ДМФ разом з монометилловим складним ефіром біцикло[2.2.2]октан-1,4-дикарбонової кислоти (520мг, 2,45ммоль). Додають NATU (980мг, 1,05екв.), а потім Et_3N (1,40мл, 4,05екв.). Одержану реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі. На наступний ранок реакційну суміш фільтрують для видалення осаду. Фільтрат концентрують при зниженому тиску. Одержаний залишок розчиняють в 10мл H_2O , що містить 10екв. NaOH (980мг). Реакційну суміш перемішують при кипінні із зворотним холодильником протягом 2 годин. Потім її охолоджують до кімнатної температури і підкисляють до pH2 концентрованою HCl. Одержаний осад збирають фільтруванням і сушать, одержуючи 680 мг похідного кислоти.

Стадія 2: 8-(4-гідроксиметилбіцикло[2.2.2]окт-1-іл)-3-пропіл-3,7-дигідропурин-2,6-діон

4-(2,6-діоксо-3-пропіл-2,3,6,7-тетрагідро-1H-пурин-8-іл)біцикло[2.2.2]октан-1-карбонову кислоту (3,2г, 9,25ммоль) розчиняють в 100мл безводного ТГФ і охолоджують до $0^\circ C$. Додають боран-ТГФ (1,0М в ТГФ, 18,5мл, 2екв.) і реакційну суміш перемішують при $0^\circ C$ протягом 10 хвилин, потім нагрівають до кімнатної температури і перемішують протягом 48 годин. Потім реакційну суміш обережно гасять 10мл MeOH, а потім концентрують при зниженому тиску. Одержаний залишок розчиняють в 20мл MeOH і концентрують при зниженому тиску. Таку обробку повторюють ще 4 рази, одержуючи потрібний спирт.

Стадія 3: 4-(2,6-діоксо-3-пропіл-2,3,6,7-тетрагідро-1H-пурин-8-іл)біцикло[2.2.2]октан-1-карбальдегід

8-(4-гідроксиметилбіцикло[2.2.2]окт-1-іл)-3-пропіл-3,7-дигідропурин-2,6-діон (2,70г, 8,13ммоль) розчиняють в 40мл ДМСО. Додають суміш піридин- SO_3 (3,88г, 3екв.), а потім Et_3N (7,4мл, 7екв.) при кімнатній температурі. Одержану реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 18 годин. Потім її розбавляють EtOAc і промивають 5% водною лимонною кислотою, H_2O , сольовим розчином, сушать над сульфатом натрію і концентрують при зниженому тиску, одержуючи 900мг потрібного альдегіду.

Стадія 4: метиловий складний ефір 3-[4-(2,6-діоксо-3-пропіл-2,3,6,7-тетрагідро-1H-пурин-8-іл)біцикло[2.2.2]окт-1-іл]акрилової кислоти

4-(2,6-діоксо-3-пропіл-2,3,6,7-тетрагідро-1H-пурин-8-іл)біцикло[2.2.2]октан-1-карбальдегід (900мг, 2,73ммоль) розчиняють в 25мл ТГФ, і додають метил(трифенілфосфоранілден)ацетат (1,83г, 2екв.). Одержану реакційну суміш перемішують при кипінні із зворотним холодильником протягом 18 годин. Потім її охолоджують до кімнатної температури і підкисляють до pH2 концентрованою HCl. Одержаний осад збирають фільтруванням і сушать, одержуючи 680 мг похідного кислоти.

тної температури і очищають з допомогою препаративної ВЕРХ, використовуючи суміш водного ацетонітрилу, одержуючи 300мг потрібного продукту.

Стадія 5: метиловий складний ефір 3-[4-(2,6-діоксо-3-пропіл-2,3,6,7-тетрагідро-1Н-пурин-8-іл)біцикло[2.2.2]окт-1-іл]пропіонової кислоти

Метиловий складний ефір 3-[4-(2,6-діоксо-3-пропіл-2,3,6,7-тетрагідро-1Н-пурин-8-іл)біцикло[2.2.2]окт-1-іл]акрилової кислоти (300мг) розчиняють в 20мл ТГФ. Додають 10% Pd-на-C (25мг) і одержану реакційну суміш гідрують при тиску 50 пси H_2 при кімнатній температурі протягом 6 годин. Реакційну суміш фільтрують через целіт і фільтрат концентрують при зниженому тиску, одержуючи 280мг потрібного продукту.

Стадія 6: метиловий складний ефір 3-[4-(2-оксо-3-пропіл-6-тіооксо-2,3,6,7-тетрагідро-1Н-пурин-8-іл)біцикло[2.2.2]окт-1-іл]пропіонової кислоти

Метиловий складний ефір 3-[4-(2,6-діоксо-3-пропіл-2,3,6,7-тетрагідро-1Н-пурин-8-іл)біцикло[2.2.2]окт-1-іл]пропіонової кислоти (250мг, 0,64ммоль) розчиняють в 8мл піридину. Додають P_4S_{10} (430мг, 1,5екв.) і реакційну суміш перемішують при кипінні із зворотним холодильником протягом 3 годин. Потім її охолоджують до кімнатної температури і гасять 3мл H_2O , а потім додають достатню кількість 6н. HCl, щоб довести величину pH до 3. Одержану реакційну суміш екстрагують $CHCl_3$. Органічний шар сушать (Na_2SO_4) і концентрують при зниженому тиску. Сирий залишок очищають за допомогою препаративної ВЕРХ, одержуючи 100мг потрібного продукту.

Стадія 7: метиловий складний ефір 3-[4-(6-метилсульфаніл-2-оксо-3-пропіл-3,7-дигідро-2Н-пурин-8-іл)біцикло[2.2.2]окт-1-іл]пропіонової кислоти

Метиловий складний ефір 3-[4-(2-оксо-3-пропіл-6-тіооксо-2,3,6,7-тетрагідро-1Н-пурин-8-іл)біцикло[2.2.2]окт-1-іл]пропіонової кислоти (100мг) розчиняють в 2мл EtOH і 1мл H_2O . NaOH (20мг) додають у вигляді розчину в 1мл H_2O , а потім додають MeI (23мкл, 1,5екв.). Одержану реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Потім її екстрагують EtOAc. Органічний шар сушать (Na_2SO_4) і концентрують при зниженому тиску, одержуючи 105мг вказаної в заголовку сполуки.

Стадія 8: метиловий складний ефір 3-[4-[6-(1-гідроксиметилпропіламіно)-2-оксо-3-пропіл-3,7-дигідро-2Н-пурин-8-іл]біцикло[2.2.2]окт-1-іл]пропіонової кислоти

Метиловий складний ефір 3-[4-(6-метилсульфаніл-2-оксо-3-пропіл-3,7-дигідро-2Н-пурин-8-іл)біцикло[2.2.2]окт-1-іл]пропіонової кислоти (105мг) розчиняють в 2мл ДМСО разом з відповідним аміноспиртом (наприклад, 160мкл (R)-2-аміно-1-бутанолу для сполуки 3). Реакційну суміш перемішують при 150°C протягом 3 годин. Потім її охолоджують до кімнатної температури і внаслідок очищення за допомогою препаративної ВЕРХ одержують 50 мг вказаної в заголовку сполуки.

Стадія 9: 3-[4-(7-етил-5-оксо-4-пропіл-4,5,6,7-тетрагідро-1Н-1,3,4,5а, 8-пентааза-аз-індацен-2-іл)біцикло[2.2.2]окт-1-іл]пропіонова кислота (спо-

лука 3)

Метиловий складний ефір 3-[4-[6-(1-гідроксиметилпропіламіно)-2-оксо-3-пропіл-3,7-дигідро-2Н-пурин-8-іл]біцикло[2.2.2]окт-1-іл]пропіонової кислоти (30мг) розчиняють в 1мл $SOCl_2$ і перемішують при кипінні із зворотним холодильником протягом 15 хвилин. Потім реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури і концентрують при зниженому тиску. Одержаний залишок розчиняють в розчині, що містить 1мл води, 0,5мл MeOH і 0,1мл 10% водної NaOH. Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Потім її підкисляють до pH 2 розбавленою 1н. HCl і концентрують. Одержаний сирий продукт очищають з допомогою препаративної ВЕРХ, одержуючи вказану в заголовку сполуку.

ПРИКЛАД 3

Сполуки 6, 10, 22, 23, 25, 26, 29 і 30 одержують у відповідності до наступного способу, використовуючи відповідний аміноспирт на стадії 3. Для одержання сполук були використані наступні аміноспирти: 2-аміноетанол (сполука 6); (R)-2-аміно-1-бутанол (сполука 10); (R)-2-аміно-1-пропанол (сполука 22); (R)-2-аміно-1-пентанол (сполука 23); (R)-ізолейцинол (сполука 25); (3)-2-аміно-1-бутанол (сполука 26); 3-амінопропанол (сполука 29) і 4-амінобутанол (сполука 30). У таблиці 1 представлені структури синтезованих сполук, способи їх одержання і результати мас-спектрометричного дослідження цих сполук.

Стадія 1: метиловий складний ефір 4-(2,6-діоксо-3-пропіл-2,3,6,7-тетрагідро-1Н-пурин-8-іл)біцикло[2.2.2]октан-1-карбонової кислоти

4-(2,6-діоксо-3-пропіл-2,3,6,7-тетрагідро-1Н-пурин-8-іл)біцикло[2.2.2]октан-1-карбонову кислоту одержують відповідно до викладеного вище способу. Цей матеріал (1,4г) суспендують в 50мл MeOH і додають 5 крапель концентрованої сірчаної кислоти. Реакційну суміш перемішують при кипінні із зворотним холодильником протягом 18 годин. Потім її охолоджують до кімнатної температури і концентрують при зниженому тиску. Одержаний залишок розбавляють CH_2Cl_2 і промивають водним $NaHCO_3$, сольовим розчином, сушать (Na_2SO_4) і концентрують, одержуючи 1,2г вказаної в заголовку сполуки.

Стадія 2: метиловий складний ефір 4-(6-метилсульфаніл-2-оксо-3-пропіл-3,7-дигідро-2Н-пурин-8-іл)біцикло[2.2.2]октан-1-карбонової кислоти

Метиловий складний ефір 4-(2,6-діоксо-3-пропіл-2,3,6,7-тетрагідро-1Н-пурин-8-іл)біцикло[2.2.2]октан-1-карбонової кислоти (1,2г, 3,33ммоль) розчиняють в 20мл піридину. Додають P_4S_{10} (2,22г, 1,5екв.) і реакційну суміш перемішують при кипінні із зворотним холодильником протягом 3 годин. Потім її охолоджують до 0°C і обережно гасять водою. Додають достатню кількість 6н. HCl для доведення величини pH до 5 і реакційну суміш екстрагують CH_2Cl_2 . Органічний шар сушать (Na_2SO_4) і концентрують, одержуючи 860мг похідного складного тіоєфіру. Цей матеріал (860мг, 2,29ммоль) розчиняють в 5мл EtOH і 5мл H_2O . Додають NaOH (183мг, 2екв.) у вигляді розчину в 2мл H_2O , а потім MeI (213мкл, 1,5екв.).

Одержану реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Потім її екстрагують EtOAc. Органічний шар сушать (Na_2SO_4) і концентрують при зниженому тиску, одержуючи 800мг вказаної в заголовку сполуки.

Стадія 3: Метилловий складний ефір 4-[6-(2-гідроксietiламіно)-2-оксо-3-пропіл-3,7-дигідро-2Н-пурин-8-іл]біцикло[2.2.2]октан-1-карбонової кислоти

Метилловий складний ефір 4-(6-метилсульфаніл-2-оксо-3-пропіл-3,7-дигідро-2Н-пурин-8-іл)біцикло[2.2.2]октан-1-карбонової кислоти (50мг) розчиняють в 1мл ДМСО разом з відповідним аміноспиртом (наприклад, 7екв. 2-аміноетанолу для сполуки 6). Реакційну суміш перемішують при 150°C протягом 3 годин. Потім її охолоджують до кімнатної температури і очищають за допомогою препаративної ВЕРХ, одержуючи 30мг вказаної в заголовку сполуки.

Стадія 4: 4-(5-оксо-4-пропіл-4,5,6,7-тетрагідро-1Н-1,3,4,5а, 8-пентааза-аз-індацен-2-іл)біцикло[2.2.2]октан-1-карбонова кислота

Метилловий складний ефір 4-[6-(2-гідроксietiламіно)-2-оксо-3-пропіл-3,7-дигідро-2Н-пурин-8-іл]біцикло[2.2.2]октан-1-карбонової кислоти (30мг) розчиняють в 1мл SOCl_2 і перемішують при кипінні із зворотним холодильником протягом 15 хвилин. Потім реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури і концентрують при зниженому тиску. Одержаний залишок розчиняють в розчині, що містить 1мл води, 0,5мл MeOH і 0,1мл 10% водної NaOH. Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Потім її підкисляють до pH2 розбавленою 1н. HCl і концентрують. Одержаний сирий продукт очищають з допомогою препаративної ВЕРХ, одержуючи вказану в заголовку сполуку.

ПРИКЛАД 4

Методика аналізу

Приготовляють різні похідні ксантину, структури яких представлені в таблиці 1. Для деяких з цих сполук величини K_i для рецепторів аденозину A_1 у щурів і у людини визначають у відповідності до наступного протоколу аналізу.

Матеріали

Аденозиндеаміназу і HEPES закупають у Sigma (St. Louis, MO). Культуральне середовище клітин Ham's F-12 і фетальну телячу сироватку закупають у GIBCO Life Technologies (Gaithersburg, MD). Антибіотик G-418, культуральні планшети Falcon 150мм і культуральні планшети Costar на 12 ямок закупають у Fisher (Pittsburgh, PA). $[^3\text{H}]\text{CPX}$ закупають у DuPont-New England Nuclear Research Products (Boston, MA). Суміш антибіотиків пеніцилін/стрептоміцин закупають у Mediatech (Washington, DC) Склад HEPES-буферованого розчину Хенка: 130мМ NaCl, 5,0мМ Cl, 1,5мМ CaCl_2 , 0,41мМ MgSO_4 , 0,49мМ Na_2HPO_4 , 0,44мМ KH_2PO_4 , 5,6мМ декстрази і 5мМ HEPES (pH7,4).

Приготування мембран

Щурячий рецептор A_1 : Мембрани приготування з кори головного мозку, виділеної з щойно умертвлених щурів. Тканини гомогенізують в буфері А (10мМ EDTA, 10мМ Na-HEPES, pH7,4) доповненому інгібіторами протеази (10мг/мл бенза-

мідину, 100мкМ PMSF і по 2мг/мл кожного з апро-тиніну, пепстатину і леупептину) і центрифугують при 20000хg протягом 20 хвилин. Осади знов суспендують і двічі промивають буфером HE (10мМ Na-HEPES, 1мМ EDTA, pH7,4, плюс інгібітори протеази). Кінцеві осадки знов суспендують в буфері HE, доповненому 10% (вага/об'єм) сахарози і інгібіторами протеази, і заморожують у вигляді аліквот при -80°C. Концентрації білка визначають, використовуючи набір для аналізу білка BCA (Pierce).

Людський рецептор A_1 : кДНК людського рецептора аденозину A_1 одержують, використовуючи RT-PCR і субклонують в pcDNA3.1 (Invitrogen). Стабільну трансфекцію клітин CHO-K1 здійснюють, використовуючи LIPOFECTAMINE-PLUS (GIBCO-BRL), відбір колоній здійснюють в 1 мг/мл G418 і скринують, використовуючи аналіз зв'язування радіолігандів. Для мембранних препаратів, CHO-K1 клітини, зростаючі в моношарах в повному середовищі (F12+10% FCS+1мг/мл G418) промивають в PBS і збирають в буфер А, доповнений інгібіторами протеази. Клітини гомогенізують, центрифугують і двічі промивають буфером HE, як указано вище. Кінцеві осадки зберігають у вигляді аліквот при -80°C.

Аналіз зв'язування радіолігандів

Мембрани (50мг білка мембран для щурячих $A_1\text{ARs}$ і 25мг CHO-K1 білка мембран для людських $A_1\text{ARs}$), радіоліганди і різні концентрації конкуруючих лігандів інкубують (по трое) в 0,1мл буферу HE плюс 2ед./мл аденозиндеамінази протягом 2,5 години при 21°C. Радіоліганд $[^3\text{H}]\text{DPCPX}$ (112 Кюрі/ммоль від NEN, кінцеві концентрації: 1нМ) використовують для конкурентного аналізу зв'язування на $A_1\text{ARs}$. Неспецифічне зв'язування визначають в присутності 10мкМ BG9719. Аналіз зв'язування завершують фільтруванням на Whatman GF/C скловолоконних фільтрах, використовуючи збиральник клітин BRANDEL. Фільтри тричі промивають 3-4мл охолодженого льодом 10мМ TRIS-HCl, pH7,4 і 5мМ MgCl_2 при 4°C. Фільтрувальний папір переносять в ампулу і додають 3мл сцинтиляційного коктейлю ScintiVersell (Fisher). Радіоактивність визначають, використовуючи лічильник Wallac β -counter.

Аналіз результатів зв'язування

Для визначення K_i : Результати конкурентного зв'язування задовольняють односайтовій моделі зв'язування і побудовані з використанням Prism GraphPad. Для розрахунку величин K_i із значень IC_{50} використовують рівняння Cheng-Prusoff: $K_i = \text{IC}_{50} / (1 + [I]/K_D)$, де K_i являє собою константу спорідненості для конкуруючого ліганду, $[I]$ являє собою концентрацію вільного радіоліганду, і K_D являє собою константу спорідненості для радіоліганду.

Для % зв'язування: Для одноточкового аналізу зв'язування результати представлені як % від повного специфічного зв'язування при 1мкМ конкуруючої сполуки: % від повного = $100 \times (\text{Специфічне зв'язування з 1мкМ конкуруючої сполуки} / \text{повне специфічне зв'язування})$. % зв'язування являє собою кількість зв'язаного радіоліганду, що залишається в присутності 1мкМ конкуруючого антагоніста.

Результати

Всі тестовані сполуки демонструють величини $A_1 K_i$ для щурів від близько 4 до близько 800нМ. У таблиці 2 представлені величини K_i для рецептора аденозину A_1 для щурів і % зв'язування для сполук.

ПРИКЛАД 5

Альтернативна методика аналізу

Матеріали

(див. приклад 4).

Культура клітин

CHO клітини, стабільно експресуючі рекомбінантні людські A_1 AdoR (CHO: A_1 AdoR клітини) приготують за способом [Kollias-Barker et al., J. Pharma. Exp. Ther. 281(2), 761, 1997] і культивують як для CHO: дикі клітини. CHO клітини культивують як моношари на пластикових планшетах в середовищі Ham's F-12, доповненому 10% фетальною телячою сироваткою, 100од. пеніциліну G і 100мкг стрептоміцину у вологій атмосфері, складу 5% CO_2 /95% повітря при 37°C. Щільність $[^3H]$ CPX сайтів зв'язування в CHO клітинах становить 26 ± 2 (n=4) фмоль/мг білки. Клітини субкультивують двічі на тиждень після відділення, використовуючи 1мМ EDTA в Ca^{2+} - Mg^{2+} -вільний HEPES-буферований розчин Хенка. Для експериментів використовують три різні клони клітин CHO: A_1 AdoR, і всі результати підтверджені клітинами з двох або трьох клонів. Щільність A_1 AdoRs в цих клітинах становила 4000-8000фмоль/мг білка за даними аналізу $[^3H]$ CPX специфічного зв'язування.

Зв'язування радіоліганду

CHO клітини, вирощені на 150мм культуральних планшетах, промивають HEPES-буферованим розчином Хенка, потім видаляють скребачкою для клітин і гомогенізують в охолоджену льодом 50мМ TRis-HCl pH7,4. Клітинні мембрани осаджують центрифугуванням гомогенату клітин при 48000хg протягом 15 хвилин. Осад мембран двічі промивають, повторно суспендуючи в свіжому буфері і центрифугуючи. Кінцевий осад знов суспендують в невеликому об'ємі 50мМ TRis-HCl, pH7,4, і зберігають у вигляді аліквот по 1мл при -80°C до використання для аналізу.

Для визначення щільності A_1 AdoRs в CHO клітинних мембранах, 100мкл аліквот мембран (5мкг білку) інкубують протягом 2 годин при 25°C з 0,15-20нМ $[^3H]$ CPX і аденозиндеаміназою (2од./мл) в 100мкл 50мМ TRis-HCl, pH7,4. Інкубування закінчують, розбавляючи 4мл охолодженого льодом 50мМ TRis-HCl буферу, і негайно збирають мембрани на скловолоконні фільтри (Schleicher and Schuell, Keene, NH) за допомогою вакуумного фільтрування (Brandel, Gaithersburg, MD). Фільтри швидко тричі промивають охолодженим льодом буфером для видалення неспецифічного зв'язування. Диски фільтрів, що містять захоплені мембрани, вміщують в 4мл Scintiverse BD (Fisher) і радіоактивність вимірюють, використовуючи рідинний сцинтиляційний лічильник. Для визначення неспецифічного зв'язування $[^3H]$ CPX мембрани інкубують, як указано вище, і 10мкМ CPT додають до інкубаційного буфера. Неспецифічне зв'язування визначають як $[^3H]$ CPX, пов'язаний в присутності 10мкМ CPT. Специфічне зв'язування радіоліганду з A_1 AdoR визначають, віднімаючи неспецифічне зв'язування з повного зв'язування. Як виявлено, неспецифічне зв'язування посилює лінійність із збільшенням концентрації $[^3H]$ CPX. Для кожної з тестованих концентрацій $[^3H]$ CPX проводився потрібний аналіз.

Для визначення спорідненості антагоністів A_1 AdoRs для людських рекомбінантних A_1 AdoR, експресованих в CHO клітинах, визначають зв'язування 2нМ $[^3H]$ CPX в присутності концентрацій антагоніста, що підвищуються. Аліквоти CHO клітинних мембран (100мкл: 5мг білка), $[^3H]$ CPX, антагоніст (0,1нМ - 100мкМ) і аденозиндеаміназу (2од./мл) інкубують протягом 3 годин при 25°C в 200мкл 50мМ TRis-HCl буферу (pH7,4). Аналіз закінчують, як указано вище.

Інші варіанти

Потрібно розуміти, що даний докладний опис призначений тільки для ілюстрації, але не обмежує об'єм даного винаходу, який визначається об'ємом формули винаходу. Інші аспекти, переваги і модифікації визначаються об'ємом формули винаходу, що наводиться далі.

Таблиця 1

Сполука	Структура	Спосіб одержання	MS (M+1)
1		1	386
2		1	372
3		2	428
4		1	358

Сполука	Структура	Спосіб одержання	MS (M+1)
5		2	442
6		3	372
7		2	414
8		1	400

Сполука	Структура	Спосіб одержання	MS (M+1)
9		1	356
10		3	400
11		1	386
12		1	358
13		1	420
14		1	358
15		1	400
16		1	400
17		1	400
18		1	434
19		1	400
20		1	358

Сполука	Структура	Спосіб одержання	MS (M+1)
21		1	344
22		3	386
23		3	414
24		1	372
25		3	414
26		3	400
27		1	372
28		1	450
29		3	386
30		3	400
31		1	372
32		1	372

Таблиця 2

Сполука №	K _i (нМ)	% зв'язування	Сполука №	K _i (нМ)	% зв'язування
1	4,4	не визначено	17	166,7	не визначено
2	5,75	не визначено	18	708	не визначено
3	8,38	не визначено	19	не визначено	18,1
4	9,92	не визначено	20	не визначено	52,7
5	10,5	1,9	21	не визначено	12,2

6	не визначено	2,6	22	не визначено	24
7	13,7	2,5	23	не визначено	22,8
8	14,1	1	24	не визначено	11
9	26,7	0,1	25	не визначено	46,7
10	40,2	6,2	26	не визначено	41,1
11	43,2	3,7	27	не визначено	16,3
12	51,3	8,6	28	не визначено	36,3
13	68,3	не визначено	29	не визначено	81,8
14	68,5	7,8	30	не визначено	71
15	93	7,7	31	не визначено	40
16	155	не визначено	32	не визначено	61