



УКРАЇНА

(19) UA (11) 84178 (13) C2

(51) МПК (2006)

C07D 413/06 (2006.01)

C07D 401/06 (2006.01)

C07D 213/81 (2006.01)

A61K 31/4412

A61K 31/537

A61K 31/496

A61P 39/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) ЦИКЛОАЛКІЛЬНІ ПОХІДНІ 3-ГІДРОКСИ-4-ПІРИДИНОНІВ

1

2

(21) а200606922

(22) 18.11.2004

(24) 25.09.2008

(86) РСТ/CA2004/001986, 18.11.2004

(31) 529657

(32) 20.11.2003

(33) NZ

(46) 25.09.2008, Бюл.№ 18, 2008 р.

(72) ТАМ ТІМ ФЕТ, СА/СА, СПІНО МАЙКЛ, СА/СА,
ЛІ ВАНРЕН, СА/СА, ВАНГ ІНГШЕНГ, СА/СА, ЗАО
ЯНКІНГ, СА/СА, ША БІРЕНКУМАР ХАСМУКХБ-
ХАП, ІН/СА

(73) АПОТЕКС ІНК.

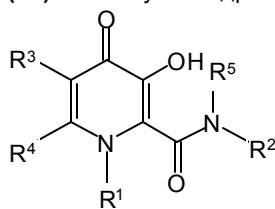
(56) US 6 472 532

US 6 476 229

CA 2 287 907

US 5 688 815

(57) 1. Сполука 3-гідроксипіридин-4-он формули I:



де:

R¹ є X, за умови, що R² є Y;

або

R¹ - це T, за умови, що R² - це W;

або

R¹ є X, за умови, що R²R⁵N, взяті разом,
утворюють гетероциклічне кільце, вибране з
піперидинілу, морфолінілу, піролідінілу або
піперазинілу, де піперидинільна, морфолінільна,
піролідинільна або піперазинільна група є або
незаміщеною, або заміщеною однією з трьох C₁-C₆
алкілів, циклопропілом, циклоалкілом;Y вибраний з групи, що складається з C₃-C₆ циклоалкілу, C₁-C₆ алкілу та C₁-C₆ алкілу, монозаміщеного C₃-C₆ циклоалкілом;T є C₁-C₆ алкілом;W є C₃-C₆ циклоалкілом;R³ вибраний з групи, що складається з водню та C₁-C₆ алкілу;R⁴ вибраний з групи, що складається з водню та C₁-C₆ алкілу;R⁵ вибраний з групи, що складається з водню та C₁-C₆ алкілу;

та/або її фармацевтично прийнятна сіль.

2. Сполука за п. 1, де R¹ - це T, за умови, що R² є W.3. Сполука за п. 2, де T є C₁-C₆ алкілом та W є C₃-C₆ циклоалкілом.4. Сполука за п. 3, де T є метилом, W є циклопропілом, R³ є воднем, R⁴ є метилом і R⁵ є воднем, вказана сполука є циклопропіламідом 3-гідрокси-1,6-диметил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти.5. Сполука за п. 1, де R¹ є X, за умови, що R² є Y.6. Сполука за п. 5, де X є C₃-C₆ циклоалкілом, Y є C₃-C₆ циклоалкілом і R⁵ є воднем.7. Сполука за п. 6, де X є циклопропілом та Y є циклопропілом, R³ є воднем, R⁴ є метилом, вказана сполука є N,1-дициклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамідом.8. Сполука за п. 5, де X є C₃-C₆ циклоалкілом; Y є C₁-C₆ алкілом та R⁵ є воднем або метилом.9. Сполука за п. 8, де X є циклопропілом та Y є метилом, R³ є воднем, R⁴ є метилом і R⁵ є метилом, вказана сполука є 1-циклопропіл-3-гідрокси-N,N,6-триметил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамідом.10. Сполука за п. 8, де X є циклопропілом та Y є метилом, R³ є воднем; R⁴ є метилом, R⁵ є воднем, вказана сполука є метиламідом 1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти.

(13) C2

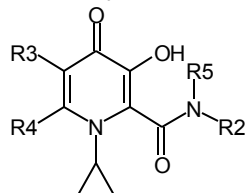
(11) 84178

(19) UA

11. Фармацевтична композиція, що містить метиламід 1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти та фармацевтично придатний носій.

12. Фармацевтична композиція за п. 11, адаптована для орального застосування.

13. Сполука 3-гідроксипіридин-4-он формули IA:



де:

R^2 вибраний з групи, що складається з C_3 - C_6 циклоалкілу; C_1 - C_6 алкілу; C_1 - C_6 алкілу, монозаміщеного C_3 - C_6 циклоалкілом;

R^5 вибраний з групи, що складається з водню та від C_1 до C_6 алкілу;

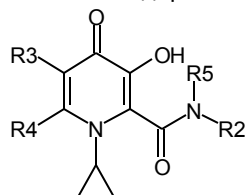
R^2R^5N узяті разом утворюють гетероциклічне кільце, вибране з піперидинілу, морфолінілу, піролідінілу або піперазинілу, де піперидинільна, морфолінільна, піролідінільна або піперазинільна група є або незаміщеною, або заміщеною однією з трьох C_1 - C_6 алкільних груп;

R^3 вибраний з групи, що складається з водню та C_1 - C_6 алкілу;

та

R^4 вибраний з групи, що складається з водню та C_1 - C_6 алкілу.

14. Спосіб одержання сполуки формули IA



де:

R^2 вибраний з групи, що складається з C_3 - C_6 циклоалкілу; C_1 - C_6 алкілу; C_1 - C_6 алкілу, монозаміщеного C_3 - C_6 циклоалкілом;

R^5 вибраний з групи, що складається з водню та C_1 - C_6 алкілу;

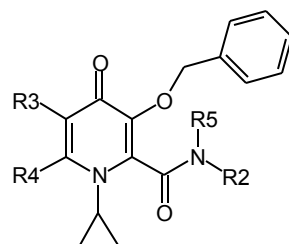
R^2R^5N узяті разом утворюють гетероциклічне кільце, вибране з піперидинілу, морфолінілу, піролідінілу або піперазинілу, де піперидинільна, морфолінільна, піролідінільна або піперазинільна група є або незаміщеною, або заміщеною однією з трьох C_1 - C_6 алкільних груп;

R^3 вибраний з групи, що складається з водню та C_1 - C_6 алкілу;

та

R^4 вибраний з групи, що складається з водню та C_1 - C_6 алкілу,

при якому проводять етап депротектування бензольної групи в реакції гідрогенізації сполуки загальної формули 3-бензілоксипіридин-4-он або її гідрохлориду



де R^2 , R^5 , R^2R^5N , R^3 , R^4 є такими, як визначено в п. 1.

15. Спосіб за п. 14, де реакцію гідрогенізації проводять з паладієм на деревному вугіллі або з гідрохлоридом паладію на деревному вугіллі та з воднем в інертному розчиннику, вибраному з групи, що складається з метанолу, етанолу або ізопропанолу.

16. Фармацевтична композиція, що містить сполуку, вказану в п. 1, та фізіологічно прийнятний носій.

17. Фармацевтична композиція за п. 16, яка адаптована для орального застосування.

18. Застосування сполуки, вказаної в п. 1, для приготування медикаменту для лікування медичних станів, пов'язаних з токсичною концентрацією заліза.

Винахід стосується нових похідних 3-гідрокси-4-піридинону та їх використання в хелатуванні іонів заліза (III). Більш особливо, винахід стосується циклоалкільних похідних 3-гідрокси-4-піридинону.

3-Гідрокси-4-піридинони - це бідентатні ліганди, які є комплексонами до іона Fe (III) в співвідношенні 3:1 і корисні при виведенні надмірного заліза з організму людей. Перевантаження залізом може бути від надмірного дієтичного споживання заліза, успадкованих генетичних умов, як наприклад гемохроматозів, і регулярного переливання крові. Такі переливання використовуються для лікування медичних станів таких, як наприклад, талассемія, анемія серпоподібного еритроциту, ідіопатичні гемохроматози і пластична анемія.

Збільшена внаслідок переливання абсорбція заліза приводить до перевантаження залізом. При насиченні організму феритином та трансферином іони депонуються в багатьох тканинах, таких, як наприклад, міокард, печінка та ендокринні органи, наслідком чого є токсичні ефекти.

Обсяг дослідження комплексонів заліза та запропонована утилізація комплексонів були розглянуті в [Current Medicinal Chemistry (2003, 10, 983-985, Tim F. Tam, et al)]. Комплексони заліза можуть бути корисними для запобігання утворення гідроксирадикалів, для лікування раку, малярії, постішемічної реперфузії та нейродегенеративних захворювань. Комплексони заліза, такі як Desferal™ (мезилат десферіоксаміну) та Ferriprox™ (деферіпрон), використовуються для видалення надміру

заліза з організму більшості пацієнтів, що страждають на таласемію, оскільки людський організм не має ефективних засобів для видалення заліза, закумуляованого внаслідок переливання крові. Дефериоксамін вводиться щодня підшкірним вливанням за період від 8 до 12 годин. На даний час деферипрон (1,2-диметил-3-гідрокси-4-піридинон) є доступним лише у формі ліків для прийому всередину. Він піддається екстенсивному метаболізму в печінці і більше ніж 85 % введеного дозування виводиться разом із сечею як нехелатований О-глюкуронід [Drur Metab. Dispo. 1992, 20 (2), 256-261, S. Sinrh, et al.]. Для лікування станів, пов'язаних з перевантаженням залізом, потрібна відносно висока доза для орального введення - 75мг/кг (3,5-4г на день). Таким чином, є необхідність ідентифікувати нові орально активні гідроксипіридинони з поліпшеними ніж у деферипрону фармакологічними властивостями.

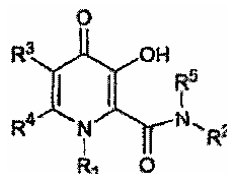
[Voest et. al. (Annals of Internal Medicine 1994, 120, 490-499)] розглянув клінічний досвід комплексонів заліза в умовах не залізного перевантаження. Комплексони заліза використовувалися для створення антиоксидантних ефектів, антипроліферативних ефектів, антипротозойних ефектів та для хелатування алюмінію і можуть використовуватися для лікування різноманітних хворобливих станів, таких як, наприклад, ревматоїдний артрит, для захисту серця від інтоксикації антрацикліном, для обмеження ушкодження міокарду внаслідок ішемічної реперфузії, як протипухлинні агенти та для лікування малярії. Крім того, [van Asbeck B. S. et.al. (J Clin Virol. 2001 Feb; 20 (3): 141-7)] повідомив, що комплексони заліза мають анти-HIV активність. Таким чином утилітарність комплексонів заліза не обмежується тільки лікуванням станів, пов'язаних з перевантаженням залізом.

Представники класу 3-гідрокси-4-піридинонів відомі за їх здатністю до хелатування заліза. Прототипи включають [RE 35948, US 6448273, US 6335353 та US 5480894]. В [US 6335353] ефірні проліки похідних 3-гідрокси-4-піридинонів використовуються для того, щоб полегшити ефективну екстракцію заліза з печінки, проте жодна з відповідних сполук не була оцінена для людей.

В інших підходах, відібрані нові сполуки розроблялися для того, щоб блокувати фазу II метаболізму О-глюкуронідації при С3 кисні скелету деферипрону. [US 5688815] розкриває 1-алкіл-3-гідрокси-4-піридинони з С2 метильною групою, заміщеною фенільним або гетероїльним кільцем та гідроксигрупою, та N1 замісник є нижчим алкілом. В [КАРБОНІЛДІІМІДАЗОЛ 6335353] описаний 1-алкіл-3-гідрокси-4-піридинон з С2 алкілкарбамоїльною, арилкарбамоїльною або арилалкілкарбамоїльною групою та N1-замісник - це аліфатична вуглеводнева група. Використовування С2-метилкарбамоїльної функціональності в сполуках, таких як, наприклад, CP502 (1,6-диметил-3-гідрокси-4(1H)-піридинон-2-карбокси-(N-метил)-аміду гідрохлорид; [US 6335353]) ефективно блокувало О-глюкуронідацію при С3-кисні. Інші аналоги в [US 6335353] включають CP506 (1,6-диметил-3-гідрокси-4(1H)-піридинон-2-карбокси-(N-ізопропіл)-аміду гідрохлорид), аналог С2-ізопропілкарбамоїлу та CP508 (1,6-диметил-3-

гідрокси-4(1H)-піридинон-2-карбокси-(N,N-диметил)-аміду гідрохлорид), аналог диметилкарбамоїлу. CP502, CP506 і CP508 - це прототипи і вони не були оцінені для людей.

Перший аспект даного винаходу забезпечує 3-гідроксипіридин-4-он сполуку формули I, включаючи фармацевтично прийнятну сіль сполуки формули I,



де:

R¹ є X за умови, що R² є Y;

або

R¹ - це T за умови, що R² - це W;

або

R¹ є X за умови, що R²R⁵N взяті разом, утворюють гетероциклічне кільце, вибране з піперидинілу, морфолінілу, піролідинілу або піперазинілу, де піперидинільна, морфолінільна, піролідинільна або піперазинільна група є або незаміщеною, або заміщеною однією з трьох C₁-C₆ алкільних груп;

X є C₃-C₆ циклоалкілом;

Y вибраний з групи, що складається з C₃-C₆ циклоалкілу, з від C₁ до C₆ алкілу та з від C₁ до C₆ алкілу, монозаміщеного C₃-C₆ циклоалкілом;

T є від C₁ до C₆ алкілом;

W є C₃-C₆ циклоалкілом;

R³ вибраний з групи, що складається з водню та C₁-C₆ алкілу;

R⁴ вибраний з групи, що складається з водню та C₁-C₆ алкілу

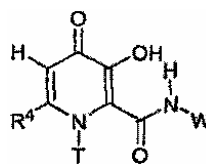
та

R⁵ вибраний з групи, що складається з водню C₁-C₆ алкілу.

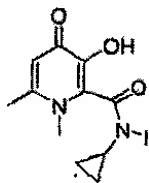
Другий аспект даного винаходу забезпечує застосування сполуки формули I для лікування захворювань, пов'язаних з перевантаженням залізом.

Третій аспект винаходу забезпечує фармацевтичну композицію, що містить сполуку формули I.

Одним класом сполук цього винаходу, якому віддається перевага, є сполука формули I, в якій R¹ є X за умови, що R² є Y. X є C₃-C₆ циклоалкілом; Y є від C₁ до C₆ алкілом; R³ є воднем; R⁴ є C₃-C₆ алкілом та R⁵ є воднем.

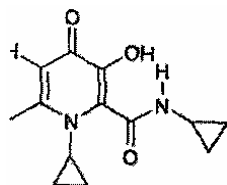


Сполукою цього підкласу, якій віддається ще більша перевага, є сполука формули I, в якій R⁴ є метилом, X є циклопропілом та Y є метилом і сполука є метиламідом 1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти.

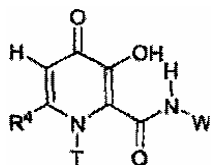


Другим класом сполук цього винаходу, якому віддається перевага, є сполука формули I, в якій R^1 є X за умови, що R^2 - це Y, X є C_3 - C_6 циклоалкілом, Y є C_3 - C_6 циклоалкілом, R^3 - це водень, R^4 є C_1 - C_6 алкілом та R^5 є воднем.

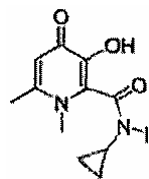
В цьому підкласі сполукою, якій віддається перевага, є сполука, в якій R^4 є метилом, X=Y=циклопропілу та сполука є циклопропіламідом 1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти.



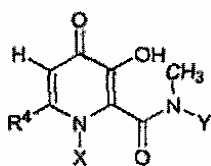
Третім класом сполук формули I, якому віддається перевага, є сполука, в якій R^1 - це T за умови, що R^2 є W; T є від C_1 до C_6 алкілом; W є C_3 - C_6 циклоалкілом, R^3 є воднем, R^4 є C_1 - C_6 алкілом та R^5 є воднем.



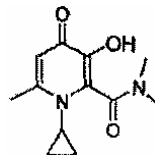
Сполукою цього підкласу, якій віддається більша перевага, є сполука, в якій R^4 є метилом, T є метилом та W - це циклопропіл, сполука - це циклопропіламід 3-гідрокси-1,6-диметил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти.



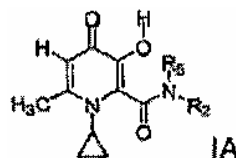
Четвертим класом сполук цього винаходу, якому віддається перевага, є сполука формули I, в якій R^1 є X за умови, що R^2 - це Y, X є C_3 - C_6 циклоалкілом; Y є від C_1 до C_6 алкілом; R^3 є воднем; R^4 є C_1 - C_6 алкілом та R^5 є метилом.



Сполукою цього підкласу, якій віддається найбільша перевага, є сполука формули I, в якій R є метилом, X - це циклопропіл та Y - це метил, і сполука - це 1-циклопропіл-3-гідрокси-N,N,6-триметил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамід.



Сполукою цього винаходу, якій віддається найбільша перевага, є сполука IA, сполука формули I, в якій R^3 =H, R^4 =метилу, за умови, що R^1 =X=циклопропілу, R^2 =Y та Y вибраний з групи, що складається з C_3 - C_6 циклоалкілу; з від C_1 до C_6 алкілу; з від C_1 до C_6 алкілу, монозаміщеного C_3 - C_6 циклоалкілом; або R^1 =X=циклопропілу, R^2 R⁵N узяті разом утворюють гетероциклічне кільце, вибране з піперидинілу, морфолінілу, піролідинілу або піперазинілу, де піперидинільна, морфолінільна, піролідинільна або піперазинільна група є або не заміщеною, або заміщеною однією з трьох C_1 - C_6 алкільних груп.



В аспекті вищесказаного даний винахід забезпечує циклоалкільні похідні 3-гідрокси-4-піридинону, що мають поліпшені властивості в порівнянні зі сполуками, розглянутими в попередньому рівні техніки. Циклоалкільна група приєднана до N1 та/або C2 амідного N атома. До цього опису, сполуки з N1-циклоалкільним замісником або C2 амідно-N-циклоалкільним замісником були невідомі з літератури. Ці сполуки не є проліками, але мають дуже хорошу селективність щодо іона металу. Вони не демонструють комплексоутворення з основними металами, такими як, наприклад, кальцій та магній, при pH 7,4 в хімічних дослідженнях. Значення $D_{7,4}$ знаходиться в межах ряду, встановленого для ліків деферипрон, і сполука є активною при прийомі всередину в моделі на пацюках, в організмі яких є надмір заліза. Ці сполуки розроблялися з придатним фенольним C3 OH pK_{as} в межах від 8.3 до 8.8, значення Fe^{3+} вище ніж 20, співвідношення хелатних утворень заліза 1:3, що є очевидним з графіка Джоба, та значення $D_{7,4}>0.1$. Проста кристалічна структура хелату Fe(III) підтверджує, що сполука формули I - це бідентатний ліганд.

Фіг.1 - це схематичне уявлення графіка Джоба для Аро6622(циклопропіламід 1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти), сполука формули I.

Фіг.2 - це схематичне уявлення графіка Джоба для Аро6617 (циклопропіламід 1,6-етан-3-гідрокси-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти), сполука формули I.

Фіг.3 - це схематичне уявлення графіка Джоба для Аро6619 (метиламід 1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти), сполука формули I.

Фіг.4 - це графік видоутворення для Fe^{3+} -Аро6619.

Фіг.5 - це графік видоутворення для Fe^{3+} -Аро6617.

Фіг.6: Ефективність Аро6619 і Аро6617 в стимуляції уринарної екскреції заліза у пацієнтів, в організмі яких є надмір заліза ($n=6$).

Фіг.7: Єдина кристалічна структура Fe (Аро6617) з хелату.

Фіг.8: Єдина кристалічна структура Fe (Аро6619) з хелату.

Фіг.9: Циклічна вольтамперограма системи Fe-Аро6619 при pH 7.4.

Таблиця 1: Хімічні властивості сполуки формули I.

Таблиця 2: Селективність Аро6619 щодо зв'язування металу.

Таблиця 3: Ефективність Аро6619 і Аро6617 в стимуляції фекальної екскреції заліза у пацієнтів, в організмі яких є надмір заліза ($n=6$). Значення виражені як мкг/день/кг.

Таблиця 4: Ефективність Аро6619 і Аро6617 в стимуляції уринарної та фекальної екскреції заліза у пацієнтів, в організмі яких є надмір заліза ($n=6$ /група). Значення виражені як мкг/день/кг. Фекальна екскреція, оцінена за 3 дні після введення хелату, порівняна з базовими значеннями, визначеними за 3 дні до введення хелату. Значення виражені як середнє \pm ISD.

Таблиця 5: Кристалічні дані та уточнення структури для Fe (Аро6617)₃.

Таблиця 6: Довжина зв'язку [Å] та кут [°] для Fe (Аро6617)₃.

Таблиця 7: Кристалічні дані та уточнення структури для Fe (Аро6619)₃.

Таблиця 8. Довжина зв'язку [Å] та кут [°] для Fe (Аро6619)₃.

Як тут використано:

Алкіл означає розгалужений або нерозгалужений насичений вуглеводневий ланцюг, що має, якщо інше не згадується, від одного до шести вуглецевих атомів, включаючи, але не обмежуючись, метил, етил, пропіл, ізопропіл, н-пропіл, бутил, сек-бутил, ізобутіл, н-пентил, гексил.

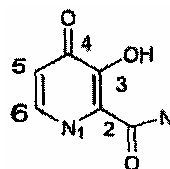
Термін "циклоалкіл", що тільки тут використовується або як частина іншої групи, включає насичені циклічні вуглеводневі групи, які містять одне кільце, включаючи моноциклічний алкіл, що в сумі містить від 3 до 6 вуглеців, утворюючи кільце, що включає циклопропіл, циклобутил, циклопентил і циклогексил.

Фармацевтично прийнятні, нетоксичні солі відносяться до фармацевтично прийнятних солей сполук винаходу, які зберігають біологічну активність сполук-попередників і не є біологічно або іншим чином небажаними (наприклад стійкі солі). Солі двох типів можуть бути утворені зі сполук цього винаходу: (1) Солі неорганічних і органічних основ зі сполуками формули I, які мають фенольну функціональну групу, і (2) Адитивні кислі солі можуть бути утворені з функціональної аміно групи сполук формули I цього винаходу.

Фармацевтично прийнятні солі, отримані з неорганічних основ, являють собою солі натрію, калію, літію, амонію, кальцію та магнію. Особлива перевага віддається солям натрію, кальцію і магнію. Фармацевтично прийнятні, не токсичні солі, отримані з органічних основ, являють собою солі первинних, вторинних і третинних амінів, заміщених амінів, включаючи заміщені аміни природного походження, циклічні аміни та основні іонообмінні смоли. Прикладами таких солей є, наприклад, 2-аміно-2-гідроксиметилпропан-1,3-діол, ізопропіламін, триметамін, глюкозамін, метилглюкамін, пурини, піперазини, піперидин, N-етилпіперидин, поліамінові смоли та подібне.

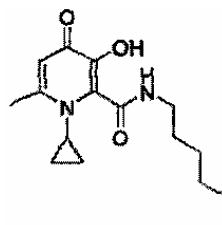
Фармацевтично прийнятні адитивні кислі солі одержують з неорганічних та органічних кислот, таких як, наприклад, галокислоти, сірчана кислота, азотна кислота, фосфорна кислота, метансульфонова кислота та етансульфонова кислота.

Сполуки цього винаходу - це 2-амідо похідні 4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксаміду похідних, що мають загальну структуру:

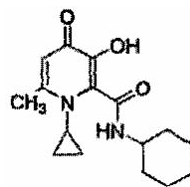


Більшість сполук названі як похідні 4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксаміду, наприклад:

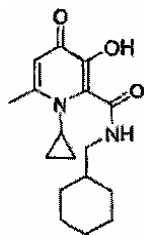
1-циклопропіл-N-гексил-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамід:



N-циклогексил-1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамід:

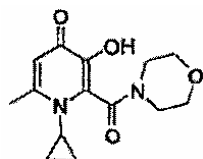


N-(циклогексилметил)-1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамід:

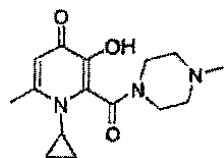


В деяких випадках, сполуки винаходу називають, використовуючи за основу корінь "піридин-4(1H)-он". Прикладами є:

1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-2-(морфолін-4-ілкарбоніл)піридин-4(1H)-он:



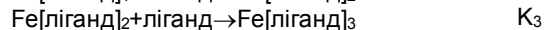
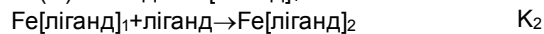
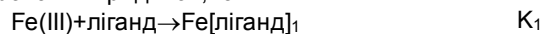
1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-2-[(4-метилпіперазин-1-ілкарбоніл)піридин-4(1H)-он]:



Термін "тварини" відноситься до людей, так само як і до всіх інших тваринних різновидів, особливо ссавців (наприклад, собаки, коти, коні, велика рогата худоба, свині і т.п.), плазунів, риб, комах та птахів.

Сполуки цього винаходу розроблялися для того, щоб поліпшити властивості відомих аналогів деферипрону. Одним критерієм, застосованим в плані логічного обґрунтування оральної активності хелатів з ряду 3-гідрокси-4-піридинонів, є сполуки, що мають значення pFe^{3+} вище, ніж деферипрон ($pFe^{3+}=19.7$). Використовуване тут визначення pFe^{3+} - це концентрація іона заліза в розчині, коли загальна кількість всього заліза складає $10^{-6}M$ та концентрація ліганду складає $10^{-5}M$ і $pH=7.4$. Це обраховано, використовуючи експериментально визначені pK_a та константи комплексування металу за допомогою Hyperquad software (Version 2.1, Peter Fans, University of Leeds). Зниження значення pK_a СЗ фенольного ОН нижче, ніж 8,8 гарантує, що значення pFe^{3+} буде вищим при комбінуванні із сприятливою константою комплексоутворення β_3 . Поняття комплексоутворення детально описано нижче.

Ступінчаті та загальні константи комплексоутворення бідентатного ліганду, такого як 3-гідрокси-4-піридинон, такі:



Константа комплексоутворення $\beta_3 = K_1 \cdot K_2 \cdot K_3$

Комплексон заліза - ліки деферипрон (1,2-диметил-3-гідрокси-4-піридинон) хелатують залізо з константою комплексоутворення ($\log \beta_3$) 36,3 та

pFe^{3+} 19,7. pK_a деферипрону складає 3,56 та 9,64. Більшість сполук цього винаходу мають подібні константи комплексоутворення ($\log \beta_3$) в межах від 34 до 36, $pFe^{3+} > 20$ і придатні значення pK_a фенолу від 8,3 до 8,8. Відповідно, сполуки цього винаходу - це чудові комплекси $Fe(III)$. Теоретично вирахована ефективна проникність $[P_{eff}]$ людської порожньої кишки сполук цього винаходу передбачена обчислювальним програмним забезпеченням із застосуванням QMPRP1™ (від Simulationpl inc.). Більшість сполук цього винаходу має вираховану P_{eff} в межах від $1 \pm 0,3$ ($cm/s \times 10^{-4}$), передбачаючи, що сполуки мають хорошу проникність людської порожньої кишки. Хімічні властивості типових представників сполук формули I наведені в Таблиці 1.

В основному, сполуки формули I з циклоалкільними групами при R^1 та/або R^2 - це комплекси металу із високими значеннями pFe^{3+} . Значення D74 сполук формули I є подібним до деферипрону та подальше вивчення переваження залізом у пацієнтів показало, що сполуки формули I ефективні у видаленні заліза *in vivo*. Деталі вивчення ефективності на тваринах показані в прикладах нижче.

Сполуки формули I не зв'язують основні метали, такі як, наприклад, марганець, кальцій і магній. Значення pM та констант комплексоутворення сполуки формули I показані в Таблиці 2 (та більш детально обговорюються в прикладі 11). Сполука має перевагу щодо зв'язування Fe^{3+} над іншими двовалентними і тривалентними металами, такими як, наприклад, Cu , Zn та Al .

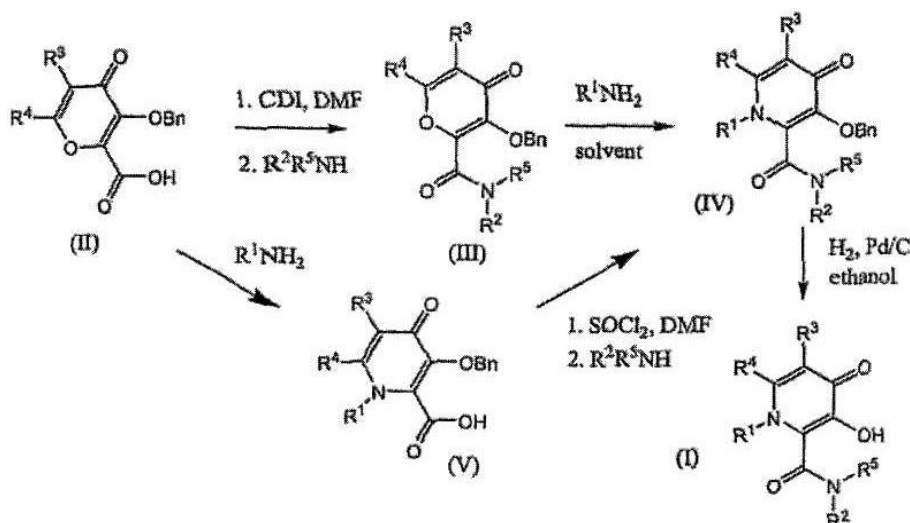
Сполуки формули I - це нові циклоалкільні похідні 3-гідрокси-4-піридинони. Вони мають значення pFe^{3+} вище ніж 20, придатне значення D74 порівнянне з деферипроном, перевагу у напрямку до хелатування Fe та C2-алкілкарбамоїл або C2-циклоалкілкарбамоїл частину, яка розроблена для того, щоб блокувати фазу II метаболізму 3-ОН групи.

На додаток до згаданого вище, сполуки формули I зв'язують Fe^{3+} в співвідношення 1:3 у фізіологічних умовах при pH 7,4. Аналіз графіка Джоба підтверджує пропорцію комплексу до заліза у співвідношенні 1:3 (Фіг.(1-3) та приклад 9).

Графіки видоутворення варіантів Fe -комплексу різних pH s можуть обчислюватися за допомогою використання програмного забезпечення Hyperquad Stimulation and Speciation (HYSS2©2000 Protonic Software) з вхідним експериментальним pK_a s (приклад 10 і 11) та константами комплексоутворення K_1 , K_2 та K_3 (приклад 14). Фігури 4 і 5 ілюструють графік видоутворення сполук формули I при різному pH s. В обох вивченнях, типові представники сполуки формули I виключно утворюють FeL_3 хелати при pH вищим, ніж 7,0 (де L - це бідентатний ліганд), тому не гарантується присутність ніяких різновидів FeL_2^+ або FeL^{2+} при фізіологічному pH . Відсутність цих різновидів гарантує, що там не має доступного *in vivo* заліза при фізіологічному pH 7,4.

Сполуки формули I, в яких R^1 є X за умови, що R^2 - це Y ; або R^1 - це T за умови, що R^2 - це W , приготовані згідно з методом, представленим на Схемі 1.

Схема 1



Кислота (II) реагує з 1,1-карбонілдімідазолом в інертному розчиннику від 2 до 5 годин, переважно 5 годин в інертному розчиннику при температурі між 30 та 70°C. Після додавання R²R⁵NH аміну, сполуку (III) ізолюють загальноприйнятими способами. Розчин (III) та R¹NH₂ амін в інертному розчиннику, такому як, наприклад, спирт, нагрівають до 50-80°C, щоб здійснити вставлявання аміну в (III) за період від 3 до 48 годин з одержанням сполуки (IV). Альтернативний спосіб приготування сполуки (IV) включає реакцію сполуки формули (II) з R¹NH₂ аміном в інертному розчиннику з одержанням кислоти формули (V). Сполука (V) потім реагує з хлоридом тіонілу та диметилформамідом з одержанням сполуки формули (IV). Сполуку ізолюють традиційним способом, наприклад, хроматографією на колонці або кристалізацією. Гідрогенізація сполуки (IV) в спирті над гідрогенізаційним каталізатором дає сполуку (I), яку ізолюють загальноприйнятими способами. Гідрогенізаційний каталізатор, якому надається перевага, - це палладій на вуглі або гідрооксид палладію на вуглі та Raney Ni. Приготування стартового матеріалу - кислоти (II), описане в [US 6426418]. Загальна процедура для приготування кислоти формули (V) може бути знайдена в [CA 2379370].

Сполуки формули I були перевірені на пацієнтах з перенавантаженням залізом. Дані фекальної екскреції заліза та уринарної екскреції для традиційних сполук Аро6617 та Аро6619 показані в Таблицях 3 і 4, та на Фіг.6 відповідно.

Обидві сполуки показали істотну фекальну екскрецію заліза у порівнянні з контролем при дозі для внутрішнього введення від 113 до 450мкмол/кг. Крім того, Аро6619 та Аро6617 покращують уринарну екскрецію заліза істотно вище, ніж деферипрон при 450мкмол/кг. Обидві сполуки вважаються більш сильними, ніж деферипрон в мобілізації заліза у пацієнтів з пере навантаженням залізом.

Був синтезований та ізолюваний хелат заліза сполук формули I (приклад 16). Прості кристалічні

структури Fe(Аро6617)₃ та Fe(Аро6619)₃ остаточно доводять, що ці бідентатні сполуки реагували з Fe(III) з одержанням 1:3 трисбідентатного хелату (Таблиці 5-8, Фіг.7-8).

Інший критерій в плані сполук формули I стосується контролювання окисно-відновлювального потенціалу системи Fe-хелат при pH 7,4 до негативного значення, нижчого ніж -320 мілівольт (vs. NHE) для того, щоб запобігти будь-яким реакціям з різновидами кисню. Залізо існує в багатьох видах, включаючи Fe²⁺ та Fe³⁺. Пара залізо(II)/залізо(III) може діяти, як пара одного електрона відновлюючого агента та окислюючого агента. Згідно з Crumbliss (<http://www.medicine.uiowa.edu/FRRBNirtualSchool/Crambliss-Fe.pdf>) та Pierre (BioMetals, 12,195-199, 1999) селективне хелатування заліза з контролем окисно-відновного потенціалу - це способи захисту заліза від участі в каталітичному циклі продукування токсичних гідроксильних радикалів та/або хімічно активних різновидів кисню (ROS) (наприклад, через реакцію Fenton або цикл Haber Weiss). Система Fe(III) - трисхелат з окисно-відновним потенціалом нижчим, ніж -320 мілівольт (vs. NHE або -540 мілівольт vs. Ag/AgCl) при pH 7,4 не буде знижена ніякими біологічними знижувачами агентами, такими як, наприклад, NADPH/NADH, таким чином вона не братиме участь в циклі Haber Weiss генерування ROS (хімічно активні різновиди кисню). В організмі ссавця залізо зв'язується з різними протеїнами, такими як, наприклад, трансферин в людській крові, це є гарантом того, що залізо залишається у формі, яка не може реагувати з будь-якими кисневими молекулами. Значення E_{1/2}Fe-трансферину - 500 мілівольт (vs. NHE або -720 мілівольт vs. Ag/AgCl).

Окисно-відновний потенціал комплексів заліза може вимірюватися за допомогою циклічної вольтамперометрії (CV). Використовування CV для вимірювання окисно-відновних потенціалів хелатів заліза деферипрону, деферіоксаміну та Аро6619 (типів представників сполуки цього винаходу) як комплексонів відповідно, проілюстровано

в прикладі 17 нижче. Хелати заліза, як наприклад, Fe-десфериоксамін (DFO) та Fe-(деферипрон)₃ мають значення окисно-відновного потенціалу $E_{1/2}$ при -698 мілівольт (vs. Ar/ArCl) та -834 мілівольт (vs. Ar/ArCl) при pH 7,4 відповідно. Сполуки формули I такі як Fe(Apo6619)₃ мають значення $E_{1/2}$ - 691 мілівольт (vs. Ar/ArCl), подібне до десфериоксаміну. Циклічна вольтамперометрія Fe-DFO, Fe(деферипрон)₃ та Fe(Apo6619)₃ може бути знайдена на Фіг.9. Одна з переваг комплексонів цього винаходу - це те, що окисно-відновні потенціали їхніх хелатів заліза лежать в екстремально негативній ділянці при фізіологічному pH 7,4, таким чином їхні хелати заліза не братимуть участь в окисно-відновлювальному циклі генерування хімічно активних різновидів кисню при фізіологічному pH. У поєднанні з іншими новими властивостями, як описано у винаході, сполуки формули I є ефективними агентами для видалення заліза за допомогою механізму комплексоутворення.

Для лікування захворювань, пов'язаних з перевантаженням залізом, таких як таласемія, захворювання серпоподібного еритроциту, гемохроматозів та лікування пацієнтів з токсичною концентрацією заліза, сполуки винаходу можуть вводитися орально, місцево або парентерально в дозованих одиничних формах, що містять традиційні не токсичні фармацевтично прийнятні носії, ад'юванти та розчинники.

Для лікування захворювань, не пов'язаних з перевантаженням залізом, таких як HIV, рак, малярія та для захисту серця від інтоксикації антрацикліном, сполуки цього винаходу можуть також вводитися орально, місцево або парентерально в дозованих одиничних формах, що містять традиційні не токсичні фармацевтично прийнятні носії, ад'юванти та розчинники.

Термін парентерально, що тут застосовується, включає методи підшкірної ін'єкції або вливання. На додачу до лікування теплокровних тварин, таких як миші, пацюки, коні, велика рогата худоба, вівці, собаки, коти і т.п., сполуки винаходу ефективні для лікування людей.

Для застосування у фармацевтичних композиціях можуть бути використані традиційні не токсичні тверді носії, що включають, наприклад, фармацевтично прийнятні манітол, лактозу, крохмаль, стеарат магнію, натрієвий сахарин, тальк, целюлозу, глюкозу, сахарозу, карбонат магнію та подібне. Активна сполука, яку визначено вище, може застосовуватися як рідина. Фармацевтичні композиції для введення можуть, наприклад, бути приготованими розчинюванням, диспергуванням і т.п., активна сполука, яку визначено вище, та традиційні фармацевтичні допоміжні речовини і носії, такі як, наприклад, вода, фізіологічний розчин, водорозчинна глюкоза, гліцерол, етанол та подібне, утворюють розчин або суспензію. За необхідності, фармацевтична композиція для введення може також містити незначну кількість не токсичних допоміжних субстанцій, таких як змочувальні або емульгуючі агенти та подібне, наприклад, ацетат натрію, монолаурат сорбіту, ацетат триетаноламіну, олеат триетаноламіну і т.п. Сучасні методи приготування таких дозованих форм відомі, або будуть відомими для спеціалістів в даній

галузі з цього рівня техніки: наприклад, [див. Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 15th Edition, 1975, ch. 83 p.1436-1460, and ch. 89 p.1576-1607]. Фармацевтична композиція для введення в будь-якому випадку буде містити таку кількість активної сполуки, яка буде ефективною для полегшення симптомів того захворювання, що підлягає лікуванню.

Фармацевтичні композиції, що містять активний інгредієнт, можуть знаходитися у формі, придатній для орального застосування, наприклад, як таблетки, пігулки, водні або маслянисті суспензії, здатні до диспергування порошки або гранули, емульсії, жорсткі та м'які капсули, сиропи або еліксири. Композиції, призначені для орального застосування, можуть бути приготовані згідно з будь-яким відомим з рівня техніки методом приготування фармацевтичних композицій і такі композиції містять один або більше агентів з групи, що складається з підсолоджуючих агентів, смакових агентів, барвників та консервантів для забезпечення фармацевтично привабливих та приємних на смак препаратів. Таблетки містять активний агент в суміші з не токсичними фармацевтично прийнятними ексципієнтами, які є придатними для виробництва таблеток. Ексципієнти можуть бути, наприклад, інертними розріджувачами, такими як фосфат кальцію або фосфат натрію; грануляційними або дезінтегруючими агентами, наприклад, кукурудзяним крохмалем або альгіновою кислотою; зв'язуючими агентами, наприклад, крохмалем, желатиною або гуміарабіком; мастильними агентами, наприклад, стеаратом магнію, стеариновою кислотою або тальком. Для запобігання дезінтегрування та абсорбування в кишково-шлунковому тракті, та для забезпечення таким чином безперервної дії впродовж тривалого часу таблетки можуть покриватися згідно з будь-яким відомим способом. Для пом'якшувального ефекту можуть використовуватися емульсифікатор або зволожувач, моностеарат або гліцерилдистеарат.

Композиції для орального застосування також можуть бути присутні в жорстких желатинових капсулах, в яких активні інгредієнти змішані з інертним твердим розріджувачем, наприклад, фосфатом кальцію або каоліном, або можуть бути присутні в м'яких желатинових капсулах, в яких активний інгредієнт змішаний з водою або маслянистим середовищем, наприклад, арахісовим маслом, рідким парафіном або оливковим маслом.

Водні суспензії можуть містити активні матеріали в суміші з ексципієнтом, придатним для водних суспензій. Такі ексципієнти є суспендуючими агентами, наприклад, карбоксиметилцелюлозою натрію, метилцелюлозою, гідроксипропілметилцелюлозою, альгінатом натрію, полівінілпіролідом, камедю або гуміарабіком; диспергувальні або змочувальні агенти можуть бути фосфатами природного походження, наприклад, лецитином або продуктами конденсації простого циклічного ефіру з жирними кислотами, наприклад, стеаратом поліоксіетилену, або продуктами конденсації етиленоксиду з довголанцюговими аліфатичними спиртами, наприклад, гептадекатиленоксидетанол, або продуктами конденсації етиленоксиду з неповними

складними ефірами жирних кислот та ангідридів гекситу, наприклад, сорбітмоноолеат поліетилену. Водні суспензії можуть також містити один або більше консервантів, наприклад, етил, абон-пропіл, р-гідроксибензол, один або більше барвників, таких як сахароза або сахарин.

Маслянисті суспензії можуть бути утворені за допомогою суспендування активного інгредієнта в рослинній олії, наприклад, рициновій олії, оливкової олії, в маслі сезаму або в кокосовому маслі, або в мінеральному маслі, такому як рідкий парафін. Маслянисті суспензії можуть містити загущуючий агент, наприклад, віск, твердий парафін або цетиловий спирт. Підсолоджуючі агенти, такі як розкриті вище, та ароматизуючі агенти можуть додаватися для забезпечення привабливого на смак орального препарату. Ці композиції можуть бути законсервовані додаванням антиоксидантів, таких як аскорбінова кислота.

Здатні до диспергування порошки і гранули, придатні для приготування водних суспензій шляхом додавання води, забезпечують активний інгредієнт в суміші з диспергуючим та змочуючим агентами, суспендуєчим агентом та одним або більше консервантами. Придатні диспергувальні або змочувальні агенти та суспендувальні агенти уже згадані вище. Додаткові реципієнти, наприклад, підсолоджувачі, ароматизатори та барвники можуть також бути присутніми.

Фармацевтична композиція винаходу може також знаходитися у формі емульсії масло-у-воді. Масляна фаза може бути олією, наприклад, оливковою олією або арахісовим маслом, або мінеральним маслом, наприклад, рідким парафіном, або їхньою сумішшю. Придатні емульгуючі агенти можуть бути фосфатами природного походження, естерами, одержаними з жирних кислот та ангідридів гекситу, наприклад, сорбітмоноолеатом, та продуктами конденсації вказаних неповних ефірів з етиленоксидом, наприклад, сорбітмоноолеатом поліоксетилену. Емульсія може також містити підсолоджувачі та ароматизатори.

Сиропи і еліксири можуть готуватися з підсолоджуючими агентами, наприклад, гліцеролом, пропіленгліколем, орбіталем та сахарозою. Такі композиції можуть також містити заспокійливий засіб, консервант та ароматизатор і барвник. Фармацевтичні композиції можуть готуватися згідно з відомими способами із застосуванням придатних диспергуючих та змочувальних агентів та суспендуєчих агентів, які уже були згадані вище. Стерильні препарати для ін'єкцій можуть також бути стерильними розчинами для ін'єкцій або суспензіями в парентерально прийнятному не токсичному розріджувачі або розчиннику, наприклад, розчином в 1,3-бутандіолі. Серед прийнятних носіїв та розчинників, які можуть використовуватися, є вода, розчини Рінгера та ізотонічний розчин хлориду натрію. Крім того, нелеткі масла традиційно використовуються як розчинники або суспендувальні середовища. Для цієї мети може використовуватися будь-яке м'яке нелетке масло, включаючи синтетичні моно- або дигліцериди. Крім того, жирні кислоти, такі як олеїнова кислота, знайшли застосування в препаратах та в композиціях для ін'єкцій.

Сполуки формули (I) або придатна фармацевтично прийнятна їх сіль та/або фармацевтично прийнятний їх сольват також можуть бути використані як композиція для місцевого застосування в комбінації з традиційними ексципієнтами для місцевого застосування. Прикладами композицій для місцевого застосування є мазі, креми або примочки, просочений перев'язувальний матеріал, гелі, гелеподібний клей, спреї та аерозолі. Композиції можуть містити відповідні традиційні добавки, такі як консерванти, розчинники для сприяння проникнення ліків та агенти для помякшення мазей та кремів. Вони можуть також містити сумісні традиційні носії, такі як основи для кремів або мазей та етанол або олеїновий спирт для примочок. Передбачається, що призначені для місцевого застосування композиції містять достатню для полегшення симптомів захворювання, що підлягає лікуванню, кількість активних агентів. Таким чином, сполука формули I або відповідна фармацевтично прийнятна її сіль буде складати від приблизно 0,5 до 10% ваги композиції. Придатний крем, примочка, гель, клей, мазь, спрей або аерозольні композиції, що можуть бути використані для сполук формули I або для відповідної фармацевтично придатної її солі, є традиційними композиціями, відомими з рівня техніки, наприклад такими, що описані в стандартних посібниках та книжках [Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 15th Edition, 1975, ch. 83 p.1436-1460, and ch. 89 p.1576-1607].

Парентеральне застосування загалом характеризується ін'єкцією - і підшкірною, і внутрішньом'язовою, і внутрішньовенною. Композиції для ін'єкцій можуть бути приготовані у вигляді традиційних форм - або як рідкі розчини, або суспензії в рідині перед ін'єкцією, або як емульсії. Придатними ексципієнтами, наприклад, є вода, фізіологічний розчин, глюкоза, гліцерол, етанол або подібне. Крім того, при необхідності, фармацевтичні композиції для введення можуть також містити незначні кількості не токсичної допоміжної субстанції, такої як змочувальний або емульгуючий агенти, рН буферні агенти і подібне, як наприклад ацетат натрію, сорбітмонолаурат, триетаноламіну олеат і т.п.

Кількість активного інгредієнта, який може об'єднуватися з носіями для приготування одниничної дозованої форми, буде в значній мірі залежати від хазяїна, який підлягатиме лікуванню, та від певного методу введення пацієнту, композиція може містити від 0,5мг до 5мг активного агента, змішаного з придатною кількістю носіїв, яка може змінюватися від близько 5 до близько 95. Одниничні дозовані форми загалом можуть містити від близько 1мг до близько 500мг активного інгредієнта.

Крім того, зрозумілим є те, що для будь-якого окремо взятого пацієнта специфічний рівень дози залежатиме від різноманітних факторів, включаючи активність призначених специфічних сполук, вік, вагу тіла, загальний стан здоров'я, стать, дієту, час введення, комбінацію ліків та складність захворювання, що підлягає лікуванню.

Сполуки даного винаходу відрізняються від тих сполук, що розкриті в Суміші справжнього винаходу відрізняються від тих сумішей, повідомле-

них в [US 6448273, US 6335353, RE 35948 і US 5688815]. Перші три патенти описують 3-гідрокси-4-піридинони, що мають N1 аліфатичну вуглеводневу групу. [US 5,688,815] також описує 3-гідрокси-4-піридинони з N1 заміщеною або незаміщеною нижчою алкільною групою. Згідно зі стандартними посібниками та підручниками з хімії - [Organic Chemistry by James B. Hendrickson, Donald J. Cram, George S. Hammond, third edition, 1970, McGraw Hill, p.72] - аліфатичні вуглеводні складені з ланцюгів вуглецевих атомів, не організованих в кільця. Речовини, що належать до цієї групи, інколи розглядаються як сполуки з незамкненим ланцюгом. Прикладами аліфатичних вуглеводневих груп, є лінійні або розгалужені алкіли, такі як метил, етил, пропіл, ізопропіл, ізобутил, бутіл та трет-бутил. Сполуки цього винаходу складаються з 3-гідрокси-4-піридинонів з: (а) N1-циклоалкільним замісником та C2 алкілкарбамоїльним замісником або (b) N1-циклоалкільним замісником і C2 циклоалкілкарбамоїльним замісником; або (с) N1-алкільним замісником з C2 циклоалкілкарбамоїльним замісником. Вони є сполуками з циклічними вуглеводневими замісниками. В циклічних вуглеводнях вуглецеві ланцюги формують кільця. Прикладами циклічних вуглеводневих груп є циклоалкільні похідні, такі як циклопропіл, циклобутил, циклопентил та циклогексил. Чотири патенти - [US 6448273, US 6335353, RE 35948 і US 5688815] - не розкривають циклоалкільні похідні 3-гідрокси-4-піридинонів. Винахід розкриває 3-гідрокси-4-піридинони з N1-циклоалкільною групою з алкілкарбамоїльною групою при C2 або циклоалкілкарбамоїльною групою при C2. Він також розкриває 3-гідрокси-4-піридинони з циклоалкілкарбамоїльною групою при C2 з N1-алкільною групою.

Винахід, крім того, описується і ілюструється в наступних конкретних прикладах.

Частковий опис втілень винаходу, яким надається найбільша перевага

Приклад 1: Приготування 3-Бензилокси-6-метил-4-оксо-4Н-піран-2-карбонової кислоти циклогексаламіду.

1,1'-карбонілдіімідазол (1,99г, 12,30ммол) був доданий до розчину 3-(бензилокси)-6-метил-4-оксо-4Н-піран-2-карбонової кислоти (2,0г, 7,69ммол) в диметилформаміді (DMF, 18мл) при кімнатній температурі. Утворений розчин нагрівали до 40-50°C протягом 3 годин. Спостерігався світло-жовтий розчин. Потім був доданий циклогексаламін (1,23мл, 10,76ммол). Одержану суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. DMF видаляли при зниженому тиску до одержання світло-жовтої маслянистої речовини як неочищеного продукту, який очищували за допомогою хроматографії на колонці (градієнт елювання: від 1:1 етилацетат/гексану до 10% метанолу в етилацетаті), результатом чого було одержання зазначеної сполуки (1,60г, вихід 61 %) у вигляді білої твердої речовини.

М. р. 118-120 C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 0.91 (m, 2H, циклогексил-H), 1.29 (m, 2H, циклогексил-H), 1.58 (m, 3H, циклогексил-H), 1.79 (m, 2H, циклогексил-H), 2.37 (s, 3H, CH_3), 3.79 (m, 1 H, CH), 5.40 (s, 2H, CH_2), 6.28 (s, 1 H, CH), 7.41 (m, 5H, ArH), 7.67 (br, 1 H, NH); MS (m/z) 342(M^+ +1).

В подібний спосіб, який описано вище, шляхом заміни циклогексаламіну іншим аміном, були приготувані наступні сполуки: 3-Бензилокси-6-метил-4-оксо-4Н-піран-2-карбонової кислоти циклопропіламід.

М. р. 79-80 C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 0.21 (m, 2H, циклопропіл-H), 0.70 (m, 2H, циклопропіл-H), 2.35 (s, 3H, CH_3), 2.71 (m, 1H, CH), 5.35 (s, 2H, CH_2), 6.27 (s, 1H, CH), 7.39 (m, 5H, ArH), 7.70 (s, 1H, NH); $^{13}\text{C}(\text{CDCl}_3)$ δ 6.35, 7.21, 19.87, 22.61, 22.70, 75.56, 115.37, 128.94 (2C), 129.17 (2C), 129.25, 135.49, 146.14, 146.39, 160.22, 165.74, 176.17; MS (m/z) 300 (M^+ +1).

3-бензилокси-6-метил-4-оксо-4Н-піран-2-карбонової кислоти метиламід.

М. р. 137-140 C, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 2.38 (s, 3H, CH_3), 2.78 (d, 3H, NCH_3), 5.39 (s, 2H, CH_2), 6.30 (s, 1H, CH), 7.40 (m, 5H, ArH), 7.62 (br, 1H, NH); MS (m/z) 300(M^+ +1).

Приклад 2: Приготування 3-бензилокси-1,6-диметил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти циклогексаламід

До розчину 3-бензилокси-6-метил-4-оксо-4Н-піран-2-карбонової кислоти циклогексаламіду (1,40г, 4,1ммол) в 5мл метанолу був доданий розчин метиламіну (9мл 2М розчину в метанол, 16ммол). Одержаний розчин перемішували при від 70 до 75°C протягом ночі під тиском в запаяній пробірці. Розчинник видаляли при зниженому тиску до одержання світло-жовтої твердої речовини як неочищеного продукту. Речовину очищували за допомогою хроматографії на колонці (градієнт елювання: 100% етилацетату до 25% метанолу в етилацетаті), результатом чого було одержання зазначеної сполуки у вигляді твердої білої речовини (1,20г, вихід 83,0%).

258-260 C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 1.26-1.45 (m, 6H, циклогексил-H), 1.79 (m, 2H, циклогексил-H), 1.95 (m, 2H, циклогексил-H), 2.41 (s, 3H, CH_3), 3.82 (s, 3H, NCH_3), 3.95 (m, 1H, CH), 5.13 (s, 2H, CH_2), 7.19 (s, 1H, CH), 7.36 (m, 3H, ArH), 7.43 (m, 2H, ArH), 8.50 (br, 1 H, NH); MS (m/z) 355 (M^+ +1).

В подібний спосіб, замінюючи 3-бензилокси-6-метил-4-оксо-4Н-піран-2-карбонової кислоти циклогексаламід іншими амідними похідними 3-бензилокси-6-метил-4-амід-оксо-4Н-піран-2-карбонової кислоти були приготувані наступні сполуки:

3-бензилокси-1,6-диметил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти циклопропіламід.

М. р. 187-189 C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 0.52 (m, 2H, циклопропіл-H), 0.74 (m, 2H, циклопропіл-H), 2.18 (s, 3H, CH_3), 2.78 (m, 1H, CH), 3.50 (s, 3H, NCH_3), 5.08 (s, 2H, CH_2), 6.12 (s, 1H, CH), 7.33 (m, 3H, ArH), 7.39 (t, 2H, ArH), 7.91 (br, 1H, NH); MS (m/z) 313(M^+ +1).

3-бензилокси-1-циклопропіл-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти метиламід.

М. р. 132-135 C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 1.05 (ш, 4H, циклопропіл-H), 2.38 (s, 3H, CH_3), 2.70 (d, J=1.8Hz, 3H, NCH_3), 3.35 (m, 1 H, CH), 5.07 (s, 2H, CH_2), 6.14 (s, 1H, CH), 7.15 (br, 1H), 7.35 (m, 5H, ArH); ^{13}C (CDCl_3) δ 9.48, 20.30, 25.86, 34.15, 74.01,

118.16, 127.79, 128.06 (2C), 128.22 (2C), 137.35, 142.05, 143.98, 149.91, 162.01, 173.89 ; MS (m/z) 313 ($M^+ + 1$).

3-бензилокси-1-циклопропіл-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти циклопропіламід.

М. р. 164-167 °C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 0.54 (m, 2H, циклопропіл-Н), 0.76 (m, 2H, циклопропіл-Н), 1.08-1.11 (m, 4H, циклопропіл-Н), 2.35 (s, 3H, CH_3), 2.75 (m, 1H, CH), 3.37 (m, 1H, CH), 5.05 (s, 2H, CH_2), 6.13 (s, 1H, CH), 7.33 (m, 5H, ArH), 7.89 (br, s, 1H, NH); MS (m/z) 339 ($M^+ + 1$).

Приклад 3: 3-Гідрокси-1,6-диметил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти циклогексиламід [Аро6621]

$\text{Pd}(\text{OH})_2$ на деревному вугіллі (0,18г, 10% сухої основи) був доданий до розчину 3-бензилокси-1,6-диметил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти циклогексиламіду (1,0г, 2,82ммол) в етанолі (50мл) в атмосфері азоту. Суміш гідрогенізували при 50psi протягом 4 годин. $\text{Pd}(\text{OH})_2$ був вилучений фільтруванням через шар целіту, осад на целітовому шарі був промитий етанолом (3x10мл). Фільтрат етанолу був випарований з одержанням не зовсім білої твердої речовини (0,57г, вихід 77 %). Подальше очищення рекристалізацією з метанолу (15мл) мало результатом зазначену сполуку у вигляді білої твердої речовини (0,18г).

М. р. 280-285 °C (dec); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 1.30-1.43 (m, 5H, циклогексил-Н), 1.70 (m, 1H, циклогексил-Н), 1.80 (m, 2H, циклогексил-Н), 2.00 (m, 2H, циклогексил-Н), 2.41 (s, 3H, CH_3), 3.63 (s, 3H, CH_3), 3.90 (m, 1H, CH), 6.38 (s, 1H, CH); MS (m/z) 265 ($M^+ + 1$).

В подібний спосіб, замінюючи 3-бензилокси-1,6-диметил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти циклогексиламід іншими амідами 3-бензилокси-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти циклоалкілу, були приготувані наступні сполуки:

3-гідрокси-1,6-диметил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти циклопропіламід [Аро6617].

М. р. 260-262 °C; $^1\text{H-NMR}$ (MeOD-d_4 , 400MHz) δ 0.66 (m, 2H, циклопропіл-Н), 0.85 (m, 2H, циклопропіл-Н), 2.41 (s, 3H, CH_3), 2.95 (m, 1H, CH), 3.63 (m, 1H, NCH_3), 6.38 (s, 1H, CH); MS (m/z) 223 ($M^+ + 1$).

1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти метиламід [Аро6619].

М. р. 258-260 °C (dec); $^1\text{H-NMR}$ (MeOD-d_4 , 400MHz) δ 0.5 (m, 2H, циклопропіл-Н), 1.19 (m, 2H, циклопропіл-Н), 2.54 (s, 3H, CH_3), 2.97 (s, 1H, NCH_3), 3.46 (m, 1H, CH), 6.33 (s, 1H, CH); MS (m/z) 223 ($M^+ + 1$).

Приклад 4: Приготування 3-(бензилокси)-N-циклобутил-6-метил-4-оксо-4Н-піран-2-карбоксаміду.

Суміш 3-(бензилокси)-6-метил-4-оксо-4Н-піран-2-карбонової кислоти (2,5г, 9,6 ммол, 1,0екв) та 1,1'-карбонілдіімідазолу (2,49г, 15,37ммол, 1,6екв) в DMF (20мл) перемішували при 50°C протягом 5 годин. Суміш була охолоджена до кімнатної температури. Циклобутиламину гідрохлорид (1,24г, 11,52ммол, 1,2екв) та Et_3N (1,74мл,

12,48ммол, 1,3екв) були додані і суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі. Розчинник був видалений під зниженим тиском. Очищення хроматографією (1:1 гексан/ EtOAc , потім EtOAc) забезпечило зазначену сполуку (2,76г, вихід 91,56%) у вигляді твердої жовтої речовини.

М. р. 69.3-71.0 °C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 1.51-1.72 (m, 4H, циклобутил Н), 2.19-2.28 (m, 2H, циклобутил Н), 2.37 (s, 3H, CH_3), 4.39-4.41 (m, 1H, CH), 5.41 (s, 2H, OCH_2Ph), 6.30 (s, 1H, CH), 7.39-7.49 (m, 5H, ArH), 7.86 (br, 1H, NH), and MS (m/z) 314 ($M^+ + 1$), 217,91.

Діючи в подібний спосіб, була приготована наступна:

3-(бензилокси)-N-циклопентил-6-метил-4-оксо-4Н-піран-2-карбоксамід

М. р. 108.0-108.5 °C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 1.1-1.16 (m, 2H, циклопентил Н), 1.50-1.55 (m, 4H, циклопентил Н), 1.87-1.92 (m, 2H, циклопентил Н), 2.38 (s, 3H, CH_3), 4.17-4.22 (m, 1H, CH), 5.41 (s, 2H, CH_2), 6.30 (s, 1H, CH), 7.38-7.43 (m, 5H, ArH), 7.72 (br, 1H, NH), MS (m/z) 328 ($M^+ + 1$), 217,91.

Приклад 5: Приготування 3-(бензилокси)-N-циклобутил-1,6-етан-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксаміду

До розчину сполуки з Прикладу 4 (2,616г, 8,35ммол, 1,0екв) в метанолі (10мл) був швидко доданий метиламін (2М в метанолі, 20мл, 40ммол, 4,9екв). Запаяну пробірку перемішували протягом ночі при 70-75°C. Одержаний коричневий розчин було випаровано до суха і очищено хроматографією (EtOAc , потім 1:4 MeOH/EtOAc), результатом чого було одержання зазначеної сполуки у вигляді білої твердої речовини (1,70г, вихід 62,24%).

М. р. 221.3-222.4 °C; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400MHz) δ 1.65-1.69 (m, 2H, циклобутил Н), 1.90-1.95 (m, 2H, циклобутил Н), 2.14-2.21 (m, 2H, циклобутил Н), 2.31 (s, 3H, CH_3), 3.42 (s, 3H, NCH_3), 4.34-4.30 (m, 1H, CH), 5.05 (s, 2H, OCH_2Ph), 6.22 (s, 1H, CH), 7.39-7.30 (m, 5H, ArH), 9.08-9.06 (d, 1H, J=7.08Hz, NH); MS (m/z) 327 ($M^+ + 1$), 230, 166, 91.

Діючи подібним чином, була приготована наступна сполука: 3-(бензилокси)-N-циклопентил-1,6-диметил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамід

М. р. 233.6-234.4 °C; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400MHz) δ 1.43-1.52 (m, 4H, циклопентил Н), 1.54-1.60 (m, 2H, циклопентил Н), 1.78-1.83 (m, 2H, циклопентил Н), 2.30 (s, 3H, CH_3), 3.43 (s, 3H, NCH_3), 4.13-4.18 (m, 1H, CH), 5.04 (s, 2H, OCH_2Ph), 6.22 (s, 1H, CH), 7.30-7.41 (m, 5H, ArH), 8.80-8.82 (d, J=6.95Hz, 1H, NH); MS (m/z) 341 ($M^+ + 1$), 230, 166, 91.

Приклад 6: Приготування N-циклобутил-3-гідрокси-1,6-диметил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксаміду [Аро6622].

Суміш N-циклобутил-3-бензилокси-1,6-диметил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксаміду (1,528г, 4,68ммол, 1,0екв), 10% Pd на активізованому вугіллі (200мг, вологий) та етанолу (200мл) перемішували під 50psi H_2 при кімнатній температурі протягом 2,5 годин. Каталізатор відфільтровували через целіт, а фільтрат випаровували, результатом чого була тверда речовина, яку рекристалізовували з MeOH , одержуючи вказану речовину у вигляді твердого білого осаду (0,57г, вихід 51,5%).

М. р. 277.3 С (dec); $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400MHz) δ 1.68-1.70 (m, 2H, циклобутил Н), 1.95-2.01 (m, 2H, циклобутил Н), 2.20-2.26 (m, 2H, циклобутил Н), 2.29 (s, 3H, CH_3), 3.41 (s, 3H, NCH_3), 4.31-4.35 (m, 1H, CH), 6.13 (s, 1H, CH), 8.98 (br, 1H, NH); MS (m/z) 237 ($\text{M}^+ + 1$), 185, 166, 123.

Діючи в подібний спосіб, були приготовані наступні сполуки:

N-циклопентил-3-гідрокси-1,6-диметил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамід [Аро6620].

М. р. 289.3 С(dec); $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400MHz) δ 1.49-1.55 (m, 4H, циклопентил Н), 1.61-1.68 (m, 2H, циклопентил Н), 1.83-1.87 (m, 2H, циклопентил Н), 2.29 (s, 3H, CH_3), 3.42 (s, 3H, NCH_3), 4.14-4.18 (m, 1H, CH), 6.12 (s, 1H), 8.71-8.73 (d, $J=7.05\text{Hz}$, 1H, NH); MS (m/z) 251 ($\text{M}^+ + 1$), 166.

1-Циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти циклопропіламід [Аро6618].

М. р. 241-143 С; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400MHz) δ 0.53 (m, 2H, циклопропіл-Н), 0.71 (m, 2H, циклопропіл-Н), 0.94-1.00 (m, 4H, циклопропіл-Н), 2.42 (s, 3H, CH_3), 2.79 (m, 1H, CH), 3.30 (m, 1H, CH), 6.08 (s, 1H, CH), 8.54 (br, s, 1H, NH); MS (m/z) 249 ($\text{M}^+ + 1$).

Приклад 7: 3-бензилокси-1-циклопропіл-6-метил-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонова кислота.

До суспензії 3-(бензилокси)-6-метил-4-оксо-4Н-піран-2-карбонової кислоти (70г, 0,27мол) в MeOH (350мл) в 3-шийній RBF (круглодонна колба), обладнаній механічною мішалкою, додавали циклопропіламін (120мл, 1,72мол). Утворився прозорий світло-жовтий розчин. Реакційну суміш переплавили вали приблизно 19 годин. Леткі продукти видаляли у вакуумі, а залишок розчиняли у воді (700мл) при помішуванні. Водний розчин фільтрували через подушечки Celfet®. Фільтрат поміщали в 3-шийну RBF, обладнану механічною мішалкою, та охолоджували у льодяній бані. Додавали концентровану HCl доти, доки рН не мало значення приблизно 1-2, випадав преципітат у вигляді об'ємистого твердого помаранчу. До суспензії додавали ацетон (200мл). Тверду речовину потім збирали вакуум-фільтрацією, повністю відмивали ацетоном та висушували на повітрі. Зазначена сполука була одержана у вигляді не зовсім білої твердої речовини (71,0г, вихід 88%).

М. р. 139.0-139.5 С; $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO-d_6) δ (ppm): 0.98-1.15 (m, 4H, 2 c- CH_2), [2.37 (s) + 2.40 (s), обертання, 3/2 коефіцієнт, 3H, CH_3], 3.30-3.50 (m, 1H, c-CH), 5.00-5.05 (m, 2H, CH_2Ph), 6.20-6.25 (m, 1H, C=CH), 7.28-7.50 (m, 5H, Ph); MS (m/z): 300.2 ($\text{M}^+ + 1$), 256.2, 192.2, 164.4, 91.0 (100%); Anal. Calcd. For $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_4$: C, 68.21; H, 5.72; N, 4.68%. Found: C, 67.76; H, 5.76; N, 4.61%.

Приклад 8: Синтезування 3-бензилокси-1-циклопропіл-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти метиламід.

До охолодженої суспензії (льодо-сольова баня, внутрішня температура=-5°C) 3-бензилокси-1-циклопропіл-6-метил-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти (30г, 0,10мол), CH_2Cl_2 (150мл) та DMF (7,8мл, 0,10мол) в 3-шийній RBF (круглодонній колбі), обладнаній механічною мішалкою, по краплі додавали хлористий тіоніл (9,5мл,

0,13мол) протягом 5 хвилин. Після додавання хлористого тіонілу, реакційна суміш все ще залишалась у вигляді суспензії. Видаляли льодо-сольову баню. Реакційну суміш нагріли до кімнатної температури. Були взяті аліквотні проби і їх погасили 2М розчином метиламіну в THF. Одержана суміш була проаналізована за допомогою HPLC. Таким чином, HPLC моніторинг показав, що приблизно 96% стартового матеріалу було витрачено після того, як реакційну суміш перемішували протягом 3 годин при кімнатній температурі (HPLC, мобільна фаза: 0,035% $\text{HClO}_4/\text{CH}_3\text{CN}$, 80/20, колонка: симетрія C18 WAT046980, швидкість потоку: 1мл/хв., контролююча довжина хвилі: 260нм., час утримування 3-бензилокси-1-циклопропіл-6-метил-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти=2,46хв., час утримування 3-бензилокси-1-циклопропіл-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти метиламід=5,40хв.).

В іншу 1-L 3-ший RBF, обладнану механічною мішалкою, помістили дихлорметан (240мл) та триетиламін (36мл, 0,26мол) (льодо-сольова баня, внутрішня температура складає -10°C). 2М метиламін в тетрагідрофурані (73мл, 0,146мол) був доданий до охолодженого розчину. Кислий хлорид, утворений *in situ* вище, перенесли у воронку, через яку вносять реактиви, та повільно додавали до розчину аміну впродовж 30 хвилин. Спостерігалась екзотермічна реакція, але внутрішня температура залишалась нижчою ніж -5°C. Реакція завершилась через 10 хвилин, що було встановлено за допомогою TLC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, співвідношення 9/1, об./об.). Реакційний розчин гасили водою (100мл) та перемішували протягом 5 хвилин. Органічна фракція була зібрана та більше ніж двічі відмита водою, після промивання ненасиченим розчином NaOH (0,05М, 3x100мл), висушена над сульфатом натрію, відфільтрована та сконцентрована під вакуумом до одержання коричневого твердого осаду. Осад суспендували в 150 мл розчину етанолу і етилацетату (співвідношення 2/8, об./об.) та пульпу перемішували протягом 2 годин. Твердий осад зібрали вакуум-фільтрацією, відмили етилацетатом (50мл) та висушили на повітрі. Зазначена сполука була одержана у вигляді світло-рожевого з коричневим відтінком осаду (14г, вихід 45%). Речовину потім очищували за допомогою хроматографії на колонці (5 % $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$).

М. р. 132-135 С; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 1.05 (m, 4H, циклопропіл-Н), 2.38 (s, 3H, CH_3), 2.70 (d, $J=1.8\text{Hz}$, 3H, NCH_3), 3.35 (m, 1H, CH), 5.07 (s, 2H, CH_2), 6.14 (s, 1H, CH), 7.15 (br, 1H), 7.35 (m, 5H, ArH); $^{13}\text{C}(\text{CDCl}_3)$ δ (9.48, 20.30, 25.86, 34.15, 74.01, 118.16, 127.79, 128.06(2C), 128.22(2C), 137.35, 142.05, 143.98, 149.91, 162.01, 173.89; MS (m/z): 313 ($\text{M}^+ + 1$).

В подібний спосіб були приготовані наступні сполуки:

3-(бензилокси)-N-(циклогексилметил)-1-циклопропіл-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамід

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400MHz) δ 0.90-0.96 (m, 3H), 1.13-1.23 (m, 3H), 1.45-1.54 (m, 1H), 1.64 (br. m, 4H), 1.73-1.76 (br. m, 4H), 2.56 (s, 3H, CH_3), 3.12-3.13 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 2H), 3.36-3.40 (m, 1H, CH), 5.09 (s,

2H), 6.43 (s, 1H), 7.31-7.37 (m, 3H), 7.43-7.45 (m, 2H); MS (m/z): 395 ($M^+ + 1$).

3-(бензилокси)-1-циклопропіл-6-метил-2-(морфолін-4-ілкарбоніл)піридин-4(1H)-он:

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 0.87-0.94 (br. m, 1H), 1.09-1.13 (m, 1H), 1.25-1.30 (m, 2H), 2.56 (s, 3H, CH_3), 3.30-3.42 (m, 2H), 3.45-3.69 (m, 6H), 3.84-3.90 (m, 1H, CH), 4.74-4.77 (d, $J=10.4\text{Hz}$, 1H), 5.54-5.56 (d, $J=10.6\text{Hz}$, 1H), 6.80 (br. s, 1H, NH), 7.36-7.41 (m, 5H, ArH); MS (m/z): 369 ($M^+ + 1$).

3-(бензилокси)-1-циклопропіл-6-метил-N-(3-метилбутил)-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамід:

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 0.86-0.88 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 6H, 2CH_3), 1.04-1.09 (m, 4H), 1.27-1.37 (m, 2H), 1.55-1.60 (m, 1H, CH), 2.37 (s, 3H, CH_3), 3.20-3.25 (m, 2H, CH_2), 3.34-3.37 (m, 1H, CH), 5.09 (s, 2H, CH_2), 6.10 (s, 1H), 7.30-7.38 (m, 5H, ArH), 7.23-2.28 (br. t, 1H, NH).

3-(бензилокси)-N-циклогексил-1-циклопропіл-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамід:

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 1.15-1.30 (m, 3H), 1.31 (br. m, 1H), 1.34 (br. m, 5H), 1.66-1.70 (m, 1H), 2.78 (s, 3H, CH_3), 3.30-3.34 (m, 1H), 3.42-3.51 (m, 2H), 3.67-3.69 (m, 1H), 3.80-3.83 (m, 1H), 4.82-4.85 (d, $J=10.3\text{Hz}$, 1H); 5.37-5.40 (d, $J=10.5\text{Hz}$, 1H), 7.34 (br. m, 5H, ArH), 7.86 (s, 1H).

3-(бензилокси)-1-циклопропіл-N-гексил-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамід:

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 0.89-0.92 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1.25-1.32 (m, 6H), 1.40-1.47 (m, 4H), 1.64-1.70 (m, 2H, CH_2), 2.54 (s, 3H, CH_3), 3.43-3.48 (m, 2H, CH_2), 3.91-3.93 (m, 1H, CH), 5.10 (s, 2H, CH_2), 7.37-7.46 (m, 6H, ArH та $\text{C}=\text{CH}$), 9.24 (br. t, 1H, NH); MS (m/z): 383 ($M^+ + 1$).

3-(бензилокси)-1-циклопропіл-6-метил-2-[(4-метилпіпепазин-1-іл)карбоніл]піридин-4(1H)-он:

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 0.85-0.88 (m, 1H), 1.06-1.29 (m, 4H), 1.40-1.45 (br. m, 2H), 1.50-1.58 (br. ш, 4H), 2.51 (s, 3H, CH_3), 3.12-3.17 (m, 1H), 3.35-3.48 (m, 3H), 3.75-3.78 (m, 1H, CH), 4.76-4.78 (d, $J=10.6\text{Hz}$, 1H), 5.53-5.56 (d, $J=10.7\text{Hz}$, 1H), 6.68 (br. s, 1H, NH); MS (m/z): 382 ($M^+ + 1$).

3-(бензилокси)-1-циклопропіл-N,N,6-триметил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамід:

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 1.16-1.20 (m, 2H), 1.27-1.33 (m, 1H), 1.87-1.95 (m, 1H), 2.78 (s, 3H, CH_3), 3.05 (s, 3H, CH_3), 3.08 (s, 3H, CH_3), 3.62-3.68 (m, 1H, CH), 4.86-4.90 (d, $J=10.8\text{Hz}$, 1H), 5.33-5.38 (d, $J=10.8\text{Hz}$, 1H), 7.29-7.33 (m, 5H, ArH), 7.77 (s, 1H, NH); MS (m/z): 327 ($M^+ + 1$).

Приклад 9: А. Приготування 1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти метиламіду.

Процедура I:

Крок а. Синтезування 1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти метиламіду.

До суспензії 3-бензилокси-1-циклопропіл-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти метиламіду (10,0г, 0,032 мол) в метанолі (40мл) і воді (2,6мл) при температурі льодосоляної бані по краплині додавали концентровану HCl (3,9мл). Одержаний прозорий коричневий розчин перемішували при кімнатній температурі про-

тягом приблизно 5 хвилин, потім крізь розчин пропускали газоподібний азот впродовж приблизно 5 хвилин. Додавали Pd-C (10% вологи, 5% мас/мас, 0,5г) та реакційну посудину двічі продували воднем. Суміш гідрогенізували в реакторі Парра при водневому тискові 50psi в RT, проходження реакції контролювали за допомогою HPLC протягом більше ніж 3 годин. Через 3 години реакція завершилася.

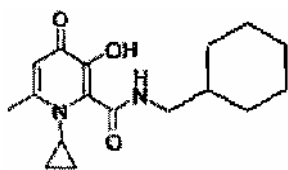
Надмір водню вилучили та газоподібний азот пропускали крізь розчин барботуванням протягом близько 5 хвилин. Реакційну суміш фільтрували через попередньо оброблений целіт (попередньо промитий 0,1N стандартним розчином 1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти метиламіду в метанолі), фільтраційну подушечку промивали (6 разів по 10мл) метанолом. Об'єм фільтрату був зменшений до близько 30мл під зниженим тиском. Залишок був охолоджений на льоду і випало небагато осаду. Додавали 2N розчин NaOH (25мл) доти, доки pH не встановилося близько 5, розчин перемішували протягом приблизно 10 хвилин. Додали метиловий ефір трет-бутилу (MTBE, 30мл) і одержану суміш перемішували при температурі льодо-соляної бані протягом 30 хвилин. Осад збирали вакуум-фільтрацією, двічі повністю відмивали 5мл суміші EtOH/MTBE (співвідношення 1/2). Умови HPLC для контролю за ходом реакції із застосуванням Hewlett Packard серії 1100 HPLC: симетрія C18, колонка (WAT046980), градієнт 0,035 % $\text{HClO}_4/\text{CH}_3\text{CN}$, min-% CH_3CN : 0-10; 6-10; 7-20 і 15-20, X -210, 260 і 285nm; час утримування 1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти метиламіду складає 2,099 хвилини.

Крок б. Очищування 1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти метиламіду.

Суспензію неочищеного продукту, що була одержана, як описано в Кроці а, перемішували з сумішшю $\text{EtOH/дистильована вода}$ (співвідношення 1/1, всього 14мл) при температурі льодосоляної бані протягом однієї години. Осад збирали вакуум-фільтрацією та двічі відмивали (5мл) попередньо охолодженою сумішшю $\text{EtOH/дистильована вода}$ (співвідношення 1/1). Зазначену сполуку - блідо-рожевий осад - висушували до постійної ваги при 40°C під вакуумом протягом 16 годин. Цей продукт давав негативний результат в тесті нітрату срібла, важив 5,3г (загальний вихід 74%, кроки а та б).

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO-D_6) δ (ppm): 0.94-0.99 (m, 4H, 2c- CH_2), 2.39 (s, 3H, CCH_3), 2.76 (d, $J=4.4\text{Hz}$, 3H, NHCH_3), 3.28-3.31 (m, 1H, c-CH), 6.08 (s, 1H, $\text{C}=\text{CH}$), 8.44 (br. q., 1H, NHCH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, DMSO-D_6) δ (ppm): 9.1, 19.9, 25.8, 33.7, 112.3, 130.1, 143.3, 148.7, 161.8, 170.6; MS/MS (+ve ES): MS (m/z) 223($M^+ + 1$), 192.1, 164.2 ($M^+ - \text{CONHCH}_3$, 100%), 150.1, 136.3; Elemental Analysis: Anal. Calcd. для $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$: C, 59.45; H, 6.35; N, 12.60 %. Found: C, 59.19; H, 6.07; N, 12.53%; IR (KBr) cm^{-1} : 3300 (NH), 1670, 1653, 1495 ($\text{C}=\text{C}$).

В. N-(циклогексилметил)-1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамід:

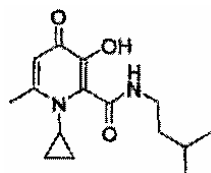


Суміш 3-(бензилокси)-N-(циклогексилметил)-1-циклопропіл-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксаміду (2,0г, 4,8ммол), Pd/C (10% вогкості, 0,45г) в етанолі (150мл) гідрогенізували в апараті Парра при водневому тискові в 50psi протягом 16 годин. Реакційну суміш фільтрували через шар целіту і целіт повністю промивали EtOH (25мл). В результаті випаровування розчинника була одержана блідо-рожева тверда речовина. Цей осад розчинили в гарячому метанолі, потім охолоджували до кімнатної температури доки не випав твердий продукт. Цей осад було зібрано вакуум-фільтруванням. Маточний розчин концентрували під вакуумом, а твердий залишок знову розчиняли в гарячому метанолі та охолоджували до кімнатної температури до випадання твердого продукту, який потім знову збирали. Цей процес повторювали ще раз. Три об'єднані тверді фракції білого кольору важили 0,95г (вихід 63%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 0.84-0.88 (m, 2H, CH_2 C-Pr), 1.03-1.09 (m, 2H, CH_2 c-Pr), 1.06-1.31 (m, 5H), 1.65-1.87 (m, 6H), 2.50 (s, 3H, CH_3), 3.33-3.36 (m, 2H, CH_2N), 3.51 (s, 1H), 3.58-3.61 (m, 1H, CH c-Pr), 6.27 (s, 1H, C=CH), 6.80 (br. t, 1H, NH); MS (m/z): 305 ($\text{M}^+ + 1$).

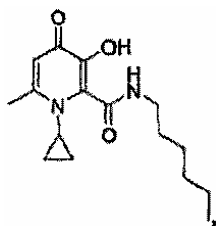
С. Наступні сполуки були приготовані в подібний спосіб:

1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-N-(3-метилбутил)-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамід:



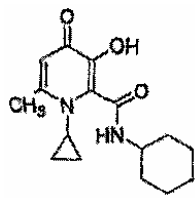
Вихід: 88%; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 0.85-0.89 (m, 1H), 0.98-1.00 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 6H, 2CH_3), 1.15-1.19 (m, 2H), 1.54-1.60 (m, 2H), 1.72-1.77 (m, 1H, CH), 2.50 (s, 3H, CH_3), 3.49-3.53 (m, 2H, CH_2), 3.57-3.60 (m, 1H, CH), 3.72 (br. s, 1H), 6.27 (s, 1H), 7.23 (br. t, 1H, NH); MS (m/z): 279 ($\text{M}^+ + 1$).

1-циклопропіл-N-гексил-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамід:



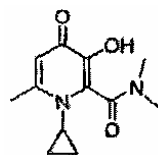
Вихід: 87%; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 0.90-0.94 (t, $J=6.8\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1.27-1.47 (m, 10H), 1.68-1.73 (m, 2H), 2.70 (s, 3H, CH_3), 3.47-3.52 (m, 2H, CH_2), 3.85-3.88 (m, 1H, CH), 7.05 (s, 1H, C=CH), 8.30 (br. t, 1H, NH); MS (m/z): 293 ($\text{M}^+ + 1$).

N-циклогексил-1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамід:



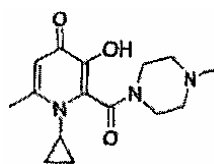
Вихід: 91%; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ 0.98-1.05 (m, 1H), 1.21-1.38 (m, 3H), 1.60-1.80 (br. m, 7H), 2.71 (s, 3H, CH_3), 3.32-3.37 (m, 1H), 3.46-3.50 (m, 1H), 3.55-3.64 (m, 2H), 3.92-3.99 (m, 1H), 6.88 (s, 1H, C=CH); MS (m/z): 277 ($\text{M}^+ + 1$).

1-Циклопропіл-3-гідрокси-N,N,6-триметил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамід:



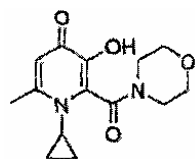
Вихід: 97%; $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300MHz) δ 0.98-1.10 (m, 1H), 1.15-1.43 (m, 3H), 2.76 (s, 3H, CH_3), 3.07 (s, 3H, CH_3), 3.16 (s, 3H, CH_3), 3.70-3.76 (m, 1H, CH), 7.10 (s, 1H, C=CH); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75MHz) δ 9.5, 10.9, 21.3, 35.0, 38.1, 38.8, 114.4, 138.8, 142.9, 154.7, 162.5, 162.8; MS (m/z): 237 MS (m/z): 237 ($\text{M}^+ + 1$).

1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-2-[(4-метилпіперазин-1-іл)карбоніл]піридин-4(1H)-он:



Вихід: 96%; $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300MHz) δ 0.89-1.00 (m, 1H), 1.06-1.29 (m, 3H), 1.52-1.85 (br. m, 8H), 2.56 (s, 3H, CH_3), 3.40-3.60 (m, 3H), 3.88, 3.89 (m, 1H, CH), 6.48 (s, 1H, C=C); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75MHz) δ 10.0, 11.0, 21.0, 25.4, 26.4, 27.0, 36.5, 43.8, 49.2, 114.7, 132.9, 144.5, 152.8, 162.4, 170.2.

N,1-дициклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбоксамід:



$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300MHz) δ 1.00-1.10 (m, 1H), 1.20-1.45 (m, 3H), 2.73 (s, 3H, CH_3), 3.45-3.53 (m, 2H), 3.62-3.86 (m, 6H), 3.90-4.00 (m, 1H), 7.02 (s, 1H, C=C); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75MHz) δ 10.3, 11.1, 21.3, 38.6, 43.6, 48.3, 67.4, 67.7, 114.5, 137.2, 143.3, 154.7, 161.2, 167.7; MS (m/z): 279 ($\text{M}^+ + 1$).

Приклад 10: Визначення pK_a для Аро6619 потенціометричним титруванням.

Значення pK_a лігандів було визначене потенціометричним титруванням при концентрації ліганда більшій ніж $1 \times 10^{-2} \text{M}$ у водному препараті. В типовому експерименті зразок розчину ($2,67 \times 10^{-2} \text{M}$) був приготований наступним способом: Аро6619 (92,6мг) був відважений у 25-міліметровий хімічний стакан, після чого додали 0,1М NaCl (15мл). Розчин піддавали дії ультразвуку протягом 10 хвилин до одержання безбарвного прозорого розчину. Після цього крізь розчин пропускали газоподібний азот. До розчину додавали 1,000 N соляної кислоти (624мкл, 1,5 еквівалента) доти, доки значення pH не стало 1,88. Дозволяється урівноважувати розчин при 22°C протягом 60 хвилин.

Потім розчин титрували проти 1,000 N NaOH при 22°C до досягнення значення pH 11,8. Для кожного додавання луку, розчину давали урівноважитись, доки не був досягнутий постійний показник pH. Об'єм луку, що додавався, та показник pH були записані для кожного вимірювання. Було здійснено 137 вимірювань для завершення експерименту.

Набір даних pH проти об'єму основи був проаналізований, використовуючи Hyperquad 2000 (Version 2.1, Peter Gans, University of Leeds). Одержана модель: $\text{L}^- + \text{H}^+$, $\text{LH}(pK_{a1})$ і $\text{LH} + \text{H}^+$, $\text{LH}_2^+(pK_{a2})$, значення pK_a Аро6619 було оптимізовано як $pK_{a1}=8,6$ і $pK_{a2}=2,5$.

Приклад 11: Визначення pK_a для Аро6617 спектрометричним титруванням.

Значення pK_a лігандів може бути визначене за допомогою спектрометричного титрування, коли кон'юговані як кислота, так і основа поглинають у UV-видимому регіоні. В типовому експерименті, зразок розчину було приготовано наступним способом: Аро6617 (0,792мг) відважили в 80-міліметровий хімічний стакан, після чого додали 0,1М NaCl (50мл). Розчин піддавали дії ультразвуку протягом 5 хвилин до одержання безбарвного прозорого розчину. Після цього крізь розчин пропускали газоподібний азот. До розчину додавали 1,000 N соляної кислоти (50мкл) доти, доки значення pH не стало 10,9. Дозволяється урівноважувати розчин при 22°C протягом 1 години. Sipper-систему використовували для циркулювання зразка розчину між стаканом та проточною кюветою. Зразок розчину було протитровано проти стандартних розчинів соляної кислоти при 22°C до досягнення pH 1,40. Після кожного додавання кислоти розчину давали урівноважитись, доки не досягався постійний показник pH. pH і спектр UV-Vis були записані для кожного вимірювання. Піки довжин хвиль для протонуваних різновидів (L^-), нейтральних різновидів (LH) та протонуваних різновидів (LH_2^+) склали 314нм, 281нм і 249нм відповідно. В межах $\text{pH} > 6$, після кожного додавання кислоти вони незначно знижувалися при оптичній густині

314нм і незначно зростали при 281нм в кожному спектрі, тоді як в межах $\text{pH} < 5$, після кожного додавання кислоти вони незначно знижувалися при оптичній густині 281нм і незначно зростали при 249нм в кожному спектрі. Розчин титрували доти, поки не було очевидної зміни в спектрах після окремих подальших додавань кислоти. Було здійснено 116 для завершення експерименту.

Набір одержаних даних потім був проаналізований, використовуючи pPAB (Peter Gans, University of Leeds). Значення pK_a Аро6617 були оптимізовані як $pK_{a1}=8,6$ і $pK_{a2}=2,5$.

Приклад 12: Стехіометрія комплексів Fe-Аро6622 за методом Джоба.

В типовому експерименті розчини комплексу Fe-Аро6622 були приготовані змішуванням вихідного розчину Fe^{3+} (атомно-абсорбційний стандарт, 1005мкг/мл в 1% за вагою HCl, Aldrich) та вихідного розчину Аро6622 ($6,98 \times 10^{-3} \text{M}$ в 0,1М MOPS pH 7,4). Було приготовано 12 зразків розчину. Хоча сума загальної концентрації заліза ($C_{\text{total}}^{\text{Fe}}$) та загальної концентрації ліганда ($C_{\text{total}}^{\text{L}}$) в кожному з 12 зразків розчину витримується постійною ($8,00 \times 10^{-4} \text{M}$), молярна фракція ліганда, ($=C_{\text{total}}^{\text{L}}/(C_{\text{total}}^{\text{L}}+C_{\text{total}}^{\text{Fe}})$), для 12 зразків розчину була різною і готувалася як 0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,75, 0,8, 0,9 та 1,0 відповідно. Загальний об'єм для кожного з 12 зразків розчину доводили до 5мл, застосовуючи MOPS (0,1М, pH 7,4) як розчинник. pH 12 розчинів був скоректований додаванням NaOH до pH 7,4. Зразки розчинів були перемішані при кімнатній температурі протягом 3 годин, а потім поміщені в Dubnoff Metabolic Shaking Incubator при 25°C та при 90об./хв. Зразки розчинів центрифугували при 4000об./хв. протягом 15 хвилин, потім назад поміщали в інкубатор при 25°C без струшування. Спектр UV-Vis був записаний при 25°C для кожного з 12 розчинів.

Графік Джоба був побудований при оптичній густині 450нм як по вісі ординат, так і по вісі абсцис. Для комплексів була знайдена максимальна оптична густина=0,75, яка відповідає співвідношенню залізо:ліганд=1:3. Результуючий графік Джоба показано на Фіг.(1).

Діючи подібним способом, був побудований графік Джоба для Fe-Аро6617 та Fe-Аро6619. Вони показані на Фіг.(2) і (3).

Приклад 13: Визначення коефіцієнта розподілу MOPS буфер (50мМ, pH=7,4) та 1-октанол були використані як водна фаза і органічна фаза відповідно для визначення коефіцієнта розподілу. Перед застосуванням MOPS буфер і 1-октанол були попередньо насичені один одним.

В типовому експерименті вихідний органічний розчин Аро6618 (1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти циклопропіламід) був приготований таким чином: 0,50мг сполуки було відважено у 10-мілілітрову мірну колбу, а об'єм був доведений 1-октанолом. Після цього розчин піддали дії ультразвуку протягом 60 хвилин для того, щоб зразок повністю розчинився. Концентрація вихідного розчину була вирахована як $C_{\text{org}}^0 = 2,0 \times 10^{-4} \text{M}$.

Стандартний органічний розчин Аро6618 з $2,0 \times 10^{-5} \text{M}$ готували в 10-міліметровій мірній колбі шляхом десятикратного розведення вихідного

розчину 1-октанолом. Зразок розчину готували в 10-міліметровій мірній колбі. Змл вихідного розчину перенесли піпеткою у колбу, після чого додали 3мл MOPS буферу. Стандартний розчин і зразок потім струшували протягом 2 годин. Після струшування розчини перенесли в тест-пробірки та центрифугували при 4000об./хв. протягом 15 хвилин. Спектри UV-Vis були записані для стандартного розчину і органічної (верхньої) фази зразка при 22°C. Коефіцієнт розподілу $D_{7,4}$ був вирахований, використовуючи наступне рівняння:

$$D_{7,4} = [A_{\text{орг}} / (C_{\text{орг}}^0 \epsilon_{\text{орг}} - A_{\text{орг}})] \times (V_{\text{вод}} / V_{\text{орг}}),$$

де $\epsilon_{\text{орг}}$ = коефіцієнт молярної екстинкції піку довжини хвилі (? max), отриманого зі спектру UV-Vis органічного стандартного розчину;

$A_{\text{орг}}$ = оптична густина органічної фази зразка при тому ж ? max ;

$C_{\text{орг}}^0$ = концентрація вихідного розчину;

$V_{\text{вод}}$ = об'єм MOPS в зразку;

$V_{\text{орг}}$ = об'єм вихідного розчину в зразку.

Приклад 14: Визначення констант комплексоутворення металу.

А. Інструменти та реактиви:

Для вимірювань pH використовували pH-метр (Accumet Research AR15, 13-636-AR15, Fisher) і комбінаційний електрод (скляний комбінаційний електрод стандартного розміру Accumet, 13-620-285, Fisher). Перед застосуванням електрод був відкалібрований з трьома стандартними буферними розчинами (pH 4.00, pH 7.00 і pH 10.00, Fisher). Титрант додавали вручну за допомогою цифрових піпеток (Eppendorf). Для вимірювань оптичної густини використовували UV-видимий спектрофотометр (Agilent 8453).

Для вимірювання pH-залежної оптичної густини кожного разу використовували sipper-систему (89068D Agilent). Зтрушувач (VX-2500 Multi-tube Vortexer, VWR Scientific Products) використовували для приготування зразків розчину як в експериментах з коефіцієнтом розподілу, так і в експериментах з графіком Джоба.

Вихідні розчини металу були придбані у: атомно-абсорбційний стандартний розчин заліза (1000мкг/мл Fe в 1мас.% HCl); атомно-абсорбційний стандартний розчин алюмінію (1000мкг/мл Al в 1мас.% HCl); атомно-абсорбційний стандартний розчин кальцію (1000мкг/мл Ca в 1мас.% HCl); атомно-абсорбційний стандартний розчин міді (1000мкг/мл Cu в 1мас.% HNO₃); атомно-абсорбційний стандартний розчин магнію (1000мкг/мл Mg в 1мас.% HNO₃); атомно-абсорбційний стандартний розчин марганцю (1000мкг/мл Mn в 1мас.% HNO₃); атомно-абсорбційний стандартний розчин цинку (1000мкг/мл Zn в 1мас.% HCl). Стандартні розчини гідроксиду натрію та соляної кислоти були придбані у VWR Scientific Products. MOPS (3-[N-морфоліно]пропансульфонова кислота) була придбана у Sigma-Aldrich.

В. Визначення ступінчатих констант утворення для системи Fe-Apo6619 спектрофотометричним титруванням. Apo6619 - це 1-циклопропіл-3-гідрокси-6-метил-4-оксо-1,4-дигідропіридин-2-карбонової кислоти метиламід.

Ступінчаті константи утворення для систем M^{n+} -ліганд визначають спектрофотометричним

титруванням тоді, коли комплекс металу має значну оптичну густину у видимій ділянці завдяки переносу заряду від ліганду до металу. В типовому експерименті зразки розчини готують згідно з таким способом: Apo6619 (10,7мг) відважили у 80-мілілітрову колбу, до якої додали 0,1M NaCl (50мл). Розчин піддали дії ультразвуку протягом 10 хвилин, щоб утворився безбарвний прозорий розчин. Вихідний розчин заліза (атомно-абсорбційний стандарт, Aldrich, 496мкл, 8,93E-06молів) піпеткою перенесли до розчину, об'єм якого був доведений 1,000 N NaOH (137мкл). Молярне співвідношення між загальним залізом і загальним Apo6619 складало 1:5,4. Розчину дали можливість урівноважитись протягом ночі. Дозволяється пропускати газоподібний азот крізь розчин барботацією. До розчину додавали 1,000 N соляної кислоти (3мл) до досягнення значення pH 1,5. Розчину давали можливість урівноважитись при 22°C протягом 3 годин.

Sipper-систему використовували для циркулювання зразка розчину між колбою та проточною кюветою.

Зразок титрували проти стандартного розчину NaOH при 22°C до досягнення pH=6,89. Після кожного додавання луку розчину давали урівноважитись, доки не досягався постійний показник pH. pH і спектр UV-Vis були записані для кожного вимірювання. При кожному вимірюванні додавався луг, в достатній кількості для того, щоб відбувалось незначне зростання спектра оптичної густини. Розчин титрували доти, доки не було очевидного зростання в спектрах після окремих подальших додавань луку. Всього до завершення експерименту було здійснено 64 вимірювань.

Набір результуючих даних був потім проаналізований, застосовуючи рНАВ. Одержана модель: $L^- + H^+ \rightleftharpoons LH (pK_{a1})$, $LH + H^+ \rightleftharpoons LH_2^+ (pK_{a2})$, $Fe^{3+} + L^- \rightleftharpoons FeL^{2+} (K_1)$, $FeL^{2+} + L^- \rightleftharpoons FeL_2^+ (K_2)$, $FeL_2^+ + L^- \rightleftharpoons FeL_3 (K_3)$, та $\beta_3 = K_1 K_2 K_3$, ступінчаті константи утворення для системи Fe-Apo6619 були оптимізовані як $\log K_1 = 12,5(1)$; $\log K_2 = 11,6(1)$; $\log K_3 = 9,5(1)$; $\log \beta_3 = 33,6(2)$.

С. Визначення ступінчатих констант утворення для системи Fe-Apo6619 потенціометричним титруванням.

Ступінчаті константи утворення для системи M^{n+} -ліганд визначаються потенціометричним титруванням тоді, коли комплекси металів (=0002M) не випадають в осад під час титрування. В типовому експерименті зразки розчини готують згідно з таким способом: Apo6619 (31,91мг) відважили у 25-мілілітрову колбу, до якої додали 0,1M NaCl (18,9мл). Розчин піддали дії ультразвуку протягом 10 хвилин, щоб утворився безбарвний прозорий розчин. Вихідний розчин алюмінію (атомно-абсорбційний стандарт, Aldrich, 971мкл, $3,59 \times 10^{-5}$ молів) піпеткою перенесли до розчину, об'єм якого був доведений 1,000 N NaOH (229мкл) до pH=8,56. Молярне співвідношення між загальним алюмінієм і загальним Apo6619 складало 1:4. Для M^{2+} металів застосовують молярне співвідношення 1:3. Крізь розчин барботацію пропускали азот. Розчину давали можливість урівноважитись при 22°C протягом 2 годин. До розчину додавали 1,000 N соляну кислоту (264мкл) до досягнення значення

ня рН 2,20. Розчину давали можливість урівноважитись при 22°C протягом однієї години.

Зразок розчину було протитровано проти 1,000 N NaOH при 22°C до досягнення рН 11,0. Після кожного додавання луку розчину давали урівноважитись, доки не досягався постійний показник рН. Об'єм луку і рН були записані для кожного вимірювання. В експерименті було застосовано 93 вимірювання.

Набір даних рН проти об'єму луку був проаналізований, використовуючи Hyperquad 2000. Одержана модель: $L^- + H^+ \rightleftharpoons LH$ (pK_{a1}), $LH + H^+ \rightleftharpoons LH_2^+$ (pK_{a2}), $Al^{3+} + L^- \rightleftharpoons AlL^{2+}$ (K_1), $AlL^{2+} + L^- \rightleftharpoons AlL_2^+$ (K_2), $AlL_2^+ + L^- \rightleftharpoons AlL_3$ (K_3), та $\beta_3 = K_1 K_2 K_3$, ступінчаті константи утворення для системи A1-Apo6619 були оптимізовані як $\log K_1 = 12,6$ (2); $\log K_2 = 9,2$ (1); $\log K_3 = 8,4$ (1); $\log \beta_3 = 30,2$ (2).

Обчислення pM^{n+}
 pM^{n+} визначено як $-\log[M(H_2O)_m]^{n+}$ при фізіологічних умовах, тобто: $pH = 7,4$, концентрація ліганда становить 10 мкМ та концентрація металу - 1 мкМ.

Для того, щоб обчислити pM^{n+} для системи ML_n , потрібні значення β_n і pK_a потрібні (β_n - це константи утворення для $M^{n+} + nL^- \rightleftharpoons ML_n$; pK_a - це константи рівноваги для $L^- + nH^+ \rightleftharpoons LH_n^{(n-1)+}$). pM^{n+} може бути обчислене за допомогою використовуваних програмного забезпечення Hyss (Hyperquad Stimulation and Speciation software: HYSS2@ 2000 Protonic Software).

Отримані в наведених вище визначеннях дані для сполук формули I можна знайти в Таблиці 1 і 2.

Приклад 15: Оцінювання сполук формули I на пацюках, в організмі яких є надмір заліза.

Ефективність Apo6619 і Apo6617 в стимуляції уринарної та фекальної екскреції заліза у пацюків, в організмі яких є надмір заліза.

Метою цього дослідження є визначення ефективності Apo6619 і Apo6617 в стимуляції уринарної екскреції заліза на моделі пацюків, в організмі яких є надмір заліза. Перевантаження залізом досягається введенням декстрану заліза. Перевантаження залізом, застосовуючи декстран заліза, уже було використане для вивчення ефективності комплексоутворювача на мишах [Kontoghiorghes G. J., MolPharmacol. 1986, 30 (6), 670-3; Bartfay et al., Cardiovasc Res. 1999, 43 (4), 892-900], гризунах [Hershko et al., J. Lab ClinMed 2002, 139, 50-58], пацюках [Rakba N. Biochem Pharmacol. 1998, 55 (11): 1796-1806] та приматах [Bergeron et al., Blood, 1992, 79 (7), 1882-1890]. Режим перевантаження залізом, що застосовувався в цих дослідженнях, приводив до 20-кратного зростання рівнів заліза в печінці та 3,8-кратного зростання серцевих рівнів заліза у самців пацюка. Попередні дослідження на цій моделі показали, що ця модель не пов'язана зі значним приростом ваги тварин, зі споживанням їжі, клінічною хімією та гематологічними параметрами.

Експериментальний Протокол:

Шість Sprague-Dawley пацюків-самців (вагою між 200-250г) були отримані від Charles River Laboratories, Montreal, Quebec, Canada. Пацюки були навантажені залізом шляхом введення декстрану заліза внутрішньочеревно в дозі 100мг/кг, двічі на тиждень за період 4 тижнів в результаті 8

ін'єкцій (декстран заліза, Sima). Загальний об'єм декстрану заліза, що був введений, становив 1мл/кг.

Через вісім тижнів пацюки були переміщені в метаболічні клітки (один пацюк на клітку). Як тільки тварини опинилися в метаболічних клітках, виділення (як сеча, так і фекалії) збиралися щодня протягом принаймні 3 днів перед та 4 днів після введення кожного комплексу. Кожний з двох комплексонів (Apo6619 і Apo6617) вводився послідовно. Комплекси вводилися в одиничній дозі 450мкмоль/кг оральним випоюванням в об'ємі дози 2-4мл/кг. Тварин зважували перед дозуванням для того, щоб визначити точну дозу для введення. Тварин перевіряли щодня (очі, шкіра і рух) після введення комплексу для виявлення очевидних ознак погіршення здоров'я. Сечу і фекалії зберігали при -20°C до початку проведення аналізів загальної концентрації заліза.

Дієта, випоювання та умови утримування тварин:

Протягом досліджень тварини утримувались в умовах контролю за кліматом та освітленням (температура: 19-25°C, відносна вологість - 40%, цикл день/ніч - 12годин). Під час акліматизації, навантаження залізом та фаз рівноваги, пацюки були розміщені в стандартних клітках (по 2 пацюки на клітку), одержували стандартну для гризунів їжу, регулярно одержували водогінну воду та libitum. Після навантаження залізом та урівноваження пацюків перемістили в метаболічні клітки (по одному на клітку, Nalgene, Rochester NY). За три дні до переселення пацюків в метаболічні клітки вони одержали дієту з низьким вмістом заліза (3 проміле заліза, Dyets Inc., Bethlehem, PA) та Millipore воду і libitum. Пацюки залишались на дієті з низьким вмістом заліза впродовж дослідження. Метою утримування тварин на дієті з низьким вмістом заліза є зниження шумового фону, продукovanого дієтичним залізом в фекальних зразках.

Приготування дозованих розчинів комплексонів:

50мг/мл дозування розчину комплексу формули I (570мг) одразу розчинили в суміші Millipore води (2мл) та 6N HCl (0,4мл) і довели до кінцевого об'єму (11,4мл) Millipore водою (9мл). Остаточне значення рН було скоректовано до рН=4 розведеним розчином гідроксиду натрію.

Розчини були захищені від світла та були свіжо приготованими перед кожним застосуванням. Визначення заліза:

Сеча і зразки фекалій були відвантажені до Trace Elements Laboratory at the London Health Sciences Center, London, Ontario, Canada для аналізу на загальну концентрацію заліза. Стисло, зразки фекалій готували розведенням водою, нагріванням до 98°C, струшуванням та наступним висушуванням за допомогою заморожування. Потім зразки змішували і відбирався репрезентативний зразок (вибірка), який виварювався з киплячими HNO_3 та H_2O_2 . Зразки фекалій потім розводили 1:100 водою вищого ступеня очистки перед тим, як запустити застосування high resolution sector field ICPMS (Finnigan Element 1). Зразки сечі виварювали з 0,1% HNO_3 і розводили 1/10 перед запуском ICP-MS. Були використані відповідні калібрувальні

криві із застосуванням видимих NIST стандартів та введених уколком зразків заліза. Зразки, що лежали вище або нижче підрахованого інтервалу, були проаналізовані повторно. Оскільки загальна кількість сечі і фекалій, вироблених за наданий період часу, відома, як і відома вага пацієнтів, то загальні рівні заліза в сечі та фекаліях виражаються як мг/день/кг. Статистичні порівняння в межах і між групами здійснювалися, застосовуючи непарний тест за критерієм Стьюдента. Значення $p < 0.05$ було прийняте як істотне.

Результати

У пацієнтів не спостерігалось ніяких видимих ознак погіршення стану протягом введення будь-якого з комплексонів. Всі тварини продовжували нормально набирати вагу після того, як кожний з комплексонів був введений.

Уринарна екскреція:

Ефективність Аро6619 і Аро6617 в стимуляції уринарної екскреції заліза представлена на Фіг.6 нижче. Базове сечовиведення заліза, виміряне протягом 3 перед введенням Аро6619, було 6 ± 1 мкг/день/кг.

Воно зросло до 240 ± 131 мкг/день/кг у перший день після введення Аро6619 ($p = 0.007$). Екскреція потім впала до 16 ± 5 мкг/день/кг на другий день після введення Аро6619, проте навіть ці рівні були все ще істотно вищими, ніж базовий ($p = 0.004$). На третій день, уринарна екскреція заліза повернулася до базових рівнів (5 ± 1 мкг/день/кг). Аро6617 також привів до збільшеної екскреції заліза у перший та другий день після введення (164 ± 55 та 17 ± 13 мкг/день/кг відповідно). Хоча уринарна екскреція, здійснювана Аро6619, була за цифрами більшою, ніж та, що досягалась з Аро6617 (240 ± 131 мкг/день/кг проти 164 ± 55 мкг/день/кг в перший день після введення комплексону), але ця різниця не досягала статистичного значення завдяки тому факту, що одне з шести експонованих значень уринарної екскреції вище у Аро6617, ніж Аро6619.

Для порівняльних цілей також вивчався деферипрон в дозі 450 мкмоль/кг в згаданій вище моделі, але в іншому наборі пацієнтів ($n = 6$). Базові рівні уринарної екскреції заліза становили 9 ± 3 мкг/день/кг. Вони зростали до 80 ± 32 мкг/день/кг в перший день після введення ($p = 0.06$) деферипрону і поверталися до базових значень на другий день.

Фекальна екскреція:

Ефективність Аро6619 і Аро6617 в стимуляції фекальної екскреції заліза представлена в Таблиці 3. Обидва, як базові значення, так і індуковані після введення комплексону значення, репрезентують загальну кількість заліза, виділену за три дні до і після введення комплексону відповідно. Обидва, і Аро6619, і Аро6617, збільшували фекальну екскрецію заліза при 450 мкмоль/кг, але це збільшення статистично значуще тільки в Аро6617 групі (Аро6619: 4154 ± 1245 мкг/день/кг проти базового $p = 0.08$; Аро6617 4411 ± 790 мкг/день/кг проти базового $p = 0.008$). В попередньому дослідженні на такій самій моделі введення деферипрону шістьом пацієнтам в дозі 450 мкмоль/кг мало результатом фекальну екскрецію заліза $= 2157 \pm 169$ мкг/день/кг за три дні після введення комплексону.

Друге дослідження на пацієнтах при 113 мкмоль/кг:

Друге вивчення проводилося для підтвердження результатів ефективності Аро6619 і Аро6617, що спостерігалися в згаданому вище дослідженні і, крім того, для охарактеризування ефективності цих сполук в дозах, нижчих ніж 450 мкмоль/кг. Експеримент проводився в двох окремих групах пацієнтів з надміром заліза в організмі. Спосіб навантаження залізом, приготування дозованих розчинів та оцінювання ефективності на цих пацієнтах були подібними до тих, що описані у викладеному вище дослідженні.

Першій групі пацієнтів ($n = 6$) вводили Аро6619 послідовно в дозах 28, 113 та 450 мкмоль/кг. Так само обійшлися з другою групою пацієнтів (також $n = 6$), ввівши Аро6617 в таких самих дозах. Загальні дані екскреції показані в Таблиці 4. Подібно попередньому дослідженню, як Аро6619, так і Аро6617 призводили до збільшення уринарної екскреції заліза в дозі 450 мкмоль/кг (Аро6619: від базового 11 ± 3 до 335 ± 75 в перший день після введення Аро6619, $p = 0.0001$; Аро6617: від базового 14 ± 4 до 183 ± 20 в перший день після введення; Аро6617, $p = 0.0003$). На відміну від попереднього дослідження не спостерігалось істотної різниці між уринарною ефективністю Аро6619 і Аро6617 при 450 мкмоль/кг, з даного дослідження ясно, що Аро6619 більш ефективний, ніж Аро6617 ($p = 0.004$) в цій дозі. Так само, при 113 мкмоль/кг (25 мг/кг) обидва, і Аро6619, і Аро6617, збільшували виведення заліза з сечею ($p < 0.005$), але Аро6619 був більш ефективний, ніж Аро6617 ($p = 0.01$). При 28 мкмоль/кг тільки Аро6617 призводив до зростання екскреції заліза ($p = 0.01$) вище базового. Проте, величина збільшеної екскреції була малою як для Аро6619, так і для Аро6617.

Фекальна екскреція зростала завдяки Аро6619 в дозі 450 мкмоль/кг ($p = 0.03$) і спостерігалась тенденція у напрямку до збільшеного виділення заліза з Аро6617 також ($p = 0.08$). Ніякі істотні зростання у виведенні заліза з фекаліями не були знайденими з жодним комплексом в нижчих, ніж 450 мкмоль/кг дозах.

Разом, обидва дослідження показали, що Аро6619 і Аро6617 приводять до збільшення уринарної та фекальної екскреції заліза. Це виведення є вищим за те, що спостерігалось у попередніх дослідженнях з диферипроном в такій самій моделі. Тоді як Аро6619 приводить до істотного збільшення уринарної екскреції заліза в порівнянні з Аро6617 у високих дозах, перевага Аро6619 над Аро6617 у потенціюванні збільшення фекальної екскреції заліза не було очевидно з цих досліджень. У великій мірі, завдяки обом, і високому рівню, і високо перемінливим фоновим рівням заліза, важко визначити індуковану комплексом екскрецію заліза.

Приклад 16: А. Приготування хелату Fe(Аро6617)₃.

рН 9,7 карбонатний буфер приготували розчинюванням 0,84 г двовуглекислого натрію, 1,06 г карбонату натрію в деіонізованій воді та розведенням розчину до 50 мл. Аро6617 (1,028 г, 4,62 ммоль) був доданий до карбонатного буферу (25 мл). Гетерогенну суміш перемішували протягом 15 хви-

лин при кімнатній температурі до одержання прозорого розчину. Безводний хлорид заліза (0,2417г, 1,49ммоль) додавали невеликими порціями понад 5 хвилин при кімнатній температурі до одержання темно-червоного розчину. Потім пробірку герметично закривали і перемішували при кімнатній температурі протягом 42 годин. Додавали ацетонітрил (30мл) і розчинник видаляли під зниженим тиском до одержання сухої червоної маси. Осад розчиняли в дихлорметані (90мл), висушували над безводним Na_2SO_4 , фільтрували і сконцентрували. Не очищений продукт піддавали очищенню флеш-хроматографією з використанням градієнта елюції (розчин дихлорметан/метанол: 95/5, 90/10, 85/15 і 80/20). Був отриманий червоний осад (900мг). Осад змішали з сумішшю етилацетат/метанол (90/10, 60мл) і перемішували при кімнатній температурі протягом однієї години. Нерозчинний залишок відфільтрували і фільтрат випарували при зниженому тиску до одержання продукту (800,0мг). MS (m/z): 742.6 ($\text{M}^+ + \text{Na}$), 720.4 ($\text{M}^+ + 1$), 634.6, 499.0, 469.6, 360.4, 334.3.

Насичений розчин $\text{Fe}(\text{Apo6617})_3$ приготували розчинюванням 0,2г речовини в дихлорметані. Нерозчинний залишок відфільтрували. У пробірку до 1мл насиченого розчину дихлорметану додали 0,3мл етилацетату. Пробірку закрили при кімнатній температурі. Темно-коричневі кристали були видалені для кристалографічного визначення. Три визначені кристалічні структури показані на Фіг.7. Кристалографічні дані показані в Таблицях 5 і 6.

В. Приготування $\text{Fe}(\text{Apo6619})_3$

Apo6619 (4,4488г, 20,0ммоль) відважили в 100-мілілітрову одношию кругло донну колбу, обладнану магнітною мішалкою. Додали деіонізовану воду (30мл) до одержання суспензії. До суміші при кімнатній температурі додали розчин NaOH (3,336мл 6.000 N розчину, 20,0ммоль) до одержання прозорого оранжево-червоного розчину. $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1,7735г, BDH, 97-102%, 6,56ммоль) був відважений в 30-мілілітрову пробірку. До пробірки влили 4мл деіонізованої води. Суміш струшували до одержання прозорого жовтого розчину. Розчин FeCl_3 по краплині додавали до приготованого вище розчину Apo6619 . Розчин перемішували при кімнатній температурі протягом 6 днів. За цей час утворювався осад. Осад збирали вакуум-фільтрацією. Осад повертали назад до круглодонної колби. Додавали 50мл ацетону та 3мл деіонізованої води. Суміш перемішували протягом декількох годин. Після чого осад збирали вакуум-фільтрацією. Осад висушували на повітрі, одержали 3,1г продукту (вихід 66%). MS: 720,6 ($\text{M} + 1$). Одиничні кристали $\text{Fe}(\text{Apo6619})_3$ були вирощені дифузійною толуолу у вологий DMF. Рентгеноструктурний аналіз $\text{Fe}(\text{Apo6619})_3$ показана на Фіг.8.

Приклад 17: Визначення $E_{1/2}$ системи Fe-Apo6619 .

Матеріали та інструменти

Калію феріціанід (III) був куплений у Aldrich. Дефероксаміну мезилат (DFO) був придбаний у Sigma, атомно-абсорбційний стандартний розчин заліза (містить 1005мкг/мл Fe в 1мас.% HCl) був придбаний у Aldrich. Електрохімічні вимірювання виконувалися з циклічним вольтамперметричним аналізатором (BAS, CV-50W Potentiostat). Викори-

стовувалося програмне забезпечення BAS CV-50W Version 2.31. Такі електроди використовувалися для визначення окисно-відновних потенціалів комплексів заліза: Ag/AgCl електрод порівняння (BAS, MF-2052); платиновий допоміжний електрод (BAS, MW-1032) і склографітовий робочий електрод (BAS, MF-2012). Для коректування pH зразків розчину застосовували pH-метр (Accumet Research AR15, 13-636-AR15, Fisher Scientific) та pH-електрод (AccupHast combination electrode, 13-620-297, Fisher Scientific).

В. Приготування зразків розчину. 2,0мМ розчин F (DFO) в 0,1M NaCl (pH 7,4)

148,1мг дефероксаміну мезилату (чистота=95%) було точно відважео в 100-мілілітрову мірну колбу. Тверда речовина була розчинена в близько 30мл 0,1M NaCl до одержання прозорого безбарвного розчину. До розчину додали 11,114мл стандартного розчину заліза (містить 1005мкг/мл Fe в 1мас.% HCl). Розчин розвели 0,1M NaCl до 100-міліметрової мітки в мірній колбі. Одержаний розчин збовтували для того, щоб він повністю перемішався. Розчин перенесли в 200-мілілітровий лабораторний стакан. pH розчину довели до значення приблизно 7,1 додаванням стандартних розчинів гідроксиду натрію. Потім стакан закрили парафільмом та розчин залишили перемішуватись протягом ночі. pH розчину доводили до значення 7,40 в день випробовування. Виразуване молярне співвідношення між залізом_{заран} та DFO_{заран} складає 1:1.07.

2,0мМ розчин $\text{Fe}(\text{Apo6619})_3$ в 0,1M NaCl (pH 7,4)

70,0мг Apo6619 було точно відважений в мірну колбу на 50мл. Осад розчинили в приблизно 15мл 0,1M NaCl до одержання прозорого безбарвного розчину. До розчину додали 5557мкл стандартного розчину заліза (містить 1005мкг/мл Fe в 1мас.% HCl). Розчин розвели 0,1M NaCl до 50-міліметрової мітки в мірній колбі. Одержаний розчин збовтували для того, щоб він повністю перемішався. Розчин перенесли у 80-мілілітровий лабораторний стакан. pH розчину довели до значення приблизно 7,1 додаванням стандартних розчинів гідроксиду натрію. Потім стакан закрили парафільмом та розчин залишили перемішуватись протягом ночі. pH розчину доводили до значення 7,40 в день випробовування. Виразуване молярне співвідношення між залізом_{заран} та Apo6619 _{заран} складає 1:3,15. Подібним чином був приготований 2,0мМ розчин $\text{Fe}(\text{деферипрону})_3$ в 0,1M NaCl (pH 7,4). С. Визначення окисно-відновних потенціалів комплексів заліза.

Всі потенціали в тексті надані проти електроду порівняння Ag/AgCl . Окисно-відновні потенціали 2,0мМ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ в 1,0М азотнокислему калії вимірювались на початку кожного робочого дня для того, щоб перевірити відповідне функціонування циклічного вольтамперметра. Пік окисно-відновного потенціалу 2,0мМ розчинів комплексів заліза, тобто $\text{Fe}(\text{DFO})$, $\text{Fe}(\text{L1})_3$ і $\text{Fe}(\text{Apo6619})_3$, визначали при pH 7,4. Зразки розчинів комплексів заліза очищали аргонном протягом 15 хвилин перед CV-скануванням та розчин знаходився в атмосфері аргону під час вимірювань. Склографітовий робочий електрод полірували глиноземом після

кожного сканування. Застосовувані норми сканування були: 300мВ/с для розчину калієвого фериціаніду (III), 450мВ/с для розчинів Fe(DFO), Fe(L1)₃ і Fe(Аро6619)₃. На Фіг.9 показано цикловольтампєрограму комплексів Fe(III)L_n при рН 7.4: а) K₃Fe(CN)₆; б) Fe(DFO); в) Fe(L1)₃ {L1 - це деферипрон} та д) Fe(Аро6619)₃. Були виміряні пік відновного потенціалу (E_p^{red}), пік окисного потенціалу (E_p^{ox}), абсолютна різниця між потенціалами E_p^{red} та E_p^{ox} (ΔE_p), окисно-відновний потенціал (E_{1/2}) для чотирьох комплексів заліза. Значення E_{1/2}, обраховане як (E_p^{red}+E_p^{ox}), повідомлене в таблиці на Фіг.9.

Окисно-відновні потенціали 2,0мМ K₃Fe(CN)₆ в 1,0М азотнокислому калії вимірювались на початку кожного робочого дня для того, щоб перевірити відповідне функціонування циклічного вольтампєрметра. В типовому вимірюванні, значення E_p^{red}, E_p^{ox}, ΔE_p та E_{1/2} K₃Fe(CN)₆, визначені за допомогою лабораторного склографітового робочого електроду, були 197мВ, 282мВ, 85мВ і 240мВ відповідно. Значення з Bioanalytical Systems Inc. (BAS), виміряні з платиновим робочим електродом, були 237мВ, 306мВ, 69мВ і 272мВ відповідно. Теоретично, ΔE_p повинен бути близько 60мВ для одиничного процесу передачі електрону. Експериментальні значення добре узгоджуються з такими ж значеннями від BAS.

На відміну від K₃Fe(CN)₆, відновлювальні властивості Fe(DFO), Fe(L1)₃ і Fe(Аро6619)₃ надзви-

чайно чутливі до статусу працюючої поверхні електроду. Окисно-відновні потенціали є відтворюваними тільки після обережного полірування склографітового робочого електроду глиноземом після кожного сканування.

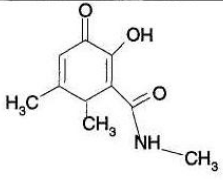
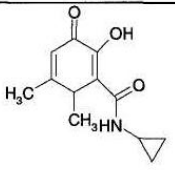
Значення ΔE_p Fe(DFO), Fe(L1)₃ і Fe(Аро6619)₃ складають 112мВ, 107мВ і 85мВ відповідно. Ясно видно (Фіг.9), що цикловольтампєрограми Fe(DFO), Fe(L1)₃ і Fe(Аро6619)₃ в основному оборотні. Опираючись на ці дані спостережень, розумно припустити, що цикловольтампєрограми Fe(DFO), Fe(L1)₃ і Fe(Аро6619)₃ зображують оборотний одиничний процес передачі електрону для кожного комплексу: Fe(III)L_n, Fe(II)L_n. Значення E_{1/2} Fe(DFO), визначене в цій лабораторії - це -698мВ проти електроду порівняння Ag/AgCl, яке чудово узгоджується з відомими з літератури значеннями (-688мВ) [A. L. Crumbliss et al, Inorganic Chemistry, 2003, 42, 42-50]. E_{1/2} Fe(Аро6619)₃ - це -691

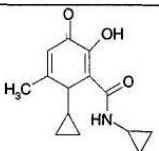
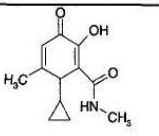
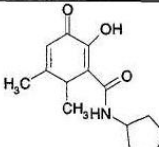
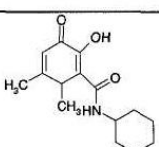
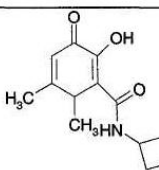
мВ, який подібний тому, що й для Fe(DFO).

Згадані вище приклади надані для ілюстрації винаходу і ніяким чином не обмежують його. Спеціалісту, обізнаному в даній галузі, зрозуміло, що винахід може змінюватися різними шляхами без зміни духу або принципу винаходу. Ми претендуємо на всі такі модифікації. Електрохімічні властивості комплексів Fe(III)L_n при рН 7.4 перераховані нижче:

Система	E _p ^{red} (мВ)	E _p ^{ox} (мВ)	ΔE _p (мВ)	E _{1/2} (мВ)
K ₃ Fe(CN) ₆	197	282	85	240
Fe(DFO)	-754	-642	112	-698
Fe(деферипрон) ₃	-887	-780	107	-834
Fe(Аро6619) ₃	-733	-648	85	-691

Таблиця 1: Хімічні властивості сполук формули I.

структура	сполука	D _{7,4}	pK _{as}	LogB ₃	pFe ³⁺	QMPR Plus TM Software Cal. Human Jejunal Effective Permeability [cm/s x 10 ⁻⁴]
	CP502	0.04	2.7 8.5	33.6	20.9	0.81
	Аро6617	0.099	2.4 8.5	33.6	20.8	1.11

41	84178		42			
	Apo6618	0.331	2.5 8.6	33.6	20.5	1.49
	Apo6619	0.109	2.5 8.6	33.4	20.7	1.11
	Apo6620	0.78	2.7 8.7	33.8	20.3	1.46
	Apo6621	2.2	2.5 8.7	34.3	20.9	1.65
	Apo6622	0.357	2.8 8.6	33.9	20.8	1.28

Таблиця 2

Селективність Apo6619 щодо зв'язування металу ($pK_{a1}=2.5$, $pK_{a2}=8.6$)

Log scale	Fe(III)	Al(III)	Cu(II)	Zn(II)	Mn(II)	Mg(II)	Ca(II)
K ₁	12.5	9.3	8.9	6.3	5.1	4.1	3
K ₂	11.6	9.5	7.7	5.8	4.3	3.2	2.1
K ₃	9.5	8.2	-	-	-	-	-
β_2	-	-	16.6	12.1	9.4	7.3	5.1
β_3	33.6	27	-	-	-	-	-
PM	20.5	13.9	10	6.4	6.0	6.0	6.0

Таблиця 3

Ефективність Apo6619 і Apo6617 в стимуляції фекальної екскреції заліза у пацієнтів, в організмі яких є надмір заліза (n=6). Значення виражені як мкг/день/кг, введена доза становить 450мкмоль/кг. Час реєстрації фекальної екскреції - три дні після введення комплексу. Значення виражені як середнє±ISD

Тест-продукт	Фекальна екскреція (мкг/день/кг)
базовий	3057±184
Apo6619	4154±1245
Apo6617	4411±790

Таблиця 4

Ефективність Аро6619 і Аро6617 в стимуляції уринарної екскреції заліза у пацієнтів, в організмі яких є надмір заліза (n=6). Значення виражені як мкг/день/кг. Час реєстрації фекальної екскреції - три дні після введення комплексу. Порівняні з базовими значеннями, виміряними за 3 дні до введення комплексу. Значення виражені як середнє \pm ISD

сполука	Сеча (1 день після введення комплексу)		Фекалії (3 дні) ¹	
	Аро6617	Аро6619	Аро6617	Аро6619
Рівень дози				
0 (базовий)	14 \pm 4	11 \pm 3	2300 \pm 1003	2575 \pm 871
28мкмоль/кг	24 \pm 6*	14 \pm 4	не виміряний	не виміряний
113мкмоль/кг	28 \pm 8*	51 \pm 15* τ	2411 \pm 335	3033 \pm 1076
450мкмоль/кг	183 \pm 20*	335 \pm 76* τ	3228 \pm 437	3831 \pm 790*

1 - оцінка триденної фекальної екскреції необхідна для того, щоб дозволити залізу пройти шлунково-кишковий тракт.

*p<0.05 проти базового значення в тій самій групі

τ p<0.05 проти Аро6617 в тій самій дозі

Таблиця 5

Кристалічні дані та уточнення структури для Fe(Аро6617)₃

Ідентифікаційний код	Fe(Аро6617) ₃	
Емпірична формула	C ₃₃ H ₄₂ FeN ₆ O _{10.50}	
вага	746.58	
температура	150(1) K	
Довжина хвилі	0.71073 Å	
Кристалічна система	триклинна	
Просторова група	P-1	
Розміри одиничних елементів	a=10.9760 (4) Å b=11.3790 (4) Å c=13.9952 (5) Å	α =94.283(2)° β =90.351(2)° γ =91.731(2)°
Об'єм	1742.18(11) Å ³	
Z	2	
Густина (вирахована)	1.423мг/м ³	
Коефіцієнт поглинання	0.500мм ⁻¹	
F(000)	784	
Розмір кристалу	0.30x0.14x0.04мм ³	
Тета-діапазон для збору даних	2.62-25.00°	
Індексний інтервал	-13 \leq h \leq 13, -13 \leq k \leq 13, -16 \leq l \leq 16	
Зібрані відображення	16641	
Незалежні відображення	6114 [R(int)=0.0753]	
Повнота при тета=25.00°	99.8%	
Корегування поглинання	Напівемпіричний від еквівалентів	
Max. та min. трансмісії	0.966 та 0.892	
Метод очистки	Full-matrix least-squares on F ²	
Дані/обмеження/параметри	6114/2/462	
Критерій узгодження по F ²	1.034	
Остаточні R індекси [I>2sigma(I)]	R1=0.0566, wR2=0.1410	
R індекси (dcс Ifys)	R1=0.0830, wR2=0.1594	
Коефіцієнт екстинції	Немає	
Максимальні диференційовані пік і діра	0.609 та -0.539 еюА ³	

Таблиця 6. Довжина зв'язку [Å] та кут [°] для Fe (Аро6617)₃

Fe(1)-O(5)	1.985(2)	N(2*)-C(9*)	1.556(13)
Fe(1)-O(8)	2.010(2)	C(9*)-C(11*)	1.440(12)
Fe(1)-O(2)	2.016(2)	C(9*)-C(10*)	1.454(15)
Fe(1)-O(7)	2.020(3)	C(10*)-C(11*)	1.474(14)
Fe(1)-O(4)	2.025(2)	C(12)-C(13)	1.384(5)
Fe(1)-O(1)	2.048(2)	C(12)-C(17)	1.441(5)
O(1)-C(1)	1.294(4)	C(13)-C(14)	1.393(5)
O(2)-C(5)	1.327(4)	C(14)-C(18)	1.498(5)
O(4)-C(12)	1.299(4)	C(16)-C(17)	1.383(5)
O(5)-C(17)	1.321(4)	C(16)-C(20)	1.508(5)
O(6)-C(20)	1.233(4)	C(20)-N(4)	1.331(5)
O(7)-C(24)	1.297(4)	N(4)-C(21)	1.474(10)
O(8)-C(28)	1.329(4)	C(21)-C(23)	1.434(15)
O(9)-C(31)	1.218(4)	C(21)-C(22)	1.492(13)
N(1)-C(3)	1.351(5)	C(22)-C(23)	1.392(15)
N(1)-C(4)	1.397(5)	C(21*)-C(22*)	1.461(19)
N(1)-C(7)	1.487(5)	C(21*)-C(23*)	1.535(16)
N(3)-C(14)	1.355(5)	C(22*)-C(23*)	1.582(18)
N(3)-C(16)	1.390(5)	C(24)-C(25)	1.395(5)
N(3)-C(19)	1.483(5)	C(24)-C(28)	1.425(5)
N(5)-C(26)	1.361(5)	C(25)-C(26)	1.363(5)
N(5)-C(27)	1.387(4)	C(26)-C(29)	1.504(5)
N(5)-C(30)	1.474(5)	C(27)-C(28)	1.376(5)
C(1)-C(2)	1.393(5)	C(27)-C(31)	1.501(5)
C(1)-C(5)	1.434(5)	C(31)-N(6)	1.310(5)
C(2)-C(3)	1.383(6)	N(6)-C(32)	1.514(12)
C(3)-C(6)	1.495(5)	C(32)-C(34)	1.417(15)
C(4)-C(5)	1.384(5)	C(32)-C(33)	1.485(16)
C(4)-C(8)	1.493(6)	C(33)-C(34)	1.459(15)
C(8)-O(3*)	1.256(7)	C(32*)-C(33*)	1.433(16)
C(8)-O(3)	1.281(8)	C(32*)-C(34*)	1.53(2)
C(8)-N(2*)	1.325(8)	C(33*)-C(34*)	1.45(2)
C(8)-N(2)	1.378(8)	O(11)-O(11)#1	1.550(16)
N(2)-C(9)	1.608(12)		
C(9)-C(10)	1.447(16)	O(5)-Fe(1)-O(8)	88.36(9)
C(9)-C(11)	1.505(13)	O(5)-Fe(1)-O(2)	88.97(10)
C(10)-C(11)	1.581(16)	O(8)-Fe(1)-O(2)	95.35(10)

47	84178	48	
O(5)-Fe(1)-O(7)	166.27(10)	C(4)-C(5)-C(1)	120.6(3)
O(8)-Fe(1)-O(7)	80.41(10)	O(3*)-C(8)-O(3)	26.2(4)
O(2)-Fe(1)-O(7)	99.86(11)	O(3*)-C(8)-N(2*)	118.8(5)
O(5)-Fe(1)-O(4)	81.11(10)	O(3)-C(8)-N(2*)	117.9(6)
O(8)-Fe(1)-O(4)	101.01(10)	O(3*)-C(8)-N(2)	117.3(6)
O(2)-Fe(1)-O(4)	160.54(10)	O(3)-C(8)-N(2)	127.8(6)
O(7)-Fe(1)-O(4)	93.23(10)	N(2*)-C(8)-N(2)	22.3(4)
O(5)-Fe(1)-O(1)	103.01(10)	O(3*)-C(8)-C(4)	125.0(4)
O(8)-Fe(1)-O(1)	167.38(10)	O(3)-C(8)-C(4)	119.1(5)
O(2)-Fe(1)-O(1)	79.61(10)	N(2*)-C(8)-C(4)	116.2(4)
O(7)-Fe(1)-O(1)	89.01(10)	N(2)-C(8)-C(4)	112.9(4)
O(4)-Fe(1)-O(1)	86.34(10)	C(8)-N(2)-C(9)	106.3(6)
C(1)-O(1)-Fe(1)	113.1(2)	C(10)-C(9)-C(11)	64.7(7)
C(5)-O(2)-Fe(1)	114.4(2)	C(10)-C(9)-N(2)	103.8(9)
C(12)-O(4)-Fe(1)	112.7(2)	C(11)-C(9)-N(2)	113.2(8)
C(17)-O(5)-Fe(1)	113.2(2)	C(9)-C(10)-C(11)	59.4(7)
C(24)-O(7)-Fe(1)	113.6(2)	C(9)-C(11)-C(10)	55.8(7)
C(28)-O(8)-Fe(1)	112.7(2)	C(8)-N(2*)-C(9*)	119.2(7)
C(3)-N(1)-C(4)	121.3(3)	C(11*)-C(9*)-C(10*)	61.2(7)
C(3)-N(1)-C(7)	117.7(3)	C(11*)-C(9*)-N(2*)	114.6(8)
C(4)-N(1)-C(7)	120.8(3)	C(10*)-C(9*)-N(2*)	100.4(9)
C(14)-N(3)-C(16)	121.3(3)	C(9*)-C(10*)-C(11*)	58.9(7)
C(14)-N(3)-C(19)	118.6(3)	C(9*)-C(11*)-C(10*)	59.8(7)
C(16)-N(3)-C(19)	120.1(3)	O(4)-C(12)-C(13)	125.6(3)
C(26)-N(5)-C(27)	120.5(3)	O(4)-C(12)-C(17)	116.3(3)
C(26)-N(5)-C(30)	120.7(3)	C(13)-C(12)-C(17)	118.0(3)
C(27)-N(5)-C(30)	118.7(3)	C(12)-C(13)-C(14)	120.9(3)
O(1)-C(1)-C(2)	124.9(4)	N(3)-C(14)-C(13)	120.2(3)
O(1)-C(1)-C(5)	117.8(3)	N(3)-C(14)-C(18)	119.4(3)
C(2)-C(1)-C(5)	117.3(3)	C(13)-C(14)-C(18)	120.5(4)
C(3)-C(2)-C(1)	121.3(4)	C(17)-C(16)-N(3)	119.7(3)
N(1)-C(3)-C(2)	120.4(3)	C(17)-C(16)-C(20)	120.0(3)
N(1)-C(3)-C(6)	119.4(4)	N(3)-C(16)-C(20)	120.3(3)
C(2)-C(3)-C(6)	120.2(4)	O(5)-C(17)-C(16)	123.9(3)
C(5)-C(4)-N(1)	119.0(3)	O(5)-C(17)-C(12)	116.5(3)
C(5)-C(4)-C(8)	121.6(3)	C(16)-C(17)-C(12)	119.7(3)
N(1)-C(4)-C(8)	119.3(3)	O(6)-C(20)-N(4)	124.1(4)
O(2)-C(5)-C(4)	124.3(3)	O(6)-C(20)-C(16)	122.9(3)
O(2)-C(5)-C(1)	115.1(3)	N(4)-C(20)-C(16)	113.0(3)

49	84178	50	
C(20)-N(4)-C(21)	126.2(5)	C(28)-C(27)-C(31)	120.9(3)
C(23)-C(21)-N(4)	120.5(8)	N(5)-C(27)-C(31)	118.6(3)
C(23)-C(21)-C(22)	56.8(7)	O(8)-C(28)-C(27)	123.8(3)
N(4)-C(21)-C(22)	118.0(7)	O(8)-C(28)-C(24)	116.6(3)
C(23)-C(22)-C(21)	59.5(7)	C(27)-C(28)-C(24)	119.5(3)
C(22)-C(23)-C(21)	63.7(8)	O(9)-C(31)-N(6)	123.8(4)
C(22*)-C(21*)-C(23*)	63.7(8)	O(9)-C(31)-C(27)	121.5(3)
C(21*)-C(22*)-C(23*)	60.4(8)	N(6)-C(31)-C(27)	114.7(3)
C(21*)-C(23*)-C(22*)	55.9(8)	C(31)-N(6)-C(32)	119.2(5)
O(7)-C(24)-C(25)	125.8(3)	C(34)-C(32)-C(33)	60.3(8)
O(7)-C(24)-C(28)	116.6(3)	C(34)-C(32)-N(6)	126.8(9)
C(25)-C(24)-C(28)	117.5(3)	C(33)-C(32)-N(6)	118.8(8)
C(26)-C(25)-C(24)	121.9(4)	C(34)-C(33)-C(32)	57.5(7)
N(5)-C(26)-C(25)	120.1(3)	C(32)-C(34)-C(33)	62.2(7)
N(5)-C(26)-C(29)	118.4(3)	C(33*)-C(32*)-C(34*)	58.7(9)
C(25)-C(26)-C(29)	121.5(4)	C(32*)-C(33*)-C(34*)	64.0(9)
C(28)-C(27)-N(5)	120.4(3)	C(33*)-C(34*)-C(32*)	57.3(8)

Симетричні трансформації, застосовані для одержання еквівалентних атомів:
 $\#1, -x, -y+1, -z$

Таблиця 7

Кристалічні дані та уточнення структури для Fe(Apo6619)₃

Ідентифікаційний код	Fe(Apo6617) ₃	
Емпірична формула	C _{37.50} H _{53.50} FeN ₇ O _{12.50}	
вага	865.23	
температура	150(1) K	
Довжина хвилі	0.71073 Å	
Кристалічна система	триклинна	
Просторова група	P-1	
Розміри одиничних елементів	a=11.9319 (8) Å b=114.3968 (9) Å c=15.3024 (9) Å	$\alpha=116.811(3)^\circ$ $\beta=108.353(3)^\circ$ $\gamma=95.164(4)^\circ$
Об'єм	2141.6 (2) Å ³	
Z	2	
Густина(вирахована)	1.342мг/м ³	
Коефіцієнт поглинання	0.421мм ⁻¹	
F(000)	914	
Розмір кристалу	0.22x0.21x0.10мм ³	
Тета-діапазон для збору даних	2.62-27.59°	
Індексний інтервал	-15<= h <=14, -18<= k <=18, -16<= l <=19	
Зібрані відображення	20782	
Незалежні відображення	9756 [R(int)=0.0469]	
Повнота при тета=25.00°	98.4%	
Корегування поглинання	Напівемпіричний від еквівалентів	
Max. та min. трансмісії	0.966 та 0.892	
Метод очистки	Full-matrix least-squares on F ²	
Дані/обмеження/параметри	9756/0/518	
Критерій узгодження по F ²	1.053	
Остаточні R індекси [$>2\sigma(I)$]	R1=0.0582, wR2=0.1519	
R індекси (dcс Ifys)	R1=0.0928, wR2=0.1663	
Коефіцієнт екстинкції	0.0061 (14)	
Максимальні диференційовані пік і діра	0.559 та -0.504 е. Å ³	

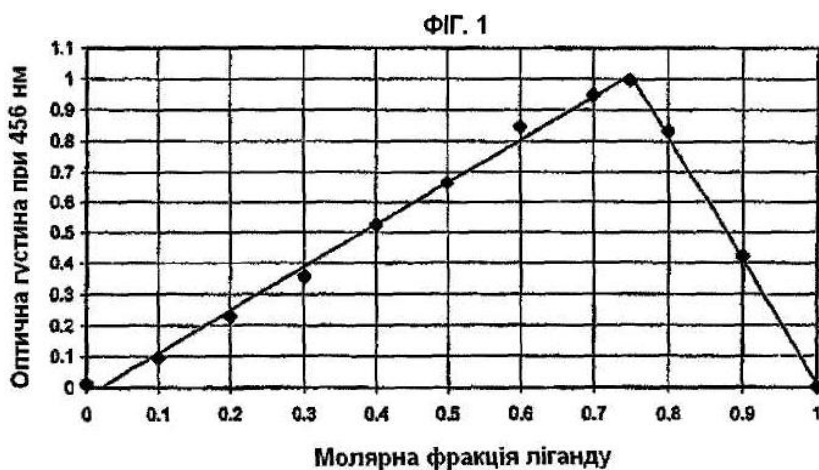
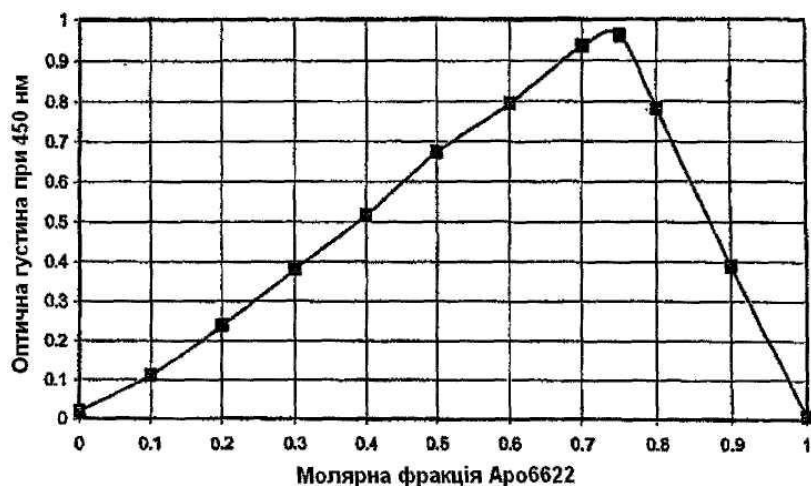
Таблиця 8. Довжина зв'язку [Å] та кут [°] для Fe (Ar06619) з.

Fe(1)-O(5)	1.9725(19)	C(7)-C(8)	1.480(5)
Fe(1)-O(3)	2.0180(17)	C(7)-C(9)	1.481(5)
Fe(1)-O(4)	2.0185(19)	C(8)-C(9)	1.500(6)
Fe(1)-O(6)	2.0300(18)	C(12)-C(16)	1.370(4)
Fe(1)-O(2)	2.0320(18)	C(12)-C(13)	1.438(4)
Fe(1)-O(1)	2.0634(17)	C(13)-C(14)	1.393(4)
O(1)-C(1)	1.312(3)	C(14)-C(15)	1.387(4)
O(2)-C(2)	1.292(3)	C(15)-C(17)	1.494(4)
O(3)-C(12)	1.314(3)	C(16)-C(21)	1.512(4)
O(4)-C(13)	1.294(3)	C(18)-C(19)	1.486(4)
O(5)-C(23)	1.323(3)	C(18)-C(20)	1.493(4)
O(6)-C(24)	1.295(3)	C(19)-C(20)	1.488(5)
O(7)-C(10)	1.250(3)	C(23)-C(27)	1.377(4)
O(8)-C(21)	1.244(3)	C(23)-C(24)	1.438(4)
O(9)-C(32)	1.249(3)	C(24)-C(25)	1.398(4)
N(1)-C(4)	1.362(4)	C(25)-C(26)	1.372(4)
N(1)-C(5)	1.410(3)	C(26)-C(28)	1.500(4)
N(1)-C(7)	1.466(4)	C(27)-C(32)	1.494(4)
N(2)-C(15)	1.359(4)	C(29)-C(31)	1.480(5)
N(2)-C(16)	1.393(3)	C(29)-C(30)	1.481(4)
N(2)-C(18)	1.465(3)	C(30)-C(31)	1.494(5)
N(3)-C(26)	1.373(4)	N(18)-C(28)	1.345(6)
N(3)-C(27)	1.382(3)	N(18)-C(18)	1.367(7)
N(3)-C(29)	1.469(4)	N(18)-C(38)	1.442(5)
N(4)-C(10)	1.329(4)	O(18)-C(28)	1.253(6)
N(4)-C(11)	1.464(4)		
N(5)-C(21)	1.319(4)	O(5)-Fe(1)-O(3)	90.66(7)
N(5)-C(22)	1.449(4)	O(5)-Fe(1)-O(4)	161.25(7)
N(6)-C(32)	1.317(4)	O(3)-Fe(1)-O(4)	80.33(7)
N(6)-C(33)	1.466(4)	O(5)-Fe(1)-O(6)	80.93(7)
C(1)-C(5)	1.394(4)	O(3)-Fe(1)-O(6)	106.44(7)
C(1)-C(2)	1.442(4)	O(4)-Fe(1)-O(6)	85.88(7)
C(2)-C(3)	1.392(4)	O(5)-Fe(1)-O(2)	93.91(8)
C(3)-C(4)	1.383(4)	O(3)-Fe(1)-O(2)	85.84(7)
C(4)-C(6)	1.498(4)	O(4)-Fe(1)-O(2)	101.72(8)
C(5)-C(10)	1.485(4)	O(6)-Fe(1)-O(2)	166.63(7)

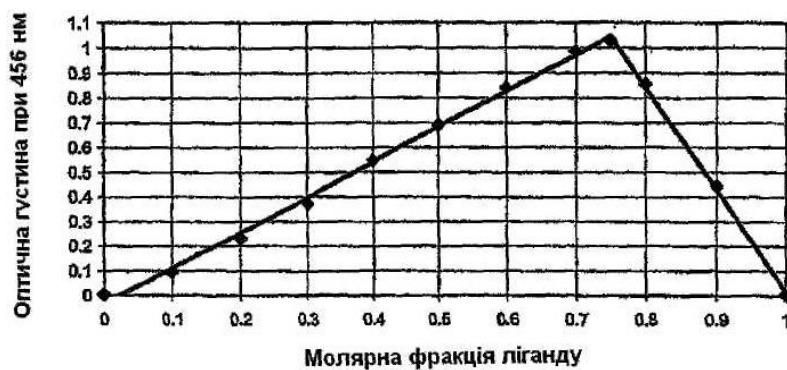
53	84178	54	
O(5)-Fe(1)-O(1)	103.56(7)	C(7)-C(8)-C(9)	59.6(3)
O(3)-Fe(1)-O(1)	159.41(7)	C(7)-C(9)-C(8)	59.5(2)
O(4)-Fe(1)-O(1)	89.78(7)	O(7)-C(10)-N(4)	121.7(3)
O(6)-Fe(1)-O(1)	90.66(7)	O(7)-C(10)-C(5)	123.0(3)
O(2)-Fe(1)-O(1)	78.50(7)	N(4)-C(10)-C(5)	115.2(2)
C(1)-O(1)-Fe(1)	113.92(16)	O(3)-C(12)-C(16)	125.1(3)
C(2)-O(2)-Fe(1)	115.03(16)	O(3)-C(12)-C(13)	116.0(2)
C(12)-O(3)-Fe(1)	112.01(16)	C(16)-C(12)-C(13)	118.8(2)
O(13)-O(4)-Fe(1)	112.70(16)	O(4)-C(13)-C(14)	124.3(2)
C(23)-O(5)-Fe(1)	113.72(16)	O(4)-C(13)-C(12)	116.9(2)
C(24)-O(6)-Fe(1)	112.55(16)	C(14)-C(13)-C(12)	118.8(2)
C(4)-N(1)-C(5)	121.5(2)	C(15)-C(14)-C(13)	120.7(3)
C(4)-N(1)-C(7)	118.7(2)	N(2)-C(15)-C(14)	119.4(2)
C(5)-N(1)-C(7)	119.7(2)	N(2)-C(15)-C(17)	120.4(2)
C(15)-N(2)-C(16)	121.5(2)	C(14)-C(15)-C(17)	120.1(3)
C(15)-N(2)-C(18)	120.4(2)	C(12)-C(16)-N(2)	120.3(2)
C(16)-N(2)-C(18)	118.1(2)	C(12)-C(16)-C(21)	121.5(2)
C(26)-N(3)-C(27)	121.0(2)	N(2)-C(16)-C(21)	117.8(2)
C(26)-N(3)-C(29)	119.8(2)	N(2)-C(18)-C(19)	118.1(2)
C(27)-N(3)-C(29)	119.2(2)	N(2)-C(18)-C(20)	119.1(2)
C(10)-N(4)-C(11)	121.8(2)	C(19)-C(18)-C(20)	59.9(2)
C(21)-N(5)-C(22)	121.9(2)	C(18)-C(19)-C(20)	60.3(2)
C(32)-N(6)-C(33)	120.9(3)	C(19)-C(20)-C(18)	59.8(2)
O(1)-C(1)-C(5)	124.9(2)	O(8)-C(21)-N(5)	124.0(3)
O(1)-C(1)-C(2)	115.5(2)	O(8)-C(21)-C(16)	119.9(2)
C(5)-C(1)-C(2)	119.3(2)	N(5)-C(21)-C(16)	116.1(2)
O(2)-C(2)-C(3)	124.8(3)	O(5)-C(23)-C(27)	124.7(2)
O(2)-C(2)-C(1)	116.8(2)	O(5)-C(23)-C(24)	115.9(2)
C(3)-C(2)-C(1)	118.4(2)	C(27)-C(23)-C(24)	119.3(2)
C(4)-C(3)-C(2)	121.1(3)	O(6)-C(24)-C(25)	125.3(2)
N(1)-C(4)-C(3)	120.0(2)	O(6)-C(24)-C(23)	116.7(2)
N(1)-C(4)-C(6)	119.6(2)	C(25)-C(24)-C(23)	118.0(2)
C(3)-C(4)-C(6)	120.3(3)	C(26)-C(25)-C(24)	121.4(3)
C(1)-C(5)-N(1)	118.5(2)	C(25)-C(26)-N(3)	119.8(2)
C(1)-C(5)-C(10)	122.0(2)	C(25)-C(26)-C(28)	120.6(3)
N(1)-C(5)-C(10)	118.7(2)	N(3)-C(26)-C(28)	119.6(2)
N(1)-C(7)-C(8)	118.2(3)	C(23)-C(27)-N(3)	120.5(2)
N(1)-C(7)-C(9)	119.6(3)	C(23)-C(27)-C(32)	120.8(2)
C(8)-C(7)-C(9)	60.9(3)	N(3)-C(27)-C(32)	118.3(2)

55		84178		56
N(3)-C(29)-C(31)	119.3(3)	O(9)-C(32)-C(27)	120.8(2)	
N(3)-C(29)-C(30)	118.4(3)	N(6)-C(32)-C(27)	115.4(3)	
C(31)-C(29)-C(30)	60.6(2)	C(2S)-N(1S)-C(1S)	119.6(5)	
C(29)-C(30)-C(31)	59.7(2)	C(2S)-N(1S)-C(3S)	117.8(4)	
C(29)-C(31)-C(30)	59.7(2)	C(1S)-N(1S)-C(3S)	122.5(5)	
O(9)-C(32)-N(6)	123.8(3)	O(1S)-C(2S)-N(1S)	120.9(6)	

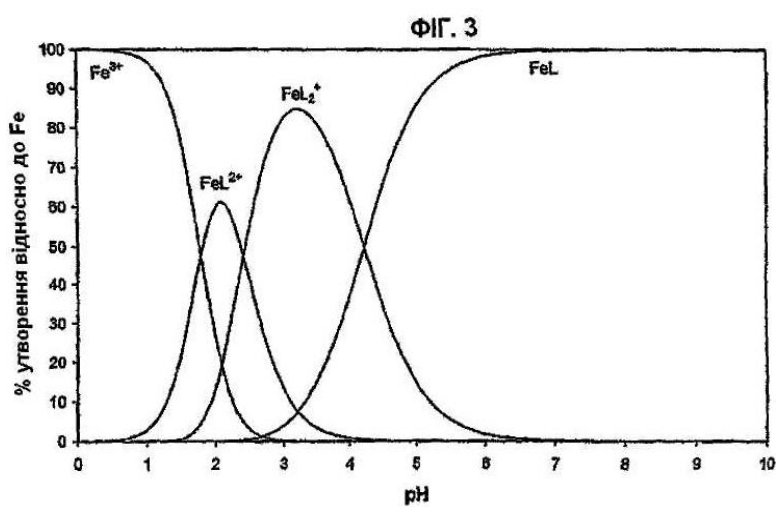
Симетричні трансформації, застосовані для одержання еквівалентних атомів:



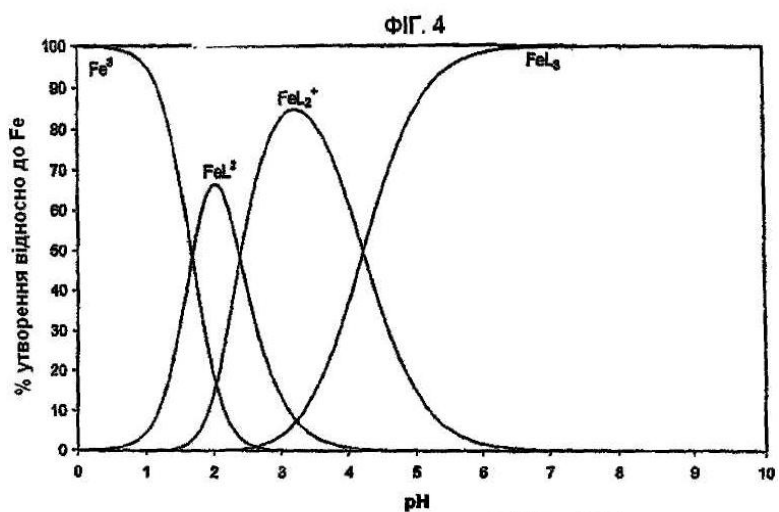
ФІГ. 2



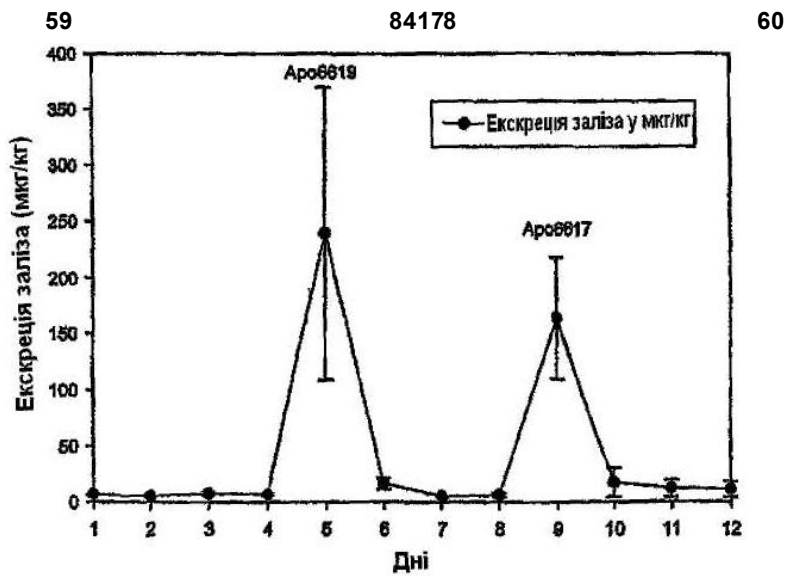
Графік Джоба для Аро6619
 $[\text{Fe}^{3+}]_{\text{total}} + [\text{Аро6619}]_{\text{total}} = 8 \times 10^{-4}$
 Розчинник: 0.1 M MOPS Буфер pH 7.4



Графік видоутворення для Fe^{3+} -Аро6619
 $[\text{Fe}^{3+}]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-5} \text{ M}$, $[\text{Аро6619}]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-5} \text{ M}$

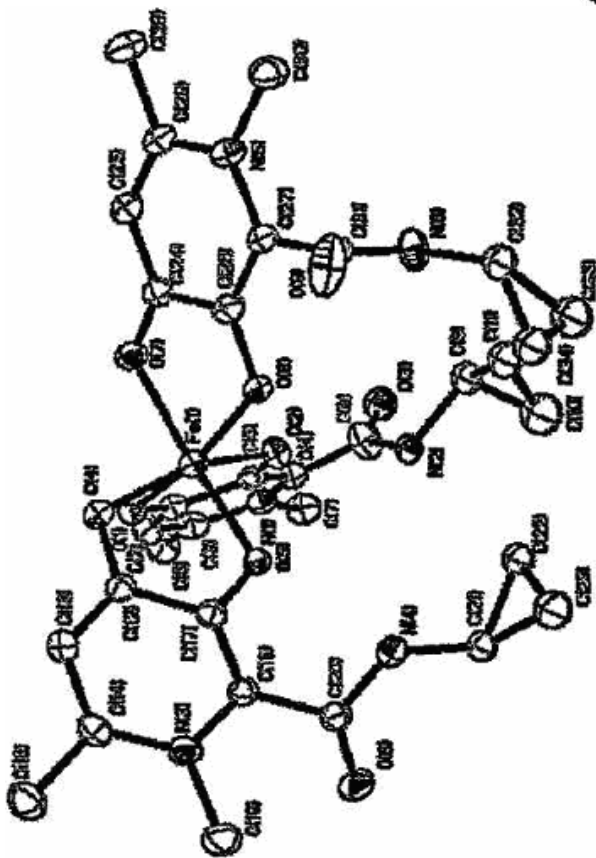


Графік видоутворення для Fe^{3+} -Аро6617
 $[\text{Fe}^{3+}]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-5} \text{ M}$, $[\text{Аро6617}]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-5} \text{ M}$



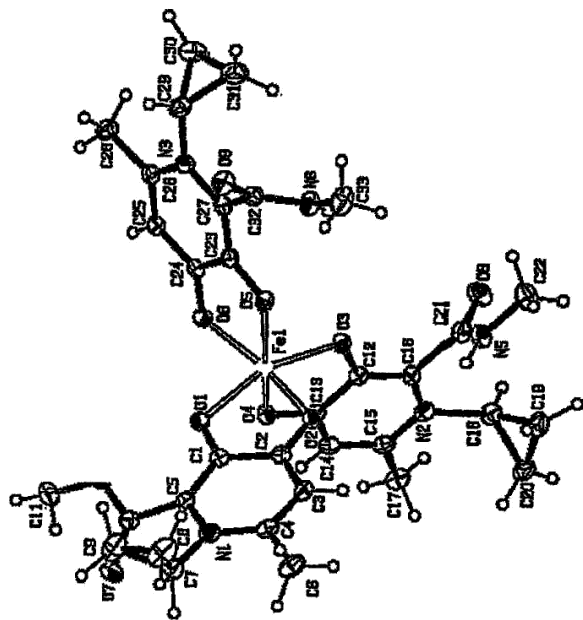
Ефективність Аро6619 і Аро6617 у стимуляції уринарної екскреції заліза

ФІГ. 6



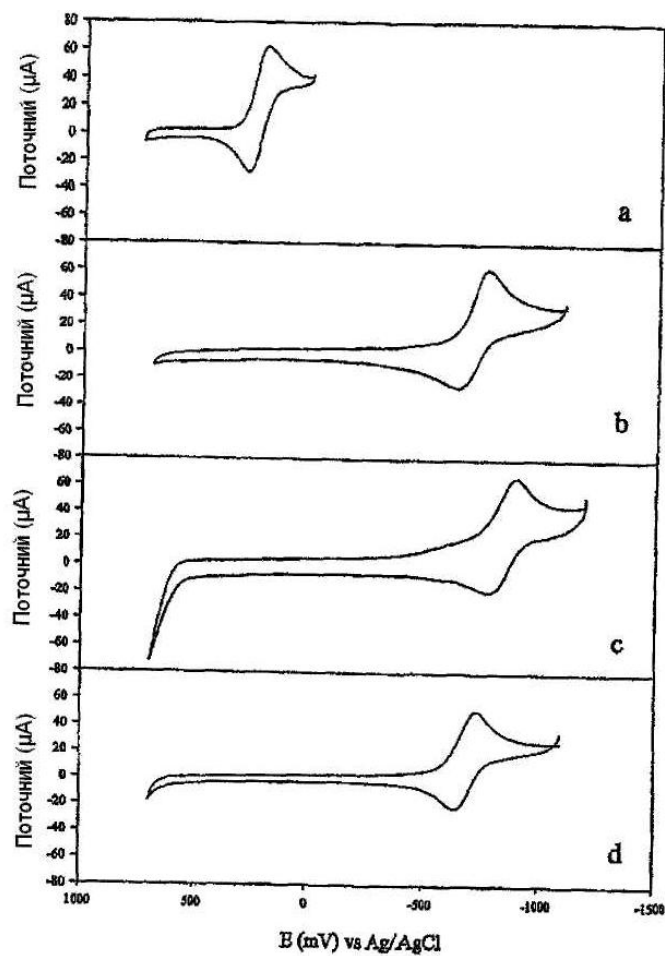
Кристалічна структура Fe (Аро6617)₃

Фіг.7



Єдина кристалічна структура Fe (Аро6619)₃

ФІГ. 8



Циклічна вольтамперограма а. $K_3Fe(CN)_6$; б. Fe-DFO; в. Fe(деферипрон);
 д. Fe(Аро6619)₃ при рН 7.4. $K_3Fe(CN)_6$ застосовують як стандарт
 для обґрунтування результатів

ФІГ. 9