

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ**

**ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ**

ОПИС

ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ПІРИДО(3,2-Е)ПІРАЗИНОНИ, СПОСОБИ ЇХ ОДЕРЖАННЯ, ЛІКАРСЬКИЙ ПРЕПАРАТ ТА СПОСІБ ЙОГО ОДЕРЖАННЯ

1

2

[21] 96020799

(22) 29 02 1996

(24) 15 04 2002

(46) 15 04 2002, Бюл № 4, 2002 р

(31) 195 10 965 1

[32] 24 03 1995

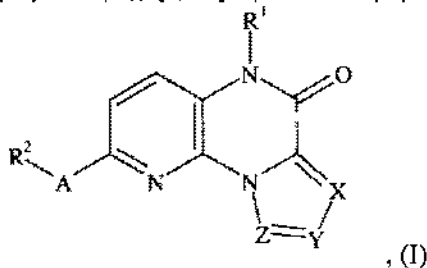
[33] DE

(72) Хьюфген Норберт, DE, Бюхнер Томас, DE, Ахтеррат-Тукерманн Юте, DE, Зелени Штефан, DE, Кутчер Бернхардт, DE

(73) АСТА МЕДИКА АКЦИЕНГЕЗЕЛЬШАФТ, DE

(56) EP-A-0 400 583, 05 12 1990 EP-A-0 584 487,
02 03 1994

(57) 1 Пиридо[3,2-е]пиразиноны формулы (I)



где А соответствует CH_2 , NR^3 или O , X, Y и Z соответствуют N или CR^4 , причем по крайней мере один из X, Y, и Z должен быть N, R^1 представляет собой H (только, когда А соответствует NR^3), а также C_1 - C_{10} -алкил (включая разветвленные), могут быть с одним или несколькими заместителями гидроксид-, C_1 - C_6 -алкокси-, C_1 - C_6 -алкенилокси-, C_1 - C_6 -алкинилокси-, замещенный арил-, замещенный арилокси-, замещенный гетероарил-, замещенный гетероарилокси-, амино- или замещенные аминогруппы, в качестве заместителей могут быть галогены, NO_2 , CN , $\text{C}=\text{OR}^5$ или $\text{S}(\text{O})_n\text{R}^6$ ($n=0-2$), C_1 - C_{10} -алкенил- (включая разветвленные), в качестве заместителей могут содержать одну или несколько групп гидроксид-, C_1 - C_6 -алкокси-, C_1 - C_6 -алкенилокси-, C_1 - C_6 -алкинилокси-, замещенный арил-, замещенный арилокси-, замещенный гетероарил-, замещенный гетероарилокси-, амино- или замещенные аминогруппы, а также в качестве заместителей могут быть галогены, NO_2 , CN , $\text{C}=\text{OR}^5$ или $\text{S}(\text{O})_n\text{R}^6$ ($n=0-2$), C_1 - C_{10} -алкинил- (включая разветвленные), а также в качестве заместителей могут содержать

одну или несколько групп гидроксид-, C₁-C₆-алкокси-, C₁-C₆-алкенилокси-, C₁-C₆-алкинилокси-, замещенный арил-, замещенный арилокси-, замещенный гетероарил-, замещенный гетероарилокси-, амино- или замещенные аминокгруппы, в качестве заместителей могут быть галогены, NO₂, CN, C=OR⁵ или S(O)_nR⁶ (n=0-2), C₅-C₇-циклоалкил-, в качестве заместителей может содержать одну или несколько групп гидроксид-, C₁-C₆-алкокси-, C₁-C₆-алкенилокси-, C₁-C₆-алкинилокси-, замещенный арил-, замещенный арилокси-, замещенный гетероарил-, замещенный гетероарилокси-, амино- или замещенные аминокгруппы, а также в качестве заместителей могут быть галогены, NO₂, CN, C=OR⁵ или S(O)_nR⁶ (n=0-2), R² представляет собой H, C₁-C₁₀-алкил- (включая разветвленные), в качестве заместителей может содержать одну или несколько групп гидроксид-, C₁-C₆-алкокси-, C₁-C₆-алкенилокси-, C₁-C₆-алкинилокси-, замещенный арил-, замещенный арилокси-, замещенный гетероарил-, замещенный гетероарилокси-, амино- или замещенные аминокгруппы, а также в качестве заместителей могут быть галогены, NO₂, CN, C=OR⁵ или S(O)_nR⁶ (n=0-3), C₁-C₁₀-алкенил- (включая разветвленные), в качестве заместителей могут содержать одну или несколько групп гидроксид-, C₁-C₆-алкокси-, C₁-C₆-алкенилокси-, C₁-C₆-алкинилокси-, замещенный арил-, замещенный арилокси-, замещенный гетероарил-, замещенный гетероарилокси-, амино- или замещенные аминокгруппы, в качестве заместителей могут быть галогены, NO₂, CN, C=OR⁵ или S(O)_nR⁶ (n=0-2), C₁-C₁₀-алкинил- (включая разветвленные), в качестве заместителей могут содержать одну или несколько групп гидроксид-, C₁-C₆-алкокси-, C₁-C₆-алкенилокси-, C₁-C₆-алкинилокси-, замещенный арил-, замещенный арилокси-, замещенный гетероарил-, замещенный гетероарилокси-, амино- или замещенную аминокгруппу, в качестве заместителей могут быть галогены, NO₂, CN, C=OR⁵ или S(O)_nR⁶ (n=0-2), C₅-C₇-циклоалкил-, в качестве заместителей может содержать одну или несколько групп гидроксид-, C₁-C₆-алкокси-, C₁-C₆-алкенилокси-, C₁-C₆-алкинилокси-, замещенный арил-, замещенный арилокси-, замещенный гетероарил-, замещенный гетероарилокси-, амино- или замещенные аминокгруппы.

группы, а также в качестве заместителей могут быть галогены, NO_2 , CN , $\text{C}=\text{OR}^5$ или $\text{S}(\text{O})_n\text{R}^6$ ($n=0-2$).

R^3 представляет собой H или $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкил,

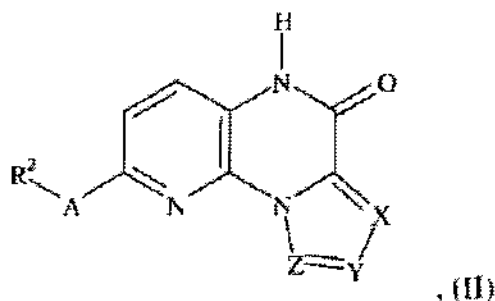
R^4 соответствует H, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -разветвленному алкилу или галогену,

R^5 представляет собой H, разветвленный $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкил, фенил, OH, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -разветвленный алкокси-, замещенный арилокси- или замещенную аминогруппу,

R^6 соответствует H, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкилу, замещенному арилу, OH, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкокси, замещенному арилокси или замещенной аминогруппе,

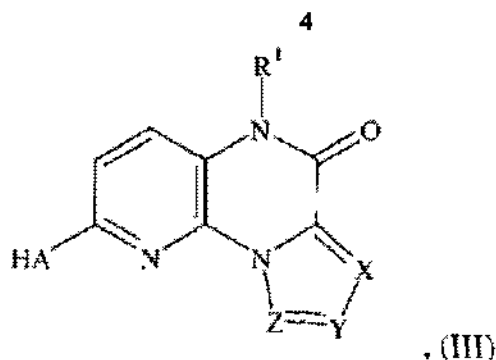
и их физиологически совместимые соли

2 Способ получения пиридо[3,2-е]пипразиновых формулы I, где A, X, Y, Z, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 и R^6 имеют значения по пункту 1, отличающийся тем, что соединения формулы I получают из соединений формулы (II)



где X, Y, Z, A и R^2 имеют значения по пункту 1, проводя реакцию замещения с $\text{R}^1\text{-Hal}$ (Hal =галоген) в присутствии неорганических и органических основных катализаторов, причем R^1 имеет значения по пункту 1

3 Способ получения пиридо[3,2-е]пипразиновых формулы I, где A, X, Y, Z, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 и R^6 имеют значения по пункту 1, отличающийся тем, что соединения формулы I получают из соединений формулы (III)



где A, X, Y, Z, и R^1 имеют значения по пункту 1, проводя реакцию замещения с $\text{R}^2\text{-Hal}$ (Hal =галоген) в присутствии неорганических и органических основных катализаторов, причем R^2 имеет значения по пункту 1

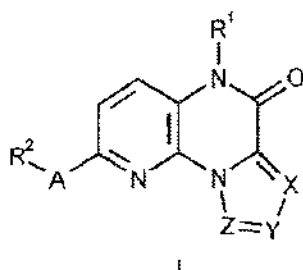
4 Способ по п 2 или 3, отличающийся тем, что основные соединения формулы I переводят в соли

5 Способ по п 2 или 3, отличающийся тем, что кислые соединения формулы I переводят в соли

6 Лекарственный препарат, содержащий активное вещество в смеси с нейтральным физиологически совместимым наполнителем и/или разбавителем, или другим вспомогательным веществом, отличающийся тем, что в качестве активного вещества содержит одно или несколько соединений формулы I

7 Способ получения лекарственного препарата, включающий доведение активного вещества до терапевтически применяемой формы или перевод активного вещества в фармацевтическую форму с использованием фармацевтических наполнителей и/или разбавителей, или других вспомогательных веществ, отличающийся тем, что в качестве активного вещества используют одно или несколько соединений формулы I

Область техники, к которой относится изобретение
Изобретение относится к новым соединениям с формулой



где A соответствует CH_2 , NR^3 или O, X, Y и Z соответствуют N или CR^4 , причем по крайней мере один из X, Y, и Z должен быть N

R^1 представляет собой H (только, когда A соответствует NR^3), а также $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ -алкил (включая разветвленные), могут быть с одним или несколькими заместителями гидрокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкокси-,

$\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкенилокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкинилокси-, замещенный арил-, замещенный арилокси-, замещенный гетероарил-, замещенный гетероарилокси-, amino-, замещенные аминогруппы, в качестве заместителей могут быть галогены, NO_2 , CN , $\text{C}=\text{OR}^5$ или $\text{S}(\text{O})_n\text{R}^6$ ($n = 0-2$), $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ -алкенил- (включая разветвленные), в качестве заместителей могут содержать одну или несколько групп гидрокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкенилокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкинилокси, замещенный арил-, замещенный арилокси-, замещенный гетероарил-, замещенный гетероарилокси-, amino-, замещенные аминогруппы, а также в качестве заместителей могут быть галогены, NO_2 , CN , $\text{C}=\text{OR}^5$ или $\text{S}(\text{O})_n\text{R}^6$ ($n = 0-2$), $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ -алкинил- (включая разветвленные), а также в качестве заместителей могут содержать одну или несколько групп гидрокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкенилокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкинилокси, замещенный арил-, замещенный арилокси-, замещенный гетероарил-, замещенный гетероарилокси-, amino-,

замещенные аминогруппы, в качестве заместителей могут быть галогены, NO_2 , CN , $\text{C}=\text{OR}^5$ или $\text{S}(\text{O})_n\text{R}^6$ ($n=0-2$), $\text{C}_5\text{-C}_7$ - циклоалкил-, в качестве заместителей может содержать одну или несколько групп гидрокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкенилокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкинилокси, замещенный арил-, замещенный арилокси-, замещенный гетероарил-, замещенный гетероарилокси-, амина-, замещенные аминогруппы, а также в качестве заместителей могут быть галогены, NO_2 , CN , $\text{C}=\text{OR}^5$ или $\text{S}(\text{O})_n\text{R}^6$ ($n=0-2$)

R^2 представляет собой H , $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ -алкил- (включая разветвленные), в качестве заместителей может содержать одну или несколько групп гидрокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкенилокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкинилокси, замещенный арил-, замещенный арилокси-, замещенный гетероарил-, замещенный гетероарилокси-, амина- или замещенные аминогруппы, а также в качестве заместителей могут быть галогены, NO_2 , CN , $\text{C}=\text{OR}^5$ или $\text{S}(\text{O})_n\text{R}^6$ ($n=0-3$), $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ -алкил- (включая разветвленные), в качестве заместителей могут содержать одну или несколько групп гидрокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкенилокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкинилокси-, замещенный арил-, замещенный арилокси-, замещенный гетероарил-, замещенный гетероарилокси-, амина-, замещенные аминогруппы, в качестве заместителей могут быть галогены, NO_2 , CN , $\text{C}=\text{OR}^5$ или $\text{S}(\text{O})_n\text{R}^6$ ($n=0-2$), $\text{C}_5\text{-C}_7$ - циклоалкил-, в качестве заместителей может содержать одну или несколько групп гидрокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкенилокси-, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкинилокси, замещенный арил-, замещенный арилокси-, замещенный гетероарил-, замещенный гетероарилокси-, амина-, замещенные аминогруппы, а также в качестве заместителей могут быть галогены, NO_2 , CN , $\text{C}=\text{OR}^5$ или $\text{S}(\text{O})_n\text{R}^6$ ($n=0-2$)

R^3 представляет собой H или $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкил

R^4 соответствует H , $\text{C}_1\text{-C}_6$ - разветвленному алкилу, галогену

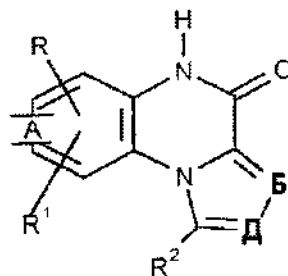
R^5 представляет собой H , $\text{C}_1\text{-C}_6$ - разветвленный алкил, фенил, OH , $\text{C}_1\text{-C}_6$ - разветвленный алкокси-, замещенный арилокси-, замещенную аминогруппу

R^6 соответствует H , $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкилу, замещенному арилу, OH , $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкокси, замещенному арилокси, замещенной аминогруппе

Изобретение относится к физиологически совместимым солям соединений формулы I, к способу получения соединений формулы I и их фармакологическому применению

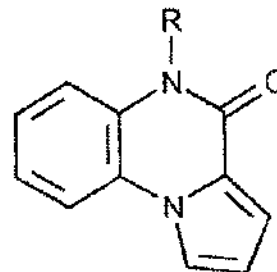
Уровень техники

В европейском патенте 0 400 583 описаны имидазохиноксалины и аза-аналоги с общей формулой



где А означает атом азота или CH , В и Д - атом азота или CH или замещенный атом углерода и R , R^1 и R^2 - атомы водорода или различные органические заместители. Эти соединения обладают положительным инотропным пролонгированным действием

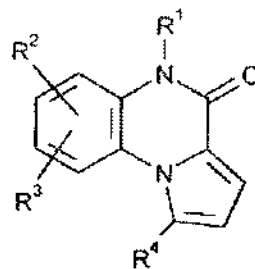
Из публикации (Indian Journal of Chemistry, 10 1972, р 344-350) известен также способ получения соединений с формулой



$\text{R} = -(\text{CH}_2)_n\text{NR}^1\text{R}^2$

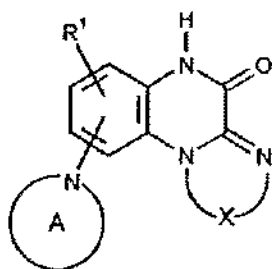
где R может соответствовать 3-диметиламинопропилю-(1), 2-морфолиноэтилю-(1), 2-пирролидиноэтилю-(1) или 2-диметиламиноэтилю. Фармакологическое действие этих соединений не приводится

В европейском патенте 0 584 487 описаны 4,5-дигидро-4-оксо-пирроло [1,2-а]хиноксалин и аза-производные с общей формулой



где R^1 , R^2 , R^3 и R^4 представляют собой ряд органических заместителей. Эти соединения обладают антиаллергенным, антиастматическим, ангиополитическим, сосудорасширяющим и гипотензивным действием, а также положительным инотропным действием, причиной которого является селективное ингибирование фосфодиэстеразы-III (PDE-III)

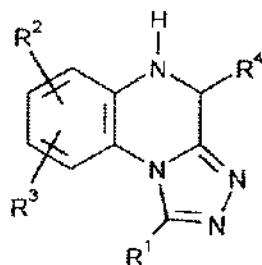
В патентной заявке WO(PCT) 93 20 077 описаны имидазохиноксалины с общей формулой



где A - 5-членный гетероцикл с двумя или тремя атомами азота в кольце, R¹-NO₂ или CF₃, X - различные цепи вплоть до четырех звеньев, частично содержащие азот

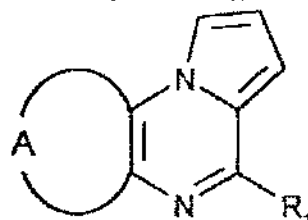
Эти соединения являются антагонистами глутамат-рецептора и обладают психотропным действием, а также антишемиической активностью

В патентных заявках Японии JP 06 128 261 и JP 06 128 262 сообщается о способе получения соединений с общей формулой



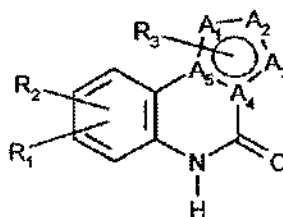
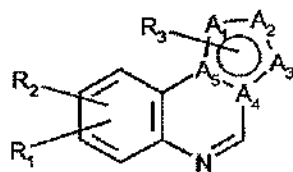
где R¹, R², R³ и R⁴ представляют собой различные органические заместители. Данные о фармакологическом действии отсутствуют

Из европейского патента 0 623 620 известен способ получения соединений с общей формулой



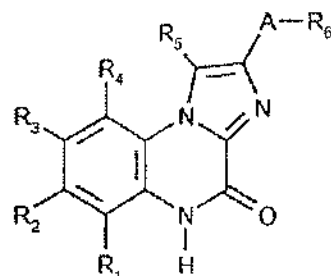
где A - ацилированные ароматические или гетероароматические циклические системы и R₁ - замещенные аминогруппы. Некоторые из этих соединений являются 5HT₃-агонистами

В европейском патенте 0 518 530 приводится способ получения соединений с общими формулами



где R₁, R₂ и R₃ соответствуют различным органическим заместителям, A₁-A₅ - атомы углерода или азота, причем по крайней мере два из них - атомы азота. Эти соединения являются антагонистами рецепторов, возбуждаемых аминокислотами

Из заявки DE 43 29 970 известно о способе получения соединений с общей формулой



где A означает насыщенные или ненасыщенные алкиленовые группы с 1-5 атомами углерода, R₁, R₂, R₃, R₄ и R₅ - различные органические заместители, R₆ - функциональная группа, содержащая карбонильную группу. Эти соединения являются антагонистами рецепторов, возбуждаемых аминокислотами

Изобретение относится к патентуемым соединениям. Согласно изобретению новые соединения обладают фармакологическим действием и прежде всего высокой антиастматической и антиаллергенной активностью, в основе которой лежит селективное ингибирование фосфодиэстеразы PDE IV/V

Целью изобретения является разработка способа получения новых соединений с ценными фармакологическими свойствами. Кроме того, изобретение относится к способам получения новых соединений и их применению

Соединения формулы I, содержащие асимметричный атом углерода, как правило, образуют рацематы и могут быть разделены на оптически активные изомеры с помощью известных способов, например, с применением оптически активной кислоты. Возможно также использовать в качестве исходного материала оптически активное соединение, причем конечный продукт будет содержать соответствующие оптически активные соединения или диастереомеры. Таким образом, в изобретении описаны соединения формулы I, которые содержат асимметричный атом углерода, D-форму, L-форму и смесь D,L-форм, а также, в случае большего количества асимметричных атомов углерода, диастереомерные формы

В зависимости от условий эксперимента и исходных материалов можно получить соединения формулы I как в свободной форме, так и в виде солей. Полученные соли могут быть переведены в свободные основания по известной методике, на-

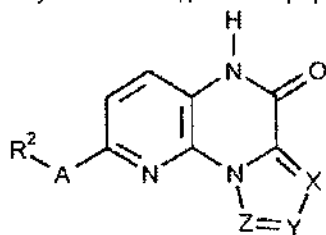
пример, с использованием щелочи или ионообменной хроматографии, и в свободные кислоты с использованием органических и неорганических кислот

Из полученных таким образом соединений формулы I путем их обработки неорганическими и органическими кислотами можно получить соответствующие соли, пригодные для составления лекарственных препаратов

Согласно изобретению, патентуемые соединения пригодны для составления лекарственных форм. Фармацевтические формы могут содержать одно или несколько патентуемых соединений

Для изготовления фармацевтических и лекарственных форм можно использовать общепринятые физиологически совместимые растворители, наполнители и вспомогательные материалы

Согласно изобретению соединения формулы I получают из соединений формулы



II

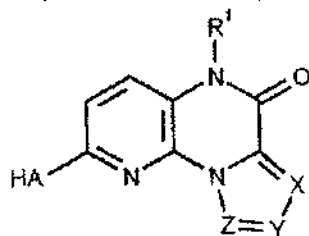
где X, Y, Z, A и R² представляют собой те же заместители, что и в формуле I, проводя реакцию замещения с R¹-Hal, где R¹ имеет те же значения, что и в формуле I, в присутствии органических и неорганических основных катализаторов

Синтез можно проводить как без растворителя, так и с подходящим растворителем или диспергатором. В качестве растворителя или диспергатора, используют, например, ароматические углеводороды, такие как бензол, толуол, ксилол, мезитилен, низшие алифатические кетоны, такие как ацетон, метил этил кетон, диэтилкетон, эфиры, такие как диэтиловый эфир, тетрагидрофуран, диоксан, сульфоксиды, такие как диметилсульфоксид, третичные амиды кислот, такие как диметилформамид, диметилацетамид, тетраметилмочевина, гексаметилфосфотриамид, N-метилпирролидон, галогенсодержащие углеводороды, такие как хлорбензол, дихлорбензол, четыреххлористый углерод, низшие спирты, такие как метанол, этанол, изопропанол, смеси указанных растворителей, а также смеси с водой. Реакцию проводят, например, в интервале температур 20 - 200°C, предпочтительно в интервале 50 - 130°C. Компонент R¹-Hal может содержать Cl, Br и J.

Реакцию проводят предпочтительно в присутствии акцепторов кислот карбонатов щелочных металлов (карбонат натрия, карбонат калия), ацетатов щелочных металлов, гидроксидов щелочных металлов или третичных оснований (триэтиламин, пиридин). В качестве исходных веществ используют предпочтительно соединения формулы II в виде их металлических солей. Преимущественно используют соли щелочных металлов. Соли щелочных металлов получают, например, обработкой гидридами щелочных металлов, амидами щелочных металлов, алкоголями щелочных

металлов или щелочными металлами в растворителе (низший спирт, ароматический углеводород, третичные амиды кислот) или в водной щелочи (например, NaOH)

Согласно изобретению соединения формулы I получают также из веществ формулы



III

где A, X, Y, Z и R¹ представляют собой те же заместители, что и в формуле I, проводя реакцию замещения с R²-Hal, где R² — те же заместители, что и в формуле I, в присутствии органических и неорганических основных катализаторов

Синтез можно проводить как без растворителя, так и с подходящим растворителем или диспергатором. В качестве растворителя или диспергатора, например, используют ароматические углеводороды, такие как бензол, толуол, ксилол, мезитилен, низшие алифатические кетоны, такие как ацетон, метилэтилкетон, диэтилкетон, эфиры, такие как диэтиловый эфир, тетрагидрофуран, диоксан, сульфоксиды, такие как диметилсульфоксид, третичные амиды кислот, такие как диметилформамид, диметилацетамид, тетраметилмочевина, гексаметилфосфотриамид, N-метилпирролидон, галогенсодержащие углеводороды, такие как хлорбензол, дихлорбензол, четыреххлористый углерод, низшие спирты, такие как метанол, этанол, изопропанол, смеси указанных растворителей, а также смеси с водой. Реакцию проводят, например, в интервале температур 20 - 200°C, предпочтительно в интервале 50 - 130°C. Компонент R²-Hal может содержать Cl, Br и J.

Реакцию проводят предпочтительно в присутствии акцепторов кислот карбонатов щелочных металлов (карбонат натрия, карбонат калия), ацетатов щелочных металлов, гидроксидов щелочных металлов или третичных аминов (триэтиламин, пиридин). В качестве исходных веществ используют предпочтительно соединения формулы III в виде их металлических солей. Преимущественно используют соли щелочных металлов. Соли щелочных металлов получают, например, обработкой гидридами щелочных металлов, амидами щелочных металлов, алкоголями щелочных металлов или щелочными металлами в растворителе (низшие спирты, ароматические углеводороды, третичные амиды кислот) или в водной щелочи (например, NaOH).

Новые пиридо[3,2-e]пиазины переводят в соответствующие соли обработкой неорганическими и органическими кислотами в воде и в органических растворителях

Согласно изобретению соединения формулы I и их соли обладают биологической активностью

Согласно изобретению соединения обладают сильным ингибированием фосфодиэстеразы PDE IV и V и сильным действием на предварительно

обработанные гистамином трахеи (морских свинок) *in vitro*, а также значительной активностью *in vivo* на спровоцированную астму, например, на поздней стадии астмы (эозинофилии) у морских свинок

Методики Определение фосфодиэстеразной (PDE) активности

PDE активность определяли по известной методике (Thompson W J, Appleman M M, Assay of cyclic nucleotide phosphodiesterase and resolution of multiple molecular forms of the enzyme *Adv Cycl Nucl Res* 10 69-92 (1979)), модифицированной Баяером (Bauer A C, Schwabe U, An improved assay of cyclic 3',5'-nucleotide phosphodiesterase with QAE Sephadex A-25 Naunyn-Schmiedeberg's *Arch Pharmacol* 311 193-198 (1980)) Реакционная смесь содержит 40mM Трис-HCl (pH 7,4), 5mM MgCl₂, 0,5μM цАМФ или цГМФ, [³H]цАМФ или [³H]цГМФ (приблизительно 20 000имп /мин на одну пробу) и необходимые компоненты для повышения чувствительности по отношению к отдельным изоферментам (см ниже) Конечный объем составляет 200 μl Исследуемые соединения готовят в виде концентрированного (запасного) раствора в диметилсульфоксиде Концентрация диметилсульфоксида в реакционной смеси не более 1% об Такая концентрация диметилсульфоксида не влияет на определение PDE-активности После предварительной инкубации реакционной смеси в течение 5мин при 37°C реакцию начинают, добавляя субстрат (цАМФ или цГМФ) Затем пробы инкубируют в течение 15мин при 37°C Реакцию останавливают добавлением 50μl 0,2 N HCl Пробы охлаждают во льду в течение 10 мин После инкубации реакционной смеси с 25μg 5'-нуклеотидазы (*Crotalus atrox*) в течение 10 мин при 37°C пробы наносят на колонки с OAE-сефадексом-A-25 (Есолог колонки, Bio-Rad) Колонки промывают 2мл 30тМ формиата аммония (pH 6,0) Радиоактивность полученных фракций определяют сцинтилляционным методом

PDE-IV активность (цАМФ-специфичную) определяют по методу Шудта (Schudt C, Winter S, Forderkurz S, Hatzelmann A, Ulrich V, Influence of selective phosphodiesterase inhibitors on human neutrophil functions and levels of camp and Ca Naunyn-Schmiedeberg's *Arch Pharmacol* 344, 682-690 (1991)) с использованием цитозоля полиморфноядерных лейкоцитов человека В качестве субстрата используют цАМФ Активность PDE-III, наличие которой связано с возможным присутствием примесей тромбоцитов, полностью подавляют добавлением метализона (1μM) – специфического ингибитора PDE-III

PDE-V (цГМФ-специфичную) выделяют из тромбоцитов по методу (Schudt C, Winder S, Ukena D, Zardaverine as a selective inhibitor of phosphodiesterase isoenzymes *Biochem Pharmacol* 42 153-162 (1991)) В качестве субстрата используют цГМФ

Действие на трахеи, предварительно обработанные гистамином

Морских свинок обескровливают под наркозом Трахеи отделяют от окружающих тканей и разрезают на пять равных частей (длиной по крайней мере в 3 хрящевых кольца) Полученные

части трахей подвешивают в ванне с питательной средой (Krebs-Henseleit) Величину сокращения кусочков трахей измеряют с помощью динамометра Для уравнивания трахеи выдерживают в питательной среде в течение 15 мин после подвешивания Затем при добавлении изопrenalина (1x10⁻⁷ моль/л) получают трахеи в состоянии полного растяжения Вслед за этим ванну промывают и добавляют раствор метахолина (1x10⁻⁵ моль/л), что приводит к максимальному сокращению трахей После промывки ванны в раствор добавляют гистамин (1x10⁻⁴ моль/л) Через 10мин достигается максимум сокращения Затем в ванну добавляют исследуемые соединения с увеличивающейся концентрацией и снижающую сокращение активность определяют в процентах по отношению к контрольному опыту (необработанные трахеи) Среднюю активность рассчитывают с помощью регрессионного анализа С целью проверки функциональности органов, в конце опыта в ванну еще раз добавляют изопrenalин (1x10⁻⁵ моль/л) и наблюдают способность трахей к растяжению

Определение поздней стадии астмы (эозинофилии) у морских свинок

Самцов морских свинок (250-300г, Pirbright white, Chads River Wiga) сенсибилизируют путем подкожной инъекции (s.c.) овалбумина (10//г + 100 мг гидроксида алюминия) и через две недели проводят повторную сенсибилизацию (10μг + 100мг гидроксида алюминия) Через неделю животных обрабатывают в течение 20 секунд путем аэрозольного распыления 0,5% раствора овалбумина Через 24ч животных усыпляют высокой дозой пентобарбитала и проводят бронхоальвеолярную промывку (BAL) 2x5мл раствором поваренной соли Промывочные растворы собирают и центрифугируют в течение 10 мин Осадок суспендируют в 1 мл физиологического раствора и количество эозинофилов подсчитывают микроскопически в счетной камере с использованием набора Бектона-Дикинсона Число эозинофилов подсчитывают для каждой свинки, затем определяют среднее число для каждой группы животных Подавление эозинофилии исследуемыми соединениями определяют по формуле

$$(A-C)-(B-C)/(A-C) \times 100 = \% \text{ подавления}$$

A = число эозинофилов для контрольной группы животных, необработанных исследуемым соединением, с спровоцированной овалбумином астмой

B = число эозинофилов для группы животных, обработанных исследуемым соединением, с спровоцированной овалбумином астмой

C = число эозинофилов для контрольной группы здоровых животных, необработанных овалбумином

За 2ч до провоцирования астмы аллергеном вводят исследуемые соединения через рот (p.o.) (в 1% метоцеле) или внутривенно (i.v.) (в 0,5% метоцеле) Контрольной группе животных вводят 1% метоцел p.o. или 0,5% метоцел i.v. за 2ч до провоцирования астмы

Ниже приводятся средние величины активности соединения, полученного согласно примеру 1 PDE IV – ингибирование (*in vitro*) IC₅₀ = 0,1 μмоль/л PDE V – ингибирование (*in vitro*) IC₅₀ =

0,095μмоль/л Обработанные гистамином трахеи Ю₅₀ = 0,7μмоль/л Провоцированная овальбумином эозинофилия (морские свинки) 1мг/кг i p 74% подавления

Сведения, подтверждающие возможность осуществления изобретения

Примеры получения соединений формулы I из соединений

формулы II

Пример 1

1-этил-8-метокси-3-метил-5-пропил-имдазо[1,5-а]пиридо[3,2-е]пиазинон

Вариант А

10г (0,038моль)

1-этил-8-метокси-3-метил-имидазо[1,5-

а]пиридо[3,2-е]пиазинона вводят в 200мл диметилформамида. При 20°C добавляют порциями при перемешивании 3г (0,095моль) гидрида натрия (80%-ный). После перемешивания смеси в течение 2 ч прикапывают в течение 15мин н-пропилбромид. Полученный раствор нагревают при перемешивании в течение 2ч при 70-80°C и выдерживают 8ч при 100°C. После охлаждения до 20°C удаляют растворитель в вакууме. Закристаллизовавшийся при этом продукт растирают прежде всего с 150мл теплой воды при температуре раствора около 50°C, а затем перекристаллизовывают из циклогексана. Выход 8,5г (74% от теор.) Температура плавления 136-137°C

Вариант В

10г (0,038моль)

1-этил-8-метокси-3-метил-имидазо[1,5-

а]пиридо[3,2-е]пиазинона добавляют в 200мл диметилацетамида, затем порциями при перемешивании 3г (0,095моль) гидрида натрия (80%-ный) при 20°C. Затем смесь перемешивают в течение 2ч и прикапывают 8,5г (0,07моль) н-пропилбромида в течение 15мин. Полученный раствор перемешивают 15ч при 20-25°C. Затем удаляют растворитель в вакууме. Очистку закристаллизовавшегося продукта проводят, как описано в варианте А. Выход 8,1г (70% от теор.) Температура плавления 135-137°C

Вариант С

10г (0,038моль)

1-этил-8-метокси-3-метил-имидазо[1,5-а]пиридо[3,2-е]пиазинона нагревают в смеси с 6,9г (0,05моль) сухого карбоната калия в 80мл иметилформамида при перемешивании в течение 1 ч при 120°C. Затем прикапывают 8,5г (0,07моль) н-пропилбромида при перемешивании в течение 15мин. Затем реакционную смесь перемешивают в течение 7ч при 120-130°C. После охлаждения отфильтровывают неорганическую соль и из фильтрата удаляют растворитель упариванием в вакууме. Очистку закристаллизовавшегося продукта проводят перекристаллизацией из циклогексана.

Выход 8,0г (69% от теор.)


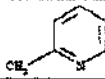
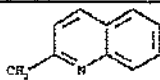
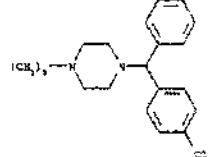
Температура плавления 135-137°C

При использовании указанных вариантов методики можно синтезировать ряд соединений формулы I, характеристика которых приведена ниже (табл.)

Пример	X	Y	Z	A	R1	R2	Вариант	Выход [%]	T-ра плавления [°C]
2	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₃	H	В	92	276 - 278 Этанол
3	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	C ₂ H ₅	H	В	90	157 - 160 Этанол
4	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	C ₃ H ₇	H	В	77	285 Этанол
5	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₃	CH ₃	В	74	173 ДМФ
6	C-CH ₃	N	C-H	O	CH ₃	CH ₃	В	76	254 Этилацетат
7	C-H	N	C-CH ₃	O	CH ₃	CH ₃	В	80	279 ДМФ
8	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	C ₂ H ₅	CH ₃	В	68	146 - 147 ДМФ
9	C-CH ₃	N	C-H	O	C ₂ H ₅	CH ₃	В	67	177 Этилацетат
10	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	C ₄ H ₉	CH ₃	С	54	99 - 102 Циклогексан
11	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	C ₅ H ₁₁	CH ₃	А	33	72 - 74 Циклогексан
12	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	(CH ₂) ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	А	11	113 - 116 Циклогексан
13	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	В	44	166 - 167 Ацетон
14	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	C ₂ H ₄ CaH ₅	CH ₃	С	10	174 - 176 Ацетон
15	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₂ C ₆ H ₄ (2-Cl)	CH ₃	А	58	245 - 246 ДМФ

Пример	X	Y	Z	A	R ¹	R ²	Вариант	Выход [%]	Т-ра плавления [°C]
16	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₂ C ₆ H ₄ (4-Cl)	CH ₃	A	64	201 - 202 ДМФ
17	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₂ C ₆ H ₃ (2,4-di-Cl)	CH ₃	C	17	211 - 213 Ацетон
18	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₂ C ₆ H ₃ (2,6-di-Cl)	CH ₃	A	33	209 - 212 Толуол
19	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₂ C ₆ H ₄ (2-F)	CH ₃	A	51	186 - 187 Этанол
20	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₂ C ₆ H ₄ (4-F)	CH ₃	A	60	189 - 191 ДМФ
21	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₂ C ₆ H ₃ (2-Cl,6-F)	CH ₃	A	26	197 - 200 Ацетон
22	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₂ C ₆ H ₃ (2-CH ₃)	CH ₃	A	50	240 - 242 Толуол
23	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₂ C ₆ H ₄ (4-OCH ₃)	CH ₃	A	61	156 - 158 Этанол
24	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₂ C ₆ H ₂ (3,4,5-tri-OCH ₃)	CH ₃	A	69	191 - 192 Этанол
25	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₂ C ₆ H ₄ (4-OCH ₂ -C ₆ H ₅)	CH ₃	A	54	147 - 149 Этанол
26	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	(CH ₂) ₃ COOC ₂ H ₅	CH ₃	B	57	130 - 132 Изопропанол
27	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	(CH ₂) ₃ COONa	CH ₃	B	65	293 - 295 Этанол
28	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	C ₃ H ₇	C ₂ H ₅	B	67	124 - 126 Этанол
29	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	C ₂ H ₅	CH ₂ COCH ₃	B	70	174 - 176 Этанол

Пример	X	Y	Z	A	R ¹	R ²	Вариант	Выход [%]	Т-ра плавления [°C]
31	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₃	C ₂ H ₅	B	97	216 ДМФ
32	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	A	43	132 - 134 Изопропанол
33	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₃	CH ₂ COCH ₃	B	61	174 - 175 Этанол
34	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₃	(CH ₂) ₃ COCH ₃	B	22	142 - 143 Этанол
35	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	C ₂ H ₅	(CH ₂) ₂ CH ₂ OH	B	24	140 - 142 Изопропанол
36	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	C ₂ H ₅	(CH ₂) ₂ CH ₂ SO ₃ H	B	67	336 - 337 Изопропанол
37	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₃	(CH ₂) ₂ COOH	B	37	233 - 235 Изопропанол
38	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	C ₂ H ₅	(CH ₂) ₃ COOH	B	70	165 Этанол
39	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₃	(CH ₂) ₃ COOC ₂ H ₅	B	94	140 - 141 ДМФ
40	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	C ₂ H ₅	(CH ₂) ₃ COOC ₂ H ₅	B	17	78 Этанол
41	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	C ₂ H ₅	(CH ₂) ₃ CON(CH ₃)C ₆ H ₁₁	B	11	133 - 135 Этилацетат
42	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	B	70	165 ДМФ
43	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	C ₂ H ₅	CH ₂ C ₆ H ₅	B	27	147 - 148 Изопропанол
44	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₄ (4-F)	B	67	223 Изопропанол

Пример	X	Y	Z	A	R1	R2	Вариант	Выход [%]	Т-ра плавления [°C]
45	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	C ₂ H ₅	CH ₂ C ₆ H ₄ (4-F)	B	52	148 - 150 Изопропанол
46	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₂ C ₆ H ₂ (3,4,5-tri-OCH ₃)	CH ₂ C ₆ H ₂ (3,4,5-tri-OCH ₃)	A	52	172 - 174 Циклогексан
47	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	NH	H	CH ₂ C ₆ H ₅	B	40	276 - 278 Этанол
48	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₃		B	9	173 - 175 Изопропанол
49	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₃		B	3	184 - 186 Этанол
50	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	CH ₃		B	18	237 - 239 ДМФ
51	C-CH ₃	N	C-C ₂ H ₅	O	C ₂ H ₅		A	13	54 - 56 Циклогексан

Примеры получения соединений формулы I из соединений

формулы III

Пример 30

8-циклопентилокси-1-этил-3-метил-5-пропил-имидазо[1,5-а]пиридо[3,2-е]-пиазинон

Вариант А

3,2г (0,011моль)

1-этил-8-гидрокси-3-метил-имидазо[1,5-а]пиридо[3,2-е]-пиазинона добавляют к 60мл диметилформамида. Затем при 20°C порциями при перемешивании добавляют 0,9г (0,03моль) гидрида натрия (80%-ный). После перемешивания реакционной смеси в течение 2ч прикалывают 2,1г (0,02моль) циклопентилхлорида в течение 15мин. Полученный раствор нагревают при перемешивании в течение 2ч при 70-80°C и далее выдерживают в течение 8ч при 100°C. После охлаждения до 20°C растворитель удаляют упариванием в вакууме. Закристаллизовавшийся продукт растирают с 50мл теплой воды (около 50 °C) и затем перекристаллизовывают из этилацетата. Выход 3,0г (77% от теор.) Температура плавления 138-140°C.

Вариант В

3,2г (0,011моль)

1-этил-8-гидрокси-3-метил-имидазо[1,5-а]пиридо[3,2-е]-пиазинона добавляют к 60мл диметилформамида. Затем при 20°C порциями при перемешивании добавляют 0,9г (0,03моль) гидрида натрия (80%-ный). После перемешивания реакционной смеси в течение 2ч прикалывают 2,1г (0,02моль) циклопентилхлорида в течение 15мин. Полученный раствор нагревают при перемешивании в течение 2ч при 70-80°C и далее выдерживают в течение 8ч при 100°C. После охлаждения до 20°C растворитель удаляют упариванием в вакууме. Очистку закристаллизовавшегося продукта проводят как указано в варианте А. Выход 2,7г (70% от теор.) Температура плавления 138-140°C.

При использовании указанных вариантов методики можно синтезировать ряд соединений формулы I, характеристика которых приведена в таблице.

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)

вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна

(044) 456 - 20 - 90

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»

вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна

(044) 216 - 32 - 71