

Дана заявка є частковим продовженням і по ній запитується пріоритет на основі заявок на патент США №09/728316, поданої 1 грудня 2000р., 09/728607, поданої 1 грудня 2000р., і 09/728616, поданої 1 грудня 2000р., кожна з яких включена в даний опис як посилання у всій своїй повноті.

У даній заявці згадуються сполуки, які специфічно зв'язуються з i) A_1 аденозиновими рецепторами (як наприклад, крім іншого, стор. 3-61, 104-142 і 199-280); ii) A_{2a} аденозиновими рецепторами (як наприклад, крім іншого, стор. 142-159 і стор. 221-224) і A_3 аденозиновими рецепторами (як наприклад, крім іншого, стор. 160-199 і 225-229).

Аденозин являє собою широко поширений модулятор численних видів фізіологічної активності, зокрема у серцево-судинній і нервовій системах. Виявляється, що дія аденозину опосередковується специфічними рецепторними білками поверхні клітини. Аденозин модулює різні фізіологічні функції, включаючи індукування седативної дії, розширення судин, придушення частоти серцевих скорочень і скорочуваності серця, інгібування агрегації тромбоцитів, стимулювання глюконеогенезу та інгібування ліполізу. Було показано, що в доповнення до його дії на аденілатциклазу, аденозин відкриває калієві канали, зменшує потік через кальцієві канали та інгібує або стимулює фосфоінозитидний оборот за допомогою рецептор-опосередкованих механізмів (дивись, наприклад, "C.E.Muller and B.Stein Adenosine Receptor Antagonists: Structures and Potential Therapeutic Applications", *Current Pharmaceutical Design* 2:501 (1996) і "C.E.Muller Adenosine Receptor Antagonists", *Exp. Opin. Ther. Patents* 7(5): 419 (1997)).

Аденозинові рецептори належать до надсімейства пуринових рецепторів, які в цей час поділяють на P_1 і (аденозин) і P_2 (АТФ, АДФ та інші нуклеотиди) рецептори. До цього часу з різних видів, включаючи людину, було клоновано чотири підтипи рецепторів для аденозинового нуклеозиду. Два підтипи рецепторів (A_1 і A_{2a}) виявляють спорідненість до аденозину в наномолярному діапазоні, тоді як два інших відомих підтипи A_{2b} і A_3 є рецепторами з низькою спорідненістю до аденозину в нижньому мікромольному діапазоні. Активація A_1 і A_3 аденозинового рецептора може приводити до інгібування активності аденілатциклази, тоді як активація A_{2a} і A_{2b} викликає стимуляцію аденілатциклази.

Для лікування порушення пізнавальної здатності, ниркової недостатності і серцевої аритмії було розроблено декілька A_1 антагоністів. Було висловлене припущення, що A_{2a} антагоністи можуть виявитись сприятливими для пацієнтів, страждаючих від паркінсонізму (хвороба Паркінсона). Зокрема, беручи до уваги здатність до місцевої доставки, антагоністи аденозинового рецептора можуть виявитись цінними для лікування алергічного запалення і астми. Доступна інформація (наприклад, "Nyce & Metzger DNA antisense Therapy for Asthma in an Animal Model", *Nature* (1997) 385: 721-5) вказує, що в даному патофізіологічному контексті A_1 антагоністи можуть блокувати скорочення гладкої мускулатури, яка лежить під дихальним епітелієм, тоді як антагоністи A_{2b} або A_3 рецептора можуть блокувати дегрануляцію тучних клітин, зменшуючи вивільнення гістаміну та інших запальних медіаторів. A_{2b} рецептори були виявлені у шлунково-кишковому тракті, особливо в епітелії прямої кишки і тонкого кишечника. Було висловлене припущення, що A_{2b} рецептори опосередковують цАМФ реакцію у відповідь (Strohmeier et al., *J.Bio.Chem.* (1995) 270:2387-94).

Також було показано, що аденозинові рецептори існують на сітківці різних видів ссавців, включаючи велику рогату худобу, свиню, мавпу, щура, морську свинку, мишу, кролика і людину (дивись, Blazynski et al., *Discrete Distributions of Adenosine Receptors in mammalian Retina*, *Journal of Neurochemistry*, volume 54, pages 648-655 (1990); Woods et al., *Characterization of Adenosine A₁ Receptor binding Sites in Bovine Retinal Membranes*, *Experimental Eye Research*, volume 53, pages 325-331 (1991); і Braas et al., *Endogenous adenosine and adenosine receptors localized to ganglion cells of the retina*, *Proceedings of the National Academy of Science*, volume 84, pages 3906-3910 (1987)). Нещодавно повідомлялось про результати спостережень аденозинових транспортних сайтів у культивованій клітинній лінії сітківки людини (Williams et al., *Nucleoside Transport Sites in a Cultures Human Retinal cell Line Established by SV-40 T Antigen gene*, *Current Eye Research*, volume 13, pages 109-118 (1994)).

Сполуки, які регулюють поглинання аденозину, раніше були запропоновані як потенційні терапевтичні агенти для лікування пошкодження сітківки і головного зорового нерва. У патенті США 5780450, виданому Shade, автор обговорює застосування інгібіторів поглинання аденозину для лікування очних захворювань. Shade не описує застосування специфічних інгібіторів A_3 рецептора. Повний зміст патенту США №5780450 включений у даний опис як посилання.

Як фармакологічні інструменти необхідні додаткові антагоністи аденозинових рецепторів, і вони представляють суттєвий інтерес як лікарські засоби для згаданих вище хворобливих станів і/або захворювань.

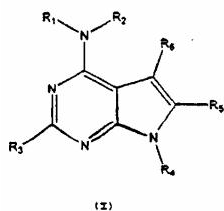
Даний винахід відноситься до сполук, які селективно зв'язуються з A_1 -аденозиновим рецептором, виліковуючи таким чином захворювання, пов'язане з A_1 -аденозиновим рецептором, у суб'єкта при введенні суб'єкту терапевтично ефективної кількості таких сполук. Захворювання, що піддається лікуванню, пов'язане з порушенням пізнавальної здатності, нирковою недостатністю, серцевою аритмією, дихальним епітелієм, вивільненням трансмітерів, седативною дією, звуженням кровоносних судин, брадикардією, негативною серцевою інотропією і дромотропією, бронхостенозом, нейтрофільним хемотаксисом, рефлюксом або виразковим захворюванням.

Даний винахід оснований, принаймні частково, на тому факті, що деякі N-6 заміщені 7-дезазапурини, описані нижче, можна використати для лікування хворобливого стану, що дає реакцію у відповідь на N-6 заміщений 7-дезазапурин. Приклади таких станів включають ті, в яких підвищена активність аденозинових рецепторів, наприклад, бронхіт, шлунково-кишкові захворювання або астма. Такі стани можуть бути охарактеризовані тим, що активація аденозинового рецептора може вести до інгібування або стимуляції активності аденілатциклази. Композиції і способи винаходу включають енантіомерно або діастереомерно чисті N-6 заміщені 7-дезазапурини. Переважні N-6 заміщені 7-дезазапурини включають ті, які містять фрагменти ацетаміду, карбоксаміду, заміщеного циклогексилу, наприклад, циклогексанол, або сечовини, приєднані до N-6 азоту через алкіленовий ланцюг.

Даний винахід відноситься до способів модулювання аденозинового рецептора(ів) у ссавця шляхом введення ссавцеві терапевтично ефективної кількості N-6 заміщеного 7-дезазапурину таким чином, що відбувається модуляція активності аденозинового рецептора. Відповідні аденозинові рецептори включають

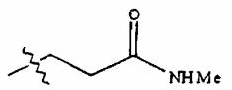
сімейство A₁, A₂ і A₃. У переважному варіанті здійснення N-6 заміщений 7-дезазапурин є антагоністом аденозинового рецептора.

Крім того, винахід відноситься до способів лікування захворювань, що дають реакцію у відповідь на N-6 заміщені 7-дезазапурины, наприклад, астми, бронхіту, алергічного риніту, хронічного обструктивного захворювання легень, ниркових захворювань, шлунково-кишкових захворювань і очних захворювань у ссавця шляхом введення ссавцеві терапевтично ефективної кількості N-6 заміщеного 7-дезазапурина, таким чином, що відбувається лікування захворювання у ссавця. Відповідні N-6 заміщені 7-дезазапурины включають ті, які проілюстровані загальною формулою I:



і їх фармацевтично прийнятні солі. Кожний з R₁ і R₂ незалежно являє собою атом водню або заміщений або незаміщений алкільний, арильний або алкіларильний фрагмент, або вони разом утворюють заміщене або незаміщене гетероциклічне кільце. R₃ являє собою заміщений або незаміщений алкільний, арильний або алкіларильний фрагмент. R₄ являє собою атом водню або заміщений або незаміщений алкільний, арильний або алкіларильний фрагмент. Кожний з R₅ і R₆ незалежно являє собою атом галогену, наприклад, хлор, фтор або бром, атом водню або заміщений або незаміщений алкільний, арильний або алкіларильний фрагмент, або R₅ являє собою карбоксил, складні ефіри карбоксилу або карбоксаміди, або R₄ і R₅, або R₅ і R₆ разом утворюють заміщене або незаміщене гетероциклічне або карбоциклічне кільце.

У деяких варіантах здійснення кожний з R₁ і R₂ незалежно може являти собою заміщені або незаміщені циклоалкільні або гетероарилалкільні фрагменти. У інших варіантах здійснення R₃ являє собою атом водню або заміщений або незаміщений гетероарильний фрагмент. Ще в інших варіантах здійснення кожний з R₄, R₅ і R₆ незалежно може являти собою гетероарильний фрагмент. У переважному варіанті здійснення R₁ являє собою атом водню, R₂ являє собою циклогексанол, наприклад, транс-циклогексанол, R₃ являє собою феніл, R₄ являє собою атом водню, R₅ являє собою метильну групу і R₆ являє собою метильну групу. В іншому варіанті здійснення R₁ являє собою атом водню, R₂ являє собою



R₃ являє собою феніл, R₄ являє собою атом водню, R₅ і R₆ являють собою метильні групи.

Винахід додатково відноситься до фармацевтичних композицій для лікування станів, що дають реакцію у відповідь на N-6 заміщені 7-дезазапурины, у ссавців, наприклад, астми, бронхіту, алергічного риніту, хронічного обструктивного захворювання легень, ниркових захворювань, шлунково-кишкових захворювань і очних захворювань. Фармацевтична композиція включає терапевтично ефективну кількість N-6 заміщеного 7-дезазапурина і фармацевтично прийняттого носія.

Даний винахід також відноситься до упакованих фармацевтичних композицій для лікування станів, що дають реакцію у відповідь на N-6 заміщені 7-дезазапурины, у ссавців. Упаковані фармацевтичні композиції включають контейнер, що містить терапевтично ефективну кількість принаймні одного N-6 заміщеного 7-дезазапурина, та інструкції з використання N-6 заміщеного 7-дезазапурина для лікування станів, що дають реакцію у відповідь на N-6 заміщені 7-дезазапурины, у ссавців.

Далі винахід відноситься до сполук формули I, де

R₁ являє собою водень;

R₂ являє собою заміщений або незаміщений циклоалкіл, заміщений або незаміщений алкіл, або R₁ і R₂ разом утворюють заміщене або незаміщене гетероциклічне кільце;

R₃ являє собою незаміщений або заміщений арил;

R₄ являє собою водень; і

кожний з R₅ і R₆ незалежно являє собою водень або алкіл, і їх фармацевтично прийнятних солей. Дезазапурины даного варіанту здійснення можуть переважно бути селективними антагоністами A₁ рецептора. Дані сполуки можуть виявитись корисними для множини терапевтичних застосувань, як, наприклад, лікування астми, ниркової недостатності, пов'язаної з серцевою недостатністю, і глаукоми. В особливо переважному варіанті здійснення дезазапурин являє собою розчинні у воді проліки, які здатні метаболізувати in vivo в активний лікарський засіб, наприклад, за допомогою гідролізу, який каталізується естеразою.

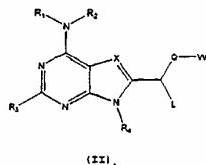
Ще в одному варіанті здійснення, винахід відноситься до способу інгібування активності аденозинового рецептора (наприклад, A₃) у клітині шляхом контактування клітини з N-6 заміщеним 7-дезазапурином (наприклад, переважно антагоністом аденозинового рецептора).

В іншому аспекті винахід відноситься до способу лікування пошкодження ока у ссавця (наприклад, людини) шляхом введення тварині ефективної кількості N-6 заміщеного 7-дезазапурина формули I. Переважно N-6 заміщений 7-дезазапурин є антагоністом A₃ аденозинових рецепторів у клітинах ссавців. Пошкодження відноситься до сітківки або зорового головного нерва і може бути гострим або хронічним. Пошкодження може бути результатом, наприклад, глаукоми, набряку, ішемії, гіпоксії або травми.

Винахід також відноситься до фармацевтичної композиції, що включає N-6 заміщену сполуку формули I. Переважно фармацевтичний препарат являє собою офтальмологічну композицію (наприклад, композицію

для періокулярної, ретробульбарної або внутрішньоочної ін'єкції, системну композицію і хірургічний зрошувальний розчин).

Ще в одному варіанті здійснення винахід відноситься до сполуки, що має формулу II:



де X являє собою N або CR₆; кожний з R₁ і R₂ незалежно являє собою водень або заміщений або незаміщений алкокси, аміноалкіл, алкіл, арил або алкіларил, або разом вони утворюють заміщене або незаміщене гетероциклічне кільце, за умови, що обидва R₁ і R₂ не є воднем; R₃ являє собою заміщений або незаміщений алкіл, арилалкіл або арил; R₄ являє собою водень або заміщений або незаміщений C₁-C₆ алкіл; L являє собою водень, заміщений або незаміщений алкіл, або R₄ і L разом утворюють заміщене або незаміщене гетероциклічне або карбоциклічне кільце; R₆ являє собою водень, заміщений або незаміщений алкіл, або галоген; Q являє собою CH₂, O, S або NR₇, де R₇ являє собою водень або заміщений або незаміщений C₁-C₆ алкіл; і W являє собою незаміщений або заміщений алкіл, циклоалкіл, арил, арилалкіл, біарил, гетероарил, заміщений карбоніл, заміщений тіокарбоніл або заміщений сульфоніл; за умови, що якщо R₃ являє собою піролідіно, то R₄ не є метилом. Винахід також включає фармацевтично прийнятні солі і проліки сполук за винаходом.

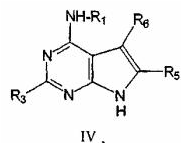
У переважному варіанті здійснення X являє собою CR₆, і Q являє собою CH₂, O, S або NH у формулі II, де R₆ є таким, як визначено вище.

В іншому варіанті здійснення формули II, X являє собою N.

Винахід додатково відноситься до способу інгібування активності аденозинового рецептора (наприклад, A_{2b}-аденозинового рецептора) в клітині при контактуванні клітини зі сполукою за винаходом. Переважно сполука є антагоністом рецептора.

Винахід також відноситься до способу лікування шлунково-кишкового захворювання (наприклад, діареї) або захворювання дихальних шляхів (наприклад, алергічного риніту, хронічного обструктивного захворювання легень) у тварини шляхом введення тварині ефективної кількості сполуки формули II (наприклад, антагоніста A_{2b}). Переважно тварина являє собою людину.

Відмітною особливістю винаходу також є сполука, що має структуру:



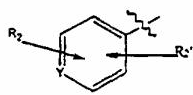
де R₁ являє собою транс-4-гідроксициклогексил, 2-метиламінокарбоніламіноциклогексил, 2-метиламінокарбоніламіноциклогексил, ацетамідоетил або метиламінокарбоніламіноетил;

де R₃ являє собою заміщене або незаміщене чотирьох-шестичленне кільце;

де R₅ являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, арил, арилалкіл, аміно, заміщений арил, де вказаний заміщений алкіл являє собою-C(R₇)(R₈)XR₉, де X являє собою O, S або NR₁₀, де кожний з R₇ і R₈ незалежно являє собою N або алкіл, де кожний з R₉ і R₁₀ незалежно являє собою алкіл або циклоалкіл, або R₉, R₁₀ і азот разом утворюють заміщене або незаміщене кільце, що містить 4-7 членів;

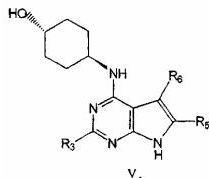
де R₆ являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, циклоалкіл; або фармацевтично прийнятна сіль, або пролікарське похідне, або біологічно активний метаболіт; за умови, що коли R₁ являє собою ацетиламіноетил, R₃ не є 4-піридиллом.

В одному варіанті здійснення сполуки R₃ являє собою феніл, пірол, тіофен, фуран, тiazол, імідазол, піразол, 1, 2,4-триазол, піридин, 2(1H)-піридон, 4(1H)-піридон, піразин, піримідин, піридазин, ізотіазол, ізоксазол, оксазол, тетразол, нафталін, тетралін, нафтиридин, бензофуран, бензотіофен, індол, 2,3-дигідроіндол, 1H-індол, індолін, бензопіразол, 1,3-бензодіоксол, бензоксазол, пурин, кумарин, хромон, хінолін, тетрагідрохінолін, ізохінолін, бензімідазол, хіназолін, піридо[2,3-b]піразин, піридо[3,4-b]піразин, піридо[3,2-c]піридазин, піридо[3,4-b]піридин, 1H-піразол[3,2-d]піримідин, птеридин, 2(1H)-хінолон, 1(2H)-ізохінолон, 1,4-бензізоксазин, бензотіазол, хіноксалін, хінолін-N-оксид, ізохінолін-N-оксид, хіноксалін-N-оксид, хіназолін-N-оксид, бензоксазин, фталазин, цинолін або має структуру:



де Y являє собою вуглець або азот;

де R₂ і R_{2'} незалежно являють собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений арил, галоген, метокси, метиламіно або метилтіо. Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:



де R_3 являє собою арил, заміщений арил або гетероарил;

де R_6 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл або циклоалкіл; де R_5 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, арил, арилалкіл, аміно, заміщений арил, де вказаний заміщений алкіл являє собою $-C(R_7)(R_8)NR_9R_{10}$, де кожний з R_7 і R_8 являє собою N або алкіл, де кожний з R_9 і R_{10} являє собою алкіл або циклоалкіл, або R_9 , R_{10} і азот разом утворюють кільцеву систему, що містить 4-7 членів.

Даний винахід також відноситься до способу інгібування активності A_1 -аденозинового рецептора в клітині, що включає контактування вказаної клітини з вищезгаданими сполуками.

Відмітні особливості та інші подробиці винаходу тепер будуть описані більш конкретно і відображені у формулі винаходу. Потрібно розуміти, що конкретні варіанти здійснення винаходу наведені як ілюстрація, а не обмеження винаходу. Принципові відмітні особливості даного винаходу можуть бути використані у різних варіантах здійснення, не відступаючи від об'єму винаходу.

Даний винахід відноситься до способів лікування станів, що дають реакцію у відповідь на N-6-заміщений 7-дезазапурин у ссавця. Способи включають введення ссавцеві терапевтично ефективною кількості N-6 заміненого 7-дезазапурина, описаного нижче, так що відбувається лікування стану у ссавця, що дає реакцію у відповідь на N-6-заміщений 7-дезазапурин.

Вираз «стан, що дає реакцію у відповідь на N-6-заміщений 7-дезазапурин», призначений для позначення хворобливого стану або захворювання, яке відрізняється реакцією у відповідь на лікування N-6 заміненим 7-дезазапурином за винаходом, як описано нижче, наприклад, лікування включає значне зменшення принаймні одного симптому або наслідку хворобливого стану, що досягається з використанням N-6 заміненого 7-дезазапурина за винаходом. Звичайно, такі стани пов'язані із збільшенням кількості аденозину у хазяїна, так що хазяїн часто переживає фізіологічні симптоми, які включають, але не обмежуються цим, вивільнення токсинів, запалення, кому, затримку води, набирання ваги або втрату ваги, панкреатит, емфізему, ревматоїдний артрит, остеоартрит, множинне ураження органів, дитячий або дорослий респіраторний дистрес-синдром, алергічний риніт, хронічне обструктивне захворювання легень, очні захворювання, шлунково-кишкові захворювання, стимулювання шкірних новоутворень, імунodefіцит і астма (дивись, наприклад, "C.E.Muller and B.Stein Adenosine Receptor Antagonists: Structures and Potential Therapeutic Applications", Current Pharmaceutical Design, 2:501 (1996) і "C.E.Muller A_1 -Adenosine Receptor Antagonists", Exp.Opin.Ther.Patents 7(5):419 (1997), і I.Feoktistov, R.Polosa, S.T.Holgate і "I.Biaggioni Adenosine A_{2b} receptors: a novel therapeutic target in Asthma TIPS 19: 148 91998)). Дія, часто пов'язана з такими симптомами, включає, але не обмежується цим, жар, нестачу дихання, нудоту, діарею, слабкість, головний біль і навіть смерть. В одному варіанті здійснення хворобливий стан, що дає реакцію у відповідь на N-6 замінений 7-дезазапурин, включає ті захворювання, які опосередковані стимуляцією аденозинових рецепторів, наприклад, A_1 , A_{2a} , A_{2b} , A_3 і т.д., таких, при яких модулюється концентрація кальцію у клітинах і/або активація PLC (фосфоліпази C). У переважному варіанті здійснення хворобливий стан, що дає реакцію у відповідь на N-6 замінений 7-дезазапурин, пов'язаний з аденозиновим(ими) рецептором(ами), наприклад, N-6 замінений 7-дезазапурин діє як антагоніст. Приклади відповідних таких, що дають реакцію у відповідь, станів, які можна лікувати за допомогою сполук за винаходом, наприклад, підтипів аденозинових рецепторів, які опосередковують біологічну дію, включають дію на центральну нервову систему (ЦНС), серцево-судинну дію, ниркову дію, дихальну дію, імунологічний дію, шлунково-кишкову дію і метаболічну дію. Відносна кількість аденозину у суб'єкта може бути пов'язана з перерахованою нижче дією; тобто підвищені рівні аденозину можуть ініціювати дію, наприклад, небажану фізіологічну реакцію у відповідь, наприклад, приступ астми.

Дія на ЦНС включає знижене вивільнення трансмітера (A_1), седативну дію (A_2), знижену рухову активність (A_{2a}), протисудомну активність, стимуляцію хеморецептора (A_2) і гіпералгізію. Терапевтичне застосування сполук винаходу включає лікування недоумства, хвороби Альцгеймера і поліпшення пам'яті.

Серцево-судинна дія включає розширення судин (A_{2a}), (A_{2b}) і (A_3), звуження судин (A_1), брадикардію (A_1), інгібування тромбоцитів (A_{2a}) негативну серцеву інотропію і дромотропію, аритмію, тахікардію і ангіогенез. Терапевтичне застосування сполук винаходу включає, наприклад, профілактику індукованого ішемією пошкодження серця і стимуляцію діяльності серця, захист тканин міокарда і відновлення функції серця.

Ниркова дія включає знижену швидкість клубочкової фільтрації (A_1), мезангіальне скорочення клітин (A_1), антидіурез (A_1) та інгібування вивільнення реніну (A_1). Відповідні терапевтичні застосування сполук за винаходом включають застосування сполук, що пропонуються як діуретики, натрійуретики, препаратів при калієвій недостатності, для захисту нирок/профілактики гострої ниркоподібної недостатності, антигіпертензивного, протинабряклого і протинефритного агентів.

Респіраторна дія включає розширення бронхів (A_2), звуження бронхів (A_1), хронічне обструктивне захворювання легень, алергічний риніт, слизові виділення і утискування дихання (A_2). Відповідні терапевтичні застосування сполук за винаходом включають протиастматичні застосування, лікування захворювання легень після трансплантації і респіраторних захворювань.

Імунологічна дія включає придушення імунітету (A_2), нейтрофільний хемотаксис (A_1), нейтрофільне генерування супероксиду (A_{2a}) і дегрануляцію тучних клітин (A_{2b} і A_3). Терапевтичне застосування антагоністів включає алергічне і неалергічне запалення, наприклад, вивільнення гістаміну та інших запальних медіаторів.

Шлунково-кишкова дія включає інгібування виділення кислоти (A_1), терапевтичне застосування може включати рефлюкс і виразкові захворювання. Шлунково-кишкова дія також включає захворювання прямої

кишки, тонкого кишечника і діарею, наприклад, діарею, пов'язану із запаленням кишечника (A_{2b}).

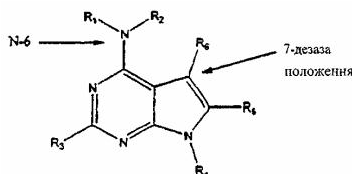
Очні захворювання включають захворювання, пов'язані з пошкодженням і травмою сітківки і головного зорового нерва (A_3). У переважному варіанті здійснення очне захворювання являє собою глаукому.

Інші терапевтичні застосування сполук за винаходом включають лікування ожиріння (ліполітичні властивості), підвищений тиск, лікування депресії, седативну, нейролептичну дію, і дію як протилепопрозні і проносні засоби, що, наприклад, впливають на рухливість, але не викликають діарею.

Мається на увазі, що термін «хворобливий стан» включає ті стани, які викликані або пов'язані з небажаними рівнями аденозину, активністю аденілілциклази, підвищеною фізіологічною активністю, пов'язаною з аномальною стимуляцією аденозинових рецепторів і/або підвищенням цАМФ. В одному варіанті здійснення хворобливий стан являє собою, наприклад, астму, хронічне обструктивне захворювання легень, алергічний риніт, бронхіт, ниркові захворювання, шлунково-кишкові захворювання або очні захворювання. Додаткові приклади включають хронічний бронхіт і циститний фіброз. Відповідні приклади запальних захворювань включають нелімфоцитну лейкемію, ішемію міокарда, стенокардію, інфаркт, церебрально-васкулярну ішемію, переміжну кульгавість, критичне недокрів'я кінцівок, венозну гіпертензію, варикозне захворювання вен, виразкове захворювання вен і артеріосклероз. Погіршені реперфузійні стани включають, наприклад, будь-яку постхірургічну травму, як наприклад при відновній хірургії, тромболізі і ангіопластиці.

Мається на увазі, що вираз «лікування стану, що дає реакцію у відповідь на N-6 заміщений 7-дезазапурин», або «проведення курсу лікування стану, що дає реакцію у відповідь на N-6 заміщений 7-дезазапурин», включає такі зміни у захворюванні або хворобливому стані, як описано вище, що фізіологічні симптоми у ссавця можуть бути значно зменшені або зведені до мінімуму. Вираз також включає контролювання, профілактику або інгібування фізіологічних симптомів або дій, пов'язаних з аномальною кількістю аденозину. В одному переважному варіанті здійснення, контролювання захворювання або хворобливого стану полягає у викорінюванні захворювання або хворобливого стану. В іншому переважному варіанті здійснення, контролювання є селективним таким чином, що контролюються аномальні рівні активності аденозинового рецептора, тоді як інші фізіологічні системи і параметри не зачіпаються.

Мається на увазі, що термін «N-6 заміщені 7-дезазапурини» є загальноприйнятим в даній області і включає сполуки, які мають формулу I:



«N-заміщений 7-дезазапурин» включає його фармацевтично прийнятні солі і, в одному варіанті здійснення, також включає деякі описані тут N-6 заміщені пурини.

У деяких варіантах здійснення N-6 заміщений 7-дезазапурин не є N-6 бензил або N-6 фенілетил заміщеним. В інших варіантах здійснення R₄ не є бензил або фенілетил заміщеним. У переважних варіантах здійснення обидва R₁ і R₂ не є атомами водню. Ще в інших переважних варіантах здійснення R₃ не є атомом водню.

Вираз «терапевтично ефективна кількість» N-6 заміщеного 7-дезазапурину, описаного нижче, являє собою таку кількість терапевтичної сполуки, яка є необхідною або достатньою для виконання призначеної функції в організмі ссавця, наприклад, для лікування стану, що дає реакцію у відповідь на N-6-заміщений 7-дезазапурин, або захворювання у ссавця. Ефективна кількість терапевтичної сполуки може змінюватись відповідно до таких факторів як кількість збудника захворювання, вже присутнього у ссавці, вік, стать і вага ссавця і здатність терапевтичних сполук за даним винаходом впливати на стан, що дає реакцію у відповідь на N-6-заміщений 7-дезазапурин, у ссавця.

Звичайний фахівець в даній області буде здатний дослідити вищезгадані фактори і визначити ефективну кількість терапевтичної сполуки без надмірного експериментування. Для визначення «ефективної кількості» описаних вище терапевтичних сполук також можна використати аналіз *in vitro* або *in vivo*. Звичайний фахівець вибере відповідну кількість терапевтичної сполуки для використання у вищезгаданому аналізі або як терапевтичне лікування.

Терапевтично ефективна кількість переважно зменшує принаймні один симптом або дію, пов'язану зі станом, що дає реакцію у відповідь на N-6 заміщений 7-дезазапурин, або із захворюванням, що піддається лікуванню, принаймні приблизно на 20% (більш переважно принаймні приблизно на 40%, ще більш переважно принаймні приблизно на 60% і ще більш переважно принаймні приблизно на 80%) у порівнянні з суб'єктом, що не піддається лікуванню. Фахівцем в даній області можуть бути розроблені аналізи для вимірювання зниження таких симптомів і/або дій. Мається на увазі, що будь-який відомий в даній області аналіз, здатний вимірювати такі параметри, включений як частина даного винаходу. Наприклад, якщо астма є станом, що піддається лікуванню, то об'єм повітря, що витрачається легенями суб'єкта, може бути виміряний до і після лікування збільшення об'єму з використанням відомих методик в даній області. Аналогічно, якщо запалення є станом, що піддається лікуванню, то площа, яка запалена, може бути виміряна до і після лікування для вимірювання зменшення запаленої площі з використанням відомих методик в даній області.

Термін «клітина» включає як прокаріотичні, так і еукаріотичні клітини.

Термін «тварина» включає будь-який організм, що містить аденозинові рецептори, або будь-який організм, сприйнятливий до стану, що дає реакцію у відповідь на N-6 заміщений 7-дезазапурин. Приклади тварин включають дріжджі, ссавців, рептилій і птахів. Термін також включає трансгенних тварин.

Термін «ссавець» є загальноприйнятим в даній області, і, мається на увазі, що він включає тварину, більш переважно теплокровну тварину, найбільш переважно велику рогату худобу, овець, свиней, коней,

собак, кішок, щурів, мишей і людей. Ссавці, сприйнятливі до стану, що дає реакцію у відповідь на N-6 заміщений 7-дезазапурин, наприклад, до запалення, емфіземи, астми, захворювання центральної нервової системи або гострого респіраторного дистрес-синдрому, включені як частина даного винаходу.

В іншому аспекті даний винахід охоплює способи модулювання аденозинового рецептора(ів) у ссавця шляхом введення ссавцеві терапевтично ефективної кількості N-6 заміщеного 7-дезазапурина, таким чином, що відбувається модулювання аденозинового рецептора у ссавця. Відповідні аденозинові рецептори включають сімейство A₁, A₂ або A₃. У переважному варіанті здійснення N-6 заміщений 7-дезазапурин є антагоністом аденозинового рецептора.

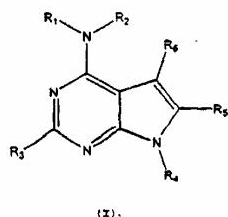
Мається на увазі, що вираз «модулювання аденозинового рецептора» включає ті випадки, де сполука взаємодіє з аденозиновим рецептором(ами), викликаючи підвищену, знижену або аномальну фізіологічну активність, пов'язану з аденозиновим рецептором або подальшими каскадними ефектами, що є результатом модулювання аденозинового рецептора. Фізіологічна активність, пов'язана з аденозиновими рецепторами, включає індукування заспокоєння, розширення судин, придушення частоти серцевих скорочень, інгібування агрегації тромбоцитів, стимуляцію глюконеогенезу, інгібування ліполізу, розкриття кальцієвих каналів, зменшення потоку через кальцієві канали і т.д.

Мається на увазі, що терміни «модулювати», «що модулює» і «модулювання» включають запобігання, корекцію або інгібування одержаного зростання небажаної фізіологічної активності, пов'язаної з аномальною стимуляцією аденозинового рецептора, наприклад, в контексті терапевтичних способів за винаходом. В іншому варіанті здійснення термін «модулювання» включає антагоністичні ефекти, наприклад, зменшення активності або продукування алергічних медіаторів і алергічного запалення, яке виникає при понадстимуляції аденозинового рецептора(ів). Наприклад, терапевтичні дезазапурины за винаходом можуть взаємодіяти з аденозиновим рецептором для інгібування, наприклад, активності аденілатциклази.

Мається на увазі, що вираз «стан, який характеризується аномальною активністю рецептора» включає ті захворювання, порушення або хворобливі стани, які пов'язані з аномальною стимуляцією аденозинового рецептора, в яких стимуляція рецептора викликає біохімічний або фізіологічний ланцюг подій, які безпосередньо або непрямо пов'язані із захворюванням, порушенням або хворобливим станом. Така стимуляція аденозинового рецептора не повинна бути єдиною причиною захворювання, порушення або хворобливого стану, але є тільки відповідальною за виклик деяких симптомів, типово пов'язаних із захворюванням, порушенням або хворобливим станом, що піддається лікуванню. Аномальна стимуляція рецептора може бути єдиним фактором або щонайменше один інший агент може бути включений у стан, що піддається лікуванню. Приклади станів включають ті захворювання, які перераховані раніше, включаючи запалення, шлунково-кишкові захворювання і ті симптоми, які виявляються через підвищену активність аденозинового рецептора. Переважні приклади включають ті симптоми, які пов'язані з астмою, алергічним ринітом, хронічним обструктивним захворюванням легень, емфіземою, бронхітом, шлунково-кишковими захворюваннями і глаукомою.

Мається на увазі, що вираз «проведення курсу лікування або лікування стану, який характеризується аномальною активністю аденозинового рецептора» включає ослаблення або зменшення вияву принаймні одного симптому, пов'язаного із захворюванням. Лікування також включає полегшення або зменшення вияву більше ніж одного симптому. Переважно, лікування виліковує, наприклад, по суті виключає симптоми, пов'язані із захворюванням.

Даний винахід відноситься до сполуки, N-6 заміщених 7-дезазапуринів, що мають формулу I:



де кожний з R₁ і R₂ незалежно являє собою атом водню або заміщений або незаміщений алкільний, арильний або алкіларильний фрагмент, або вони разом утворюють заміщене або незаміщене гетероциклічне кільце; R₃ являє собою атом водню або заміщений або незаміщений алкільний, арильний або алкіларильний фрагмент; R₄ являє собою атом водню або заміщений або незаміщений алкільний, арильний або алкіларильний фрагмент. Кожний з R₅ і R₆ незалежно являє собою атом галогену, наприклад, хлор, фтор або бром, атом водню або заміщений або незаміщений алкільний, арильний або алкіларильний фрагмент, або R₄ і R₅, або R₅ і R₆ разом утворюють заміщене або незаміщене гетероциклічне або карбоциклічне кільце. Також включені фармацевтично прийнятні солі N-6 заміщених 7-дезазапуринів.

У деяких варіантах здійснення кожний з R₁ і R₂ незалежно може являти собою заміщений або незаміщений циклоалкільний або гетероарилалкільний фрагмент. В іншому варіанті здійснення R₃ являє собою атом водню або заміщений або незаміщений гетероарильний фрагмент. Ще в інших варіантах здійснення кожний з R₄, R₅ і R₆ може незалежно являти собою гетероарильний фрагмент.

В одному варіанті здійснення R₁ являє собою атом водню, R₂ являє собою заміщений або незаміщений циклогексановий, циклопентильний, циклобутильний або циклопропановий фрагмент, R₃ являє собою заміщений або незаміщений фенільний фрагмент, R₄ являє собою атом водню, і обидва R₅ і R₆ являють собою метил.

В іншому варіанті здійснення R₂ являє собою циклогексанол, циклогександіол, циклогексилсульфонамід, циклогексанамід, циклогексильовий складний ефір, циклогексен, циклопентанол або циклопентандіол, і R₃ являє собою фенільний фрагмент.

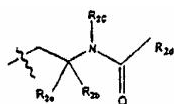
Ще в одному варіанті здійснення R₁ являє собою атом водню, R₂ являє собою циклогексанол, R₃ являє

собою заміщений або незаміщений фенільний, піридиновий, фурановий, цикlopентановий або тіофеновий фрагмент, R_4 являє собою атом водню, заміщений алкільний, арильний або арилалкільний фрагмент, кожний з R_5 і R_6 незалежно являє собою атом водню або заміщений або незаміщений алкільний, арильний або алкіларильний фрагмент.

Ще в одному варіанті здійснення R_1 являє собою атом водню, R_2 являє собою заміщений або незаміщений алкіламін, ариламін або алкілариламін, заміщений або незаміщений алкіламід, ариламід або алкіларилсульфонамід, заміщений або незаміщений алкілсульфонамід, арилсульфонамід або алкіларилсульфонамід, заміщений або незаміщений алкілсечовину, арилсечовину або алкіларилсечовину, заміщений або незаміщений алкілкарбамат, арилкарбамат або алкіларилкарбамат, заміщений або незаміщений алкілкарбонову кислоту, арилкарбонову кислоту або алкіларилкарбонову кислоту, R_3 являє собою фенільний фрагмент, R_4 являє собою атом водню, і R_5 і R_6 являють собою метильні групи.

У наступному варіанті здійснення R_2 являє собою гуанідин, модифікований гуанідин, ціаногуанідин, тіосечовину, тіоамід або амідин.

В одному варіанті здійснення R_2 може являти собою

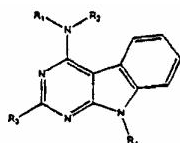


де R_{2a} - R_{2c} кожний незалежно являють собою атом водню або насичений або ненасичений алкільний, арильний або алкіларильний фрагмент, і R_{2d} являє собою атом водню або насичений або ненасичений алкіл, арильний або алкіларильний фрагмент, $NR_{2e}R_{2f}$ або OR_{2g} , де R_{2e} - R_{2g} кожний незалежно являє собою атом водню або насичений або ненасичений алкільний, арильний або алкіларильний фрагменти. Альтернативно, R_{2a} і R_{2b} можуть разом утворювати карбоциклічне або гетероциклічне кільце, що має розмір кільця від 3 до 6 членів, наприклад, циклопропільну, цикlopентильну, циклогексильну групи.

В одному аспекті винаходу обидва R_5 і R_6 не є метильними групами, переважно один з R_5 і R_6 являє собою алкільну групу, наприклад, метильну групу, а інший є атомом водню.

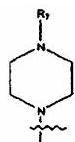
В іншому аспекті винаходу, коли R_4 являє собою 1-фенілетил, і R_1 являє собою атом водню, тоді R_3 не є фенілом, 2-хлорфенілом, 3-хлорфенілом, 4-хлорфенілом, 3,4-дихлорфенілом, 3-метоксифенілом або 4-метоксифенілом, або коли R_4 і R_1 являють собою 1-фенілетил, тоді R_3 не є атомом водню, або коли R_4 являє собою атом водню, і R_3 являє собою феніл, тоді R_1 не є фенілетилом.

В іншому аспекті винаходу, коли R_5 і R_6 разом утворюють карбоциклічне кільце, наприклад,



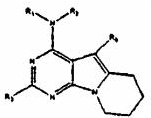
або піримідо[4,5-*b*]індол, тоді R_3 не є фенілом, коли R_4 являє собою 1-(4-метилфеніл)етил, фенілізопропіл, феніл або 1-фенілетил, або R_3 не є атомом водню, коли R_4 являє собою 1-фенілетил. Карбоциклічне кільце, утворене R_5 і R_6 , може бути або ароматичним, або аліфатичним і може містити від 4 до 12 атомів вуглецю, наприклад, нафтил, фенілциклогексил і т.д., переважно від 5 до 7 атомів вуглецю, наприклад, цикlopентил або циклогексил. Альтернативно, R_5 і R_6 разом можуть утворювати гетероциклічне кільце, таке як такі, що обговорюються нижче. Типові гетероциклічні кільця включають від 4 до 12 атомів вуглецю, переважно від 5 до 7 атомів вуглецю і може бути або ароматичним, або аліфатичним. Гетероциклічне кільце може бути додатково заміщеним, включаючи заміщення біля одного або декількох атомів вуглецю кільцевої структури, що містить один або декілька гетероатомів.

Ще в одному аспекті винаходу, R_1 і R_2 утворюють гетероциклічне кільце. Ілюстративні приклади включають, але не обмежуються цим, перераховані нижче гетероциклічні кільця, такі як морфоліно, піперазин і тому подібні, наприклад, 4-гідроксипіперидини, 4-амінопіперидини. Коли R_1 і R_2 разом утворюють піперазино групу,



то R_7 може являти собою атом водню або заміщений або незаміщений алкільний, арильний або алкіларильний фрагмент.

Ще в одному аспекті винаходу, R_4 і R_5 разом можуть утворювати гетероциклічне кільце, наприклад,



де гетероциклічне кільце може бути або ароматичним або аліфатичним і можуть утворювати кільце, що містить від 4 до 12 атомів вуглецю, наприклад, нафтил, фенілциклогексил і т.д. і може бути або

ароматичним, або аліфатичним, наприклад, циклогексил, цикlopентил.

Гетероциклічне кільце може бути додатково заміщеним, включаючи заміщення біля атомів вуглецю кільцевої структури, що містить один або декілька гетероатомів. Альтернативно, R_4 і R_5 разом можуть утворювати гетероциклічне кільце, таке як такі, що обговорюються нижче.

У деяких варіантах здійснення N-6 заміщений 7-дезазапурин не є N-6-бензил або N-6-фенілетилзаміщеним. У інших варіантах здійснення R_4 не є бензил- або фенілетил-заміщеним. У переважних варіантах здійснення обидва R_1 і R_2 не є атомами водню. Ще в інших переважних варіантах здійснення R_3 не є H.

Сполуки винаходу можуть включати водорозчинні проліки, які описані у W099/33815, Міжнародній заявці на патент № PCT/US98/04595, поданій 9 березня, 1998 року і опублікованій 8 липня 1999. Повний зміст W099/33815 спеціально включений в даний опис як посилання. Водорозчинні проліки метаболізують *in vivo* до активного лікарського засобу, наприклад, за допомогою каталізованого естеразою гідролізу. Приклади потенційних проліків включають дезазапурины, в яких, наприклад, R_2 являє собою циклоалкіл, заміщений $-C(O)(Z)NH_2$, де Z є бічним ланцюгом природної або синтетичної амінокислоти або її аналога, α -, β -, γ - або ω -амінокислоти або дипептиду. Переважні бічні ланцюги включають бічні ланцюги гліцину, аланіну, валіну, лейцину, ізолейцину, лізину, α -метилаланіну, аміноциклопропанкарбонової кислоти, азетидин-2-карбонової кислоти, β -аланіну, γ -амінобутанової кислоти, аланін-аланіну або гліцин-аланіну.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до дезазапуринів формули (I), де R_1 являє собою водень; R_2 являє собою заміщений або незаміщений циклоалкіл, заміщений або незаміщений алкіл, або R_1 і R_2 разом утворюють заміщене або незаміщене гетероциклічне кільце; R_3 являє собою незаміщений або заміщений арил; R_4 являє собою водень, і кожний з R_5 і R_6 незалежно являє собою водень або алкіл, і їх фармацевтично прийнятних солей. Дезазапурины даного варіанту здійснення потенційно можуть бути селективними антагоністами A_3 рецептора.

В одному варіанті здійснення R_2 являє собою заміщений (наприклад, гідроксизаміщений) або незаміщений циклоалкіл. У переважному варіанті здійснення R_1 і R_4 являють собою водень, R_3 являє собою незаміщений або заміщений феніл, і кожний з R_5 і R_6 являє собою алкіл. Переважно R_2 являє собою моно-гідроксициклопентил або моно-гідроксициклогексил. R_2 також може бути заміщений групою $-NH-C(O)E$, де E являє собою заміщений або незаміщений C_1 - C_4 алкіл (наприклад, алкіламін, наприклад, етиламін).

Також R_1 і R_2 разом можуть утворювати заміщене або незаміщене гетероциклічне кільце, яке може бути заміщене аміном або ацетамідом групою.

В іншому аспекті, R_2 може являти собою $-A-NH-C(O)B$, де A являє собою незаміщений C_1 - C_4 алкіл (наприклад, етил, пропіл, бутіл), і B являє собою заміщений або незаміщений C_1 - C_4 алкіл (наприклад, метил, аміноалкіл, наприклад, амінометил або аміноетил, алкіламіно, наприклад, метиламіно, етиламіно), переважно, коли R_1 і R_4 являють собою водень, R_3 являє собою незаміщений або заміщений феніл, і кожний з R_5 і R_6 являє собою алкіл. B може являти собою заміщений або незаміщений циклоалкіл, наприклад, циклопропіл або 1-аміноциклопропіл.

В іншому варіанті здійснення R_3 може являти собою заміщений або незаміщений феніл, переважно, коли кожний з R_5 і R_6 являє собою алкіл. Переважно R_3 може містити один або декілька замісників (наприклад, o-, m- або p-хлорфеніл, o-, m- або p-фторфеніл).

Переважно, R_3 може являти собою заміщений або незаміщений гетероарил, переважно, коли кожний з R_5 і R_6 являє собою алкіл. Приклади гетероарильних груп включають піридил, піримідил, піридазиніл, піразиніл, піроліл, триазоліл, тіазоліл, оксазоліл, оксадіазоліл, фураніл, метилendioксифеніл і тіофеніл. Переважно, R_3 являє собою 2-піридил, 3-піридил, 4-піридил, 2-піримідил або 3-піримідил.

Переважно в одному варіанті здійснення кожний з R_5 і R_6 являє собою водень. В іншому варіанті здійснення кожний з R_5 і R_6 являє собою метил.

В особливо переважному варіанті здійснення дезазапурины за винаходом являють собою розчинні у воді проліки, які можуть метаболізувати *in vivo* до активного лікарського засобу, наприклад, за допомогою каталізованого естеразою гідролізу. Переважно проліки включають R_2 групу, яка заміщена у циклоалкілі- $OC(O)(Z)NH_2$, де Z являє собою бічний ланцюг природної або синтетичної амінокислоти, її аналога, α -, β -, γ - або ω -амінокислоти або дипептиду. Приклади переважних бічних ланцюгів включають бічні ланцюги гліцину, аланіну, валіну, лейцину, ізолейцину, лізину, α -метилаланіну, аміноциклопропанкарбонової кислоти, азетидин-2-карбонової кислоти, β -аланіну, γ -амінобутанової кислоти, аланін-аланіну або гліцин-аланіну.

В особливо переважному варіанті здійснення Z являє собою бічний ланцюг гліцину, R_2 являє собою циклогексил, R_3 являє собою феніл, і R_5 і R_6 являють собою метил.

В іншому варіанті здійснення дезазапурин являє собою 4-(цис-3-гідроксициклопентил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин.

В іншому варіанті здійснення дезазапурин являє собою сіль трифтороцтової кислоти 4-(цис-3-(2-аміноацетокси)циклопентил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідину.

В іншому варіанті здійснення дезазапурин являє собою 4-(3-ацетамід)піперидиніл-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин.

В іншому варіанті здійснення дезазапурин являє собою 4-(2-N'-метилуреапропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин.

В іншому варіанті здійснення дезазапурин являє собою 4-(2-ацетамідобутил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин.

В іншому варіанті здійснення дезазапурин являє собою 4-(2-N'-метилуреабутил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин.

В іншому варіанті здійснення дезазапурин являє собою 4-(2-амшоциклопропілацетамідоетил)аміно-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин.

В іншому варіанті здійснення дезазапурин являє собою 4-(транс-4-гідроксициклогексил)аміно-2-(3-хлорфеніл)-7H-піроло[2,3-d]піримідин.

В іншому варіанті здійснення дезазапурин являє собою 4-(транс-4-гідроксициклогексил)аміно-2-(3-

фторфеніл)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин.

В іншому варіанті здійснення дезазапурин являє собою 4-(транс-4-гідроксициклогексил)аміно-2-(4-піридил)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин.

Ще в одному варіанті здійснення винахід відноситься до способу інгібування активності аденозинового рецептора (наприклад, $A_{1, A_{2a}}, A_{2b}$ або переважно A_3) у клітині контактуванням клітини з N-6 заміщеним 7-дезазапурином (наприклад, переважно, з антагоністом аденозинового рецептора).

В іншому аспекті винахід відноситься до способу лікування пошкодження ока у тварини (наприклад, людини) введенням тварині ефективною кількістю N-6 заміщеного 7-дезазапурину. Переважно N-6 заміщений 7-дезазапурин є антагоністом A_3 аденозинових рецепторів у клітинах тварин. Пошкодження відноситься до сітківки або головного зорового нерва і може бути гострим або хронічним. Пошкодження може бути результатом, наприклад, глаукоми, набряку, ішемії, гіпоксії або травми.

У переважному варіанті здійснення винахід відноситься до дезазапурину, що має формулу II, див. вище, де X являє собою N або CR_6 ; кожний з R_1 і R_2 незалежно являє собою водень або заміщений або незаміщений алкокси, аміноалкіл, алкіл, арил або алкіларил, або разом вони утворюють заміщене або незаміщене гетероциклічне кільце, за умови, що обидва R_1 і R_2 не є воднем; R_3 являє собою заміщений або незаміщений алкіл, арилалкіл або арил; R_4 являє собою водень або заміщений або незаміщений C_1-C_6 алкіл; L являє собою водень, заміщений або незаміщений алкіл, або R_4 і L разом утворюють заміщене або незаміщене гетероциклічне або карбоциклічне кільце; R_6 являє собою водень, заміщений або незаміщений алкіл, або галоген; Q являє собою CH_2 , O, S або NR_7 , де R_7 являє собою водень або заміщений або незаміщений C_1-C_6 алкіл; i W являє собою незаміщений або заміщений алкіл, циклоалкіл, алкініл, арил, арилалкіл, біарил, гетероарил, заміщений карбоніл, заміщений тіокарбоніл або заміщений сульфоніл, за умови, що якщо R_3 являє собою піролідіно, то R_4 не є метилом.

В одному варіанті сполуки формули II, X являє собою CR_6 , i Q являє собою CH_2 , O, S або NH. В іншому варіанті здійснення X являє собою N.

У наступному варіанті сполук формули II, W являє собою заміщений або незаміщений арил, 5- або 6-членний гетероарил або біарил. W може бути заміщений одним або декількома замісниками. Приклади замісників включають: галоген, гідрокси, алкокси, аміно, аміноалкіл, амінокарбоксамід, CN, CF_3 , CO_2R_8 , $CONHR_8$, COR_8R_9 , SOR_8 і $SO_2NR_8R_9$, де кожний з R_8 і R_9 незалежно являє собою водень або заміщений або незаміщений алкіл, циклоалкіл, арил або арилалкіл. Переважно, W може являти собою заміщений або незаміщений феніл, наприклад, метилендіоксифеніл. W також може являти собою заміщене або незаміщене 5-членне гетероарильне кільце, наприклад, пірол, піразол, оксазол, імідазол, триазол, тетразол, фуран, тіофен, тіазол і оксадіазол. Переважно W може являти собою 6-членне гетероарильне кільце, наприклад, піридил, піримідил, піридазиніл, піразиніл і тіофеніл. У переважному варіанті здійснення W являє собою 2-піридил, 3-піридил, 4-піридил, 2-піримідил, 4-піримідил або 5-піримідил.

В одному переважному варіанті сполук формули II, Q являє собою NH, i W являє собою 3-піразольне кільце, яке є незаміщеним або N-заміщеним або не заміщеним алкілом, циклоалкілом, арилом або арилалкілом.

В іншому варіанті сполук формули II, Q являє собою кисень, i W являє собою 2-тіазольне кільце, яке є незаміщеним або заміщеним або не заміщеним алкілом, циклоалкілом, арилом або арилалкілом.

В іншому варіанті сполук формули II, W являє собою заміщений або незаміщений алкіл, циклоалкіл, наприклад, циклопентил або арилалкіл. Приклади замісників включають галоген, гідрокси, заміщений або незаміщений алкіл, циклоалкіл, арил, арилалкіл або NHR_{10} , де R_{10} являє собою водень або заміщений або незаміщений алкіл, циклоалкіл, арил або арилалкіл. Ще в одному варіанті здійснення винахід відноситься до дезазапурину формули II, де W являє собою $-(CH_2)_a-C(=O)Y$ або $-(CH_2)_a-C(=S)Y$, i a являє собою ціле число від 0 до 3, Y являє собою арил, алкіл, арилалкіл, циклоалкіл, гетероарил, алкініл, $NHR_{11}R_{12}$, або, за умови, що Q являє собою NH, OR_{13} , де кожний з R_{11} , R_{12} і R_{13} незалежно являє собою водень або незаміщений або заміщений алкіл, арил, арилалкіл або циклоалкіл. Переважно Y являє собою 5- або 6-членне гетероарильне кільце.

Крім того, W може являти собою $-(CH_2)_b-S(=O)_jY$, де j дорівнює 1 або 2, b дорівнює 0, 1, 2 або 3, Y являє собою арил, алкіл, арилалкіл, циклоалкіл, алкініл, гетероарил, $NHR_{14}R_{15}$, або, за умови, що коли b дорівнює 1, Q являє собою CH_2 , i де кожний з R_{14} , R_{15} і R_{10} незалежно являє собою водень або незаміщений або заміщений алкіл, арил, арилалкіл або циклоалкіл.

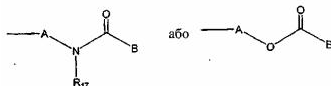
В іншому варіанті здійснення, R_3 вибирають з групи, що включає заміщений або незаміщений феніл, піридил, піримідил, піридазиніл, піразинал, піроліл, триазоліл, тіазоліл, оксазоліл, оксадіазоліл, піразоліл, фураніл, метилендіоксифеніл і тіофеніл. Коли R_3 являє собою феніл, він може бути заміщеним, наприклад, гідроксильом, алкокси (наприклад, метокси), алкілом (наприклад, толіл) і галогеном (наприклад, о-, м- або п-фторфеніл або о-, м- або п-хлорфеніл). Переважно, R_3 може являти собою 2-, 3- або 4-піридил або 2- або 3-піримідил.

Винахід також включає дезазапурин, в якому R_6 , являє собою водень або C_1-C_3 алкіл. Переважно, R_6 являє собою водень.

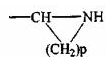
Винахід також включає дезазапурини, в яких R_1 являє собою водень, i R_2 являє собою заміщений або незаміщений алкіл або алкокси, заміщений або незаміщений алкіламін, ариламін або алкілариламін, заміщений або незаміщений аміноалкіл, аміноарил або аміноалкіларил, заміщений або незаміщений алкіламід, ариламід або алкілариламід, заміщений або незаміщений алкілсульфонамід, арилсульфонамід або алкіларилсульфонамід, заміщений або незаміщений алкілсечовину, арилсечовину або алкіларилсечовину, заміщений або незаміщений алкілкарбамат, арилкарбамат або алкіларилкарбамат, або заміщений або незаміщений алкілкарбонову кислоту, арилкарбонову кислоту або алкіларилкарбонову кислоту.

Переважно, R_2 являє собою заміщений або незаміщений циклоалкіл, наприклад, моно- або дигідроксизаміщений циклогексил або циклопентил (переважно моногідроксизаміщений циклогексил або моногідроксизаміщений циклопентил).

Переважно R_2 може мати одну з наступних формул:



де А являє собою С₁-С₆ алкіл, С₃-С₇ циклоалкіл, ланцюг з одного-семи атомів або кільце з трьох-семи атомів, необов'язково заміщене С₁-С₆ алкілом, галогенами, гідроксилом, карбоксилом, тіолом або аміногрупами; де В являє собою метил, N(Me)₂, N(Et)₂, NHMe, NHEt, (CH₂)₂NH₃⁺, NH(CH₂)₂CH₃, (CH₂)₂=NH₂, (CH₂)₂CHCH₃NH₂, (CH₂)₂NHMe, (CH₂)₂OH, CH₂CN, (CH₂)_mCO₂H, CHR₁₈R₁₉ або CHMeOH, де r є цілим числом від 0 до 2, m дорівнює 1 або 2, R₁₈ являє собою алкіл, R₁₉ являє собою NH₃⁺ або CO₂H, або R₁₈ і R₁₉ разом являють собою:



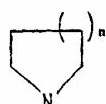
де p дорівнює 2 або 3; і R₁₇ являє собою С₁-С₆ алкіл, С₃-С₇ циклоалкіл, ланцюг з одного-семи атомів або кільце з трьох-семи атомів, необов'язково заміщене С₁-С₆ алкілом, галогенами, гідроксилом, карбоксилом, тіолом або аміногрупами.

Переважно, А являє собою незаміщений або заміщений С₁-С₆ алкіл. В може являти собою незаміщений або заміщений С₁-С₆ алкіл.

У переважному варіанті здійснення R₂ має формулу А-NHC(=O)В. В особливо переважному варіанті здійснення А являє собою -CH₂CH₂-, і В являє собою метил.

Сполуки за винаходом можуть включати розчинні у воді проліки, які метаболізують in vivo в активний лікарський засіб, наприклад, за допомогою гідролізу, каталізованого естеразою. Приклади потенційних проліків включають дезазапурини, в яких, наприклад, R₂ знаходиться у вигляді циклоалкілу, заміщеного-OC(O)(Z)NH₂, де Z являє собою бічний ланцюг існуючої у природі або не існуючої у природі амінокислоти або її аналога, α-, β-, γ- або ω-амінокислоти або дипептиду. Переважні бічні ланцюги амінокислот включають ланцюги гліцину, аланіну, валіну, лейцину, ізолейцину, лізину, α-метилаланіну, аміноциклопропанкарбонової кислоти, азетидин-2-карбонової кислоти, β-аланіну, γ-аміномасляної кислоти, аланін-аланіну або гліцин-аланіну.

В іншому варіанті здійснення R₁ і R₂ разом являють собою



де n дорівнює 1 або 2, і де кільце необов'язково може бути заміщеним одним або декількома гідроксилом, аміно, тіолом, карбоксилом, галогеном, CH₂OH, CH₂NHC(=O)алкільною або CH₂NHC(=O)NHалкільною групами. Переважно n дорівнює 1 або 2, і вказане кільце заміщене NHC(=O)алкілом.

В одному переважному варіанті здійснення R₁ являє собою водень, R₂ являє собою заміщений або незаміщений С₁-С₆ алкіл, R₃ являє собою заміщений або незаміщений феніл, R₄ являє собою водень, L являє собою водень або заміщений або незаміщений С₁-С₆ алкіл, Q являє собою O, S або NR₇, де R₇ являє собою водень або заміщений або незаміщений С₁-С₆ алкіл, і W являє собою заміщений або незаміщений арил. Переважно R₂ являє собою А-NHC(=O)В, де кожний з А і В незалежно являє собою незаміщений або заміщений С₁-С₄ алкіл. Наприклад, А може являти собою CH₂CH₂. В може являти собою, наприклад, алкіл (наприклад, метил) або аміноалкіл (наприклад, амінометил). Переважно, R₃ являє собою незаміщений феніл, і L являє собою водень. R₆ може являти собою метил або, переважно, водень. Переважно, Q являє собою O, S або NR₇, де R₇ являє собою водень або заміщений або незаміщений С₁-С₆ алкіл, наприклад, метил. W являє собою незаміщений або заміщений феніл (наприклад, алкокси-, галоген-заміщений). Переважно, W являє собою p-фторфеніл, p-хлорфеніл або p-метоксифеніл. W також може являти собою гетероарил, наприклад, 2-піридил.

В особливо переважному варіанті здійснення дезазапурин являє собою 4-(2-ацетиламіноетил)аміно-6-феноксиметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин.

В особливо переважному варіанті здійснення дезазапурин являє собою 4-(2-ацетиламіноетил)аміно-6-(4-фторфенокси)метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин.

В особливо переважному варіанті здійснення дезазапурин являє собою 4-(2-ацетиламіноетил)аміно-6-(4-хлорфенокси)метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин.

В особливо переважному варіанті здійснення дезазапурин являє собою 4-(2-ацетиламіноетил)аміно-6-(4-метоксифенокси)метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин.

В особливо переважному варіанті здійснення дезазапурин являє собою 4-(2-ацетиламіноетил)аміно-6-(2-піридилокси)метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин.

В особливо переважному варіанті здійснення дезазапурин являє собою 4-(2-ацетиламіноетил)аміно-6-(N-феніламіно)метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин.

В особливо переважному варіанті здійснення дезазапурин являє собою 4-(2-ацетиламіноетил)аміно-6-(N-метил-N-феніламіно)метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин.

В особливо переважному варіанті здійснення дезазапурин являє собою 4-(2-N'-метилуреаетил)аміно-6-феноксиметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин.

Далі винахід відноситься до способу інгібування активності аденозинового рецептора (наприклад, А_{2b} аденозинового рецептора) у клітині контактуванням клітини зі сполукою за винаходом. Переважно сполука є антагоністом аденозинового рецептора.

Винахід також відноситься до способу лікування шлунково-кишкового захворювання (наприклад, діареї) у тварини шляхом введення тварині ефективної кількості сполуки за винаходом (наприклад, антагоніста A_{2b}). Переважно тварина являє собою людину.

В іншому варіанті здійснення винахід відноситься до фармацевтичної композиції, що містить N-6 заміщений 7-дезазапурин за винаходом і фармацевтично прийнятний носій.

Винахід також відноситься до способу лікування хворобливого стану, що дає реакцію у відповідь на N-6 заміщений 7-дезазапурин у тварини шляхом введення ссавцеві терапевтично ефективної кількості дезазапурину за винаходом, таким чином, що відбувається лікування стану, що дає реакцію у відповідь на N-6 заміщений 7-дезазапурин у тварини. Переважно, захворювання може являти собою порушення, опосередковане аденозином. Приклади переважних хворобливих станів включають: порушення центральної нервової системи, серцево-судинні захворювання, ниркові захворювання, запальні захворювання, алергічні захворювання, шлунково-кишкові захворювання, очні захворювання і захворювання дихальних шляхів.

Термін «алкіл» відноситься до радикалу насичених аліфатичних груп, включаючи лінійні алкільні групи, розгалужені алкільні групи, циклоалкільні (аліциклічні) групи, алкілзаміщені циклоалкільні групи і циклоалкілзаміщені алкільні групи. Термін алкіл додатково включає алкільні групи, які можуть додатково включати атоми кисню, азоту, сірки або фосфору, що замінюють один або декілька вуглеводів в основному вуглеводневому ланцюгу, наприклад, атоми кисню, азоту, сірки або фосфору. У переважних варіантах здійснення алкіл з лінійним або розгалуженим ланцюгом містить 30 або менше атомів вуглецю в основному ланцюгу (наприклад, C_1 - C_{30} для лінійного ланцюга, C_3 - C_{30} для розгалуженого ланцюга) і, більш переважно, 20 або менше. Аналогічно, переважні циклоалкіли мають 4-10 атомів вуглецю у своїй кільцевій структурі і, більш переважно, мають 5, 6 або 7 вуглеводів в кільцевій структурі.

Більш того мається на увазі, що термін алкіл, як він використаний в описі і формулі винаходу, включає як «незаміщені алкіли», так і «заміщені алкіли», останні відносяться до алкільних фрагментів, що мають замісники, які замінюють водень у одного або декількох вуглеводів в основному вуглеводневому ланцюгу. Такі замісники можуть включати, наприклад, галоген, гідроксил, алкілкарбонілокси, арилкарбонілокси, алкоксикарбонілокси, арилоксикарбонілокси, карбоксилат, алкілкарбоніл, алкоксикарбоніл, амінокарбоніл, алкілтіокарбоніл, алкоксил, фосфат, фосфонато, фосфінато, ціано, аміно (включаючи алкіламіно, діалкіламіно, ариламіно, діариламіно і алкілариламіно), ациламіно (включаючи алкілкарбоніламіно, арилкарбоніламіно, карбамоїл і уреїдо), амідино, іміно, сульфгідрил, алкілтіо, арилтіо, тіокарбонілат, сульфати, сульфонато, сульфамойл, сульфонамід, нітро, трифторметил, ціано, азидо, гетероцикліл, алкіларил або ароматичний або гетероароматичний фрагмент. Фахівцям в даній області потрібно розуміти, що фрагменти, розташовані як замісники у вуглеводневому ланцюгу, самі можуть бути заміщеними, якщо це можливо. Циклоалкіли додатково можуть бути заміщеними, наприклад, описаними вище замісниками. «Алкіларильний фрагмент» являє собою алкіл, заміщений арилом (наприклад, фенілметил (бензил)). Термін «алкіл» також включає ненасичені аліфатичні групи, аналогічні по своїй довжині і можливому заміщенню описаним вище алкілам, але також які містять принаймні один подвійний або потрійний зв'язок, відповідно.

Термін «арил», як він використаний у даному описі, відноситься до арильного радикалу, включаючи 5- і 6-членні ароматичні групи, що складаються з одного кільця, які можуть включати від нуля до чотирьох гетероатомів, наприклад, бензол, пірол, фуран, тіофен, імідазол, бензоксазол, бензотіазол, триазол, тетразол, піразол, піридин, піразин, піридазин і піримідин і тому подібні. Арильні групи також включають поліциклічні конденсовані ароматичні групи, такі як нафтил, хіноліл, індоліл і тому подібні. Ті арильні групи, які мають гетероатоми в кільцевій структурі, також можуть згадуватись як «арильні гетероцикли», «гетероарили» або «гетероароматичні» групи. Ароматичне кільце може бути заміщеним в одному або декількох положеннях кільця такими замісниками, як описано вище, як наприклад, галоген, гідроксил, алкокси, алкілкарбонілокси, арилкарбонілокси, алкоксикарбонілокси, арилоксикарбонілокси, карбоксилат, алкілкарбоніл, алкоксикарбоніл, амінокарбоніл, алкілтіокарбоніл, фосфат, фосфонато, фосфінато, ціано, аміно (включаючи алкіламіно, діалкіламіно, ариламіно, діариламіно і алкілариламіно), ациламіно (включаючи алкілкарбоніламіно, арилкарбоніламіно, карбамоїл і уреїдо), амідино, іміно, сульфгідрил, алкілтіо, арилтіо, тіокарбонілат, сульфати, сульфонато, сульфамойл, сульфонамід, нітро, трифторметил, ціано, азидо, гетероцикліл, алкіларил або ароматичний або гетероароматичний фрагмент. Арильні групи також можуть бути конденсованими або пов'язані мітками з аліциклічними або гетероциклічними кільцями, які не є ароматичними, що таким чином утворюють поліцикл (наприклад, тетралін).

Термін «алкеніл» і «алкініл» відноситься до ненасичених аліфатичних груп, аналогічних по своїй довжині і можливому заміщенню описаним вище алкілам, але які також містять принаймні один подвійний або потрійний зв'язок, відповідно. Наприклад, у винаході розглядаються ціано і пропаргільні групи.

Якщо число атомів вуглецю не вказане інакше, «нижчий алкіл», як використано у даному описі, означає алкільну групу, як визначено вище, але яка містить від одного до десяти вуглеводів, більш переважно від одного до шести вуглеводів у структурі основного ланцюга, ще більш переважно від одного до трьох атомів вуглецю у структурі свого основного ланцюга. Аналогічно, «нижчий алкеніл» і «нижчий алкініл» мають аналогічну довжину ланцюга.

Терміни «алкоксіалкіл», «поліаміноалкіл» і «тіоалкоксіалкіл» відносяться до алкільних груп, як описано вище, які додатково включають атоми кисню, азоту або сірки, що замінюють один або декілька вуглеводів у вуглеводневому основному ланцюгу, наприклад, атоми кисню, азоту або сірки.

Терміни «поліцикліл» або «поліциклічні радикали» відносяться до радикалів, що складаються з двох або більше циклічних кілець (наприклад, циклоалкіли, циклоалкеніли, циклоалкініли, арили і/або гетероцикліли), в яких два або декілька вуглеводів є спільними для двох суміжних кілець, наприклад, кільця є «конденсованими кільцями». Кільця, які сполучені за допомогою несуміжних атомів, називаються «місточковими» кільцями. Кожне з кілець поліциклу може бути заміщене такими замісниками, як описано вище, такими як, наприклад, галоген, гідроксил, алкілкарбонілокси, арилкарбонілокси, алкоксикарбонілокси, арилоксикарбонілокси, карбоксилат, алкілкарбоніл, алкоксикарбоніл, амінокарбоніл, алкілтіокарбоніл, алкоксил, фосфат, фосфонато, фосфінато, ціано, аміно (включаючи алкіламіно, діалкіламіно, ариламіно,

діаірилами́но і алкілаірилами́но), ацилами́но (включаючи алкілкарбонілами́но, арилкарбонілами́но, карбамої́л і уреїдо́), амідино́, іміно́, сульфідри́л, алкілі́тіо, арилі́тіо, тіокарбоксилат, сульфати́, сульфонати́, сульфамої́л, сульфонамідо́, нітро́, трифторметил, ціано́, азидо́, гетероциклі́л, алкі́л, алкіларил або ароматичний або гетероароматичний фрагмент.

Термін «гетероатом», як він використаний у даному описі, означає атом будь-якого елемента, відмінного від вуглецю або водню. Переважними гетероатомами є азот, кисень, сірка і фосфор.

Термін «амінокислоти» включає природні і синтетичні амінокислоти, що виявляються в білках, такі як гліцин, аланін, валін, цистеїн, лейцин, ізолейцин, серин, треонін, метіонін, глутамінова кислота, аспартамова кислота, глутамін, аспарагін, лізин, аргінін, пролін, пістидин, фенілаланін, тирозин і триптофан. Аналоги амінокислот включають амінокислоти з подовженими або укороченими бічними ланцюгами або відмінними бічними ланцюгами з відповідними функціональними групами. Амінокислоти також включають D і L стереоізомери амінокислот, коли структура амінокислоти допускає існування стереоізомерних форм. Термін «дипептид» включає дві або декілька амінокислот, пов'язаних разом. Переважно, дипептиди являють собою дві амінокислоти, пов'язані пептидним зв'язком. Особливо переважні дипептиди включають, наприклад аланін-аланін або гліцин-аланін.

Потрібно зазначити, що структура деяких сполук за даним винаходом включає асиметричні атоми вуглецю, і таким чином вони існують у вигляді рацематів і рацемічних сумішей, окремих енантіомерів, діастереомерних сумішей і індивідуальних діастереомерів. Всі такі ізомерні форми даних сполук включені в даний винахід. Кожний стереогенний вуглець може мати R або S конфігурацію. Відповідно, потрібно розуміти, що ізомери, які виникають при такій асиметрії (наприклад, всі енантіомери і діастереомери) включені в об'єм даного винаходу, якщо не указано іншого. Такі ізомери можуть бути одержані по суті в чистій формі за допомогою класичних способів розділення і шляхом стереохімічно селективного синтезу.

Винахід додатково відноситься до фармацевтичних композицій для лікування станів, що дають реакцію у відповідь на N-6 заміщені 7-дезазапурины у ссавців, наприклад, респіраторних захворювань (наприклад, астма, бронхіт, хронічне обструктивне захворювання легень і алергічний риніт), ниркових захворювань, шлунково-кишкових захворювань і очних захворювань. Фармацевтична композиція включає терапевтично ефективну кількість N-6 заміщеного 7-дезазапурина, описаного вище, і фармацевтично прийнятний носій. Потрібно розуміти, що всі описані вище дезазапурины включені для терапевтичного лікування. Додатково потрібно розуміти, що дезазапурины за винаходом можна використати окремо або в поєднанні з іншими дезазапуринами за винаходом, або в поєднанні з додатковими терапевтичними сполуками, такими, наприклад, як антибіотики, протизапальні або протиракові агенти.

Термін «антибіотик» є загальноприйнятим в даній області, і, передбачається, що він включає ті речовини, які продукуються зростаючими мікроорганізмами, і їх синтетичні похідні, які виключають або інгібують зростання патогенів і є селективно токсичними до патогенів, надаючи мінімальне або не надаючи шкідливого впливу на інфікованого суб'єкта-хазяїна. Відповідні приклади антибіотиків включають, але не обмежуються цим, принципові класи аміноглікозидів, цефалоспори́нів, хлорамфеніко́лів, фу́сцинових кислот, макролі́дів, пеніцилі́нів, поліміксинів, тетрациклі́нів і стрептоміци́нів.

Термін «протизапальний» є загальноприйнятим в даній області, і, передбачається, що він включає ті агенти, які впливають на механізми тіла без прямого антагонізування агента, що є причиною запалення, такі як глюкокортикоїди, аспірин, ібупрофен, НСПЗЗ (нестероїдні протизапальні засоби) і т.д.

Термін «протираковий агент» є загальноприйнятим в даній області, і, передбачається, що він включає ті агенти, які зменшують, викорінюють або запобігають зростанню ракових клітин, переважно без негативного впливу на інші фізіологічні функції. Ілюстративні приклади включають цисплатин і циклофосфамід.

Коли сполуки за даним винаходом вводять у вигляді лікарських засобів людям і ссавцям, їх можна давати в чистому вигляді або у вигляді фармацевтичної композиції, що містить, наприклад, від 0,1 до 99,5% (більш переважно від 0,5 до 90%) активного інгредієнта в поєднанні з фармацевтично прийнятним носієм.

Вираз «фармацевтично прийнятний носій», як він використаний у даному описі, означає фармацевтично прийнятну речовину, композицію або носій, таку як рідкий або твердий наповнювач, розріджувач, ексципієнт, розчинник або інкапсулюючу речовину, включену в доставку або транспортування сполук(и) за винаходом всередині суб'єкта або до суб'єкта таким чином, що сполука виконує призначену функцію. Звичайно такі сполуки доставляють або транспортують від органу або частини тіла до іншого органу або частини тіла. Кожний носій повинен бути «прийнятним» у значенні сумісності з іншими інгредієнтами рецептури і не завдавати шкоди пацієнту. Деякі приклади речовин, які можуть служити як фармацевтично прийнятні носії, включають: цукор, такий як лактоза, глюкоза і сахароза; крохмаль, такий як кукурудзяний крохмаль і картопляний крохмаль; целюлозу і її похідні, такі як карбоксиметилцелюлоза натрію, етилцелюлоза і ацетат целюлози; порошкоподібні камеді; солод; желатин; тальк; ексципієнти, такі як масло какао і віск для супозиторіїв; олії, такі як арахісова олія, бавовняна олія, соняшникова олія, кунжутна олія, оливкова олія, кукурудзяна олія і соєва олія; гліколі, такі як пропіленгліколь; багатоатомні спирти, такі як гліцерин, сорбіт, маніт і поліетиленгліколь; складні ефіри, такі як етил олеат і етиллаурат; агар; буферні агенти, такі як гідроксид магнію і гідроксид алюмінію; альгінову кислоту; апірогенну воду; ізотонічний фізіологічний розчин; розчин Рінгера; етиловий спирт; фосфатні буферні розчини і інші нетоксичні сумісні речовини, що використовуються у фармацевтичних препаратах.

Як указано вище, деякі варіанти здійснення даних сполук можуть містити основні функціональні групи, такі як аміно або алкілами́но, і тому здатні утворювати фармацевтично прийнятні солі з фармацевтично прийнятними кислотами. Термін «фармацевтично прийнятні солі» у даному відношенні відноситься до відносно нетоксичних кислотно-адитивних солей сполук за даним винаходом з неорганічними або органічними кислотами. Дані солі можуть бути одержані *in situ* при кінцевому виділенні і очищенні сполук за винаходом або шляхом окремої взаємодії очищеної сполуки за винаходом у формі її вільної основи з відповідною органічною або неорганічною кислотою і виділення утвореної таким чином солі. Ілюстративні солі включають гідробромід, гідрохлорид, сульфат, бісульфат, фосфат, нітрат, ацетат, валерат, олеат, пальмітат, стеарат, лаурат, бензоат, лактат, фосфат, тозилат, цитрат, малеат, фумарат, сукцинат, тартрат, нафтиллат, мезилат, глюкогептонат, дактобіонат і лаурилсульфонатні солі і тому подібні (дивись, наприклад, Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., 66:1-19).

В інших випадках сполуки за даним винаходом можуть містити одну або декілька кислотних функціональних груп і таким чином здатні утворювати фармацевтично прийнятні солі з фармацевтично прийнятними основами. Термін «фармацевтично прийнятні солі» у таких випадках відноситься до відносно нетоксичних основно-адитивних солей сполук за даним винаходом з неорганічними або органічними основами. Такі солі можуть бути одержані аналогічним чином *in situ* під час кінцевого виділення і очищення сполук або шляхом окремої взаємодії очищеної сполуки у формі її вільної кислоти з відповідною основою, такою як гідроксид, карбонат або бікарбонат фармацевтично прийнятного катіону металу, з аміаком або з фармацевтично прийнятними органічними первинними, вторинними або третинними амінами. Ілюстративні лужні або лужноземельні солі включають солі літію, натрію, калію, кальцію, магнію і алюмінію і тому подібні. Ілюстративні органічні аміни, корисні для утворення основно-адитивних солей, включають етиламін, діетиламін, етилендіамін, етаноламін, діетаноламін, піперазин і тому подібні.

Термін «фармацевтично прийнятні складні ефіри» відноситься до відносно нетоксичних етерифікованих продуктів сполук за даним винаходом. Дані складні ефіри можуть бути одержані *in situ* під час кінцевого виділення і очищення сполук або шляхом окремої взаємодії очищеної сполуки у формі її вільної кислоти або гідроксилу з відповідним етерифікуючим реагентом. Карбонові кислоти можуть бути перетворені у складні ефіри при обробці спиртом у присутності каталізатора. Гідроксиметричні похідні можуть бути перетворені у складні ефіри при обробці етерифікуючим агентом, таким як алканолгалогеніди. Крім того мається на увазі, що термін включає нижчі вуглеводневі групи, здатні до сольватації у фізіологічних умовах, наприклад, алкілові складні ефіри, метилові, етилові і пропілові складні ефіри (дивись, наприклад, Berge et al., див. вище).

У винаході додатково розглядається застосування проліків, які перетворюються *in vivo* у терапевтичні сполуки за винаходом (дивись, наприклад, R.B.Silverman, 1992, "The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action", Academic Press, Chapter 8). Такі проліки можуть використовуватись для зміни біорозподілу (наприклад, щоб зробити можливими сполуки, які не будуть звичайним чином вступати у реакційноздатні сайти протеази) або для фармакокінетики терапевтичної сполуки. Наприклад, група карбонової кислоти може бути етерифікована, наприклад, метильною групою або етильною групою з одержанням складного ефіру. Коли складний ефір вводять суб'єкту, складний ефір розщеплюється під дією ферментів або неферментативно, відновлювально або гідролітично, вивільняючи аніонну групу. Аніонна група може етерифікуватись фрагментами (наприклад, ацилосиметильні складні ефіри), які розщеплюються, вивільняючи проміжну сполуку, яка згодом розкладається, даючи активну сполуку. В іншому варіанті здійснення проліки являють собою відновлену форму сульфату або сульфонату, наприклад, тіол, який окислюється *in vivo* до терапевтичної сполуки. Крім того, аніонний фрагмент може бути етерифікований до групи, яка активно транспортується *in vivo*, або яка селективно поглинається органами-мішенями. Складний ефір може бути вибраний так, щоб дати можливість специфічно націлювати терапевтичні фрагменти на конкретні реакційноздатні сайти, як описано далі для фрагментів-носіїв.

Змочувальні агенти, емульгатори і змащувальні агенти, такі як лаурилсульфат натрію і стеарат магнію, а також барвники, вивільняючі агенти, агенти покриття, підсолоджувачі, смакові агенти і віддушки, консерванти і антиоксиданти також можуть бути присутніми в композиціях.

Приклади фармацевтично прийнятних антиоксидантів включають водорозчинні антиоксиданти, такі як аскорбінова кислота, гідрохлорид цистеїну, бісульфат натрію, метабісульфіт натрію, сульфат натрію і тому подібні; розчинні в олії антиоксиданти, такі як аскорбіл пальмітат, бутильований гідроксіанізол (BHA), бутильований гідрокситолуол (BHT), лецитин, пропілгалат, альфа-токоферол і тому подібні; і хелатуючі метал агенти, такі як лимонна кислота, етилендіамінтетраоцтова кислота (ЕДТА), сорбіт, винна кислота, фосфорна кислота і тому подібні.

Композиції за даним винаходом включають склади, відповідні для перорального, назального, місцевого, черезшкірного, букального, сублінгвального, ректального, вагінального і/або парентерального введення. Препарати можуть зручним чином існувати у вигляді одиничних дозованих лікарських форм і можуть бути одержані будь-якими способами, добре відомими в області фармацевтики. Кількість активного інгредієнта, яку можна об'єднувати з носієм для одержання одиничної дозованої форми, звичайно буде такою кількістю сполуки, яка надає терапевтичну дію. Звичайно, виключаючи сто процентів, дана кількість буде коливатись від приблизно 1 процента до приблизно дев'яноста дев'яти процентів активного інгредієнта, переважно від приблизно 5 процентів до приблизно 70 процентів, найбільш переважно від приблизно 10 процентів до приблизно 30 процентів.

Способи одержання даних композицій або складів включають стадію об'єднання сполуки за даним винаходом з носієм і, необов'язково, одним або декількома допоміжними інгредієнтами. Звичайно, композиції одержують шляхом однорідного і ретельного змішування сполуки за даним винаходом з рідкими носіями або тонко подрібненими твердими носіями, або обома, а потім, за необхідністю, формування продукту.

Композиції за винаходом, відповідні для перорального введення, можуть бути представлені у вигляді капсул, облаток, пілюль, таблеток, коржиків (з використанням смакової основи, звичайно сахарози і гуміарабіку або трагаканту), порошків, гранул або у вигляді розчину або суспензії у водній або неводній рідині, або вигляді рідкої емульсії олія-у-воді або вода-в-олії, або у вигляді еліксиру або сиропу, або у вигляді пастилок (з використанням інертної основи, такої як желатин і гліцерин, або сахарози і гуміарабіку), і/або у вигляді полоскання для рота і тому подібного, кожний з яких містить заздалегідь визначену кількість сполуки за даним винаходом як активного інгредієнта. Сполуку за даним винаходом також можна вводити у вигляді болюсу, електуарію або пасти.

У твердих препаративних лікарських формах за винаходом для перорального введення (капсули, таблетки, пілюлі, драже, порошки, гранули і тому подібне) активний інгредієнт змішують з одним або декількома фармацевтично прийнятними носіями, такими як цитрат натрію або дикальцій фосфат, і/або будь-яким з наступних агентів: наповнювачі або заповнювачі, такі як крохмаль, лактоза, сахароза, глюкоза, маніт і/або кремнева кислота; зв'язувальні речовини, такі як, наприклад, карбоксиметилцелюлоза, альгірати, желатин, полівінілпіролідон, сахароза і/або гуміарабік; зволожувач, такі як гліцерин; дезінтегруючі агенти, такі як агар-агар, карбонат кальцію, картопляний або маїсовий крохмаль, альгінова кислота, деякі

силікати і карбонат натрію; уповільнюючі розчинення агенти, такі як парафін; прискорювачі всмоктування, такі як четвертинні амонійні сполуки; змочувальні агенти, такі як, наприклад, цетиловий спирт і гліцерин моностеарат; абсорбенти, такі як каолін і бентонітова глина; змашувальні речовини, такі як тальк, стеарат кальцію, стеарат магнію, тверді поліетиленгліколи, лаурилсульфат натрію і їх суміші; і барвники. У випадку капсул, таблеток і пілюль, фармацевтичні композиції також можуть містити буферні агенти. Тверді композиції аналогічного типу також можуть використовуватись як наповнювачі у м'яких і твердих желатинових капсулах, що наповнюються з використанням таких ексципієнтів як лактоза або молочний цукор, а також високомолекулярні поліетиленгліколи і тому подібне.

Таблетка може бути одержана пресуванням або формуванням, необов'язково з використанням одного або декількох додаткових інгредієнтів. Пресовані таблетки можуть бути одержані з використанням зв'язувальної речовини (наприклад, желатину або гідроксипропілметилцелюлози), змашувальної речовини, інертного розріджувача, консерванту, дезінтегранту (наприклад, крохмальгліколяту натрію або зшитой карбоксиметилцелюлози натрію), поверхнево-активного або диспергуючого агента. Формовані таблетки можуть бути одержані формуванням у відповідному пристрої суміші порошкоподібної сполуки, зволоженої інертним рідким розріджувачем.

Таблетки та інші тверді препаративні лікарські форми фармацевтичних композицій за даним винаходом, такі як драже, капсули, пілюлі і гранули, необов'язково можуть мати насічки або бути одержані з використанням покриттів або оболонок, таких як розчинні у кишечнику покриття та інші покриття, добре відомі в області одержання фармацевтичних рецептур. Вони також можуть бути складені таким чином, щоб забезпечити повільне або контрольоване вивільнення з них активного інгредієнта з використанням, наприклад, гідроксипропілметилцелюлози у різних пропорціях для створення бажаного профілю вивільнення, інших полімерних матриць, ліпосом і/або мікросфер. Вони можуть бути стерилізовані, наприклад, через фільтр, який утримує бактерії, або за допомогою включення стерилізуючих агентів у форми стерильних твердих композицій, які можуть бути розчинені у стерильній воді або деяких інших стерильних ін'єкційних середовищах безпосередньо перед вживанням. Дані композиції також необов'язково можуть містити агенти для придання каламутності і можуть являти собою композицію, яка вивільняє активний інгредієнт(и) тільки або переважно у певній частині шлунково-кишкового тракту, необов'язково, уповільненим чином. Приклади композицій, що імплантуються, які можуть використовуватись, включають полімерні речовини і віск. Активний інгредієнт також може бути у мікроінкапсульованій формі, якщо це підходить, з одним або декількома описаними вище ексципієнтами.

Рідкі дозовані лікарські форми для перорального введення сполук за винаходом включають фармацевтично прийнятні емульсії, мікроемульсії, розчини, суспензії, сиропи і еліксири. У доповнення до активного інгредієнта рідкі дозовані лікарські форми можуть містити інертні розріджувачі, що звичайно використовуються в даній області, такі як, наприклад, вода або інші розчинники, оліюбілізуючі агенти і емульгатори, такі як етиловий спирт, ізопропіловий спирт, етилкарбонат, етилацетат, бензиловий спирт, бензилбензоат, пропіленгліколь, 1,3-бутиленгліколь, олії (зокрема, бавовняна, арахісова, кукурудзяна, олія паростків, оливкова, касторова і кунжутна олії), гліцерин, терагідрофуриловий спирт, поліетиленгліколи і складні ефіри сорбіту і жирних кислот і їх суміші.

Крім інертних розріджувачів пероральні композиції також можуть включати допоміжні агенти, такі як змочувальні агенти, емульгуючі і суспендуючі агенти, підсолоджувачі, смакові добавки, барвники, віддушки і консерванти.

Суспензії, в доповнення до активних сполук, можуть містити суспендуючі агенти, наприклад, такі як етоксильовані ізостеарилові спирти, поліоксіетиленовий сорбіт і складні ефіри сорбіту, мікрокристалічна целюлоза, метагідроксид алюмінію, бентоніт, агар-агар і трагакант, і їх суміші.

Рецептури фармацевтичних композицій за винаходом для ректального або вагінального введення можуть бути представлені у вигляді супозиторію, який може бути одержаний змішуванням одного або декількох сполук за винаходом з одним або декількома відповідними неподразнюючими ексципієнтами або носіями, що включають, наприклад, масло какао, поліетиленгліколь, віск для супозиторіїв або саліцилат, які є твердими при кімнатній температурі, але рідкими при температурі тіла і отже будуть розплавлятися у прямій кишці або вагінальній порожнині і вивільняти активну сполуку.

Рецептури за даним винаходом, які є придатними для вагінального введення, також включають песарії, тампони, креми, гелі, пасти, піністі або препарати, що розпилюються, які містять такі носії, що відомі в даній області, як відповідні для даного застосування.

Препаративні лікарські форми для місцевого або черезшкірного введення сполуки за даним винаходом включають порошки, спреї, мазі, пасти, креми, лосьйони, гелі, розчини, пластири та інгалятори. Активна сполука може бути змішана у стерильних умовах з фармацевтично прийнятним носієм і з будь-яким необхідним консервантом, буфером або пропелентом.

Мазі, пасти, креми і гелі можуть містити, у доповнення до активної сполуки за даним винаходом, ексципієнти, такі як тваринні і рослинні жири, олії, віск, парафіни, крохмаль, трагакант, похідна целюлоза, поліетиленгліколи, силікони, бентоніти, кремнієва кислота, тальк і оксид цинку, або їх суміші.

Порошки і спреї можуть містити, в доповнення до сполуки за даним винаходом, ексципієнти, такі як лактоза, тальк, кремнієва кислота, гідроксид алюмінію, силікати кальцію і поліамідний порошок, або суміші даних речовин. Спреї додатково можуть містити звичайні пропеленти, такі як хлорфторвуглеводні і леткі незаміщені вуглеводні, такі як бутан і пропан.

Черезшкірні пластири мають додаткову перевагу в забезпеченні контрольованої доставки сполуки за даним винаходом до тіла. Такі препаративні лікарські форми можуть бути одержані шляхом розчинення або диспергування сполуки у відповідному середовищі. Для збільшення проникнення речовини через шкіру можуть бути додані підсилювачі всмоктування. Швидкість такого потоку через шкіру можна контролювати або за допомогою швидкість-контролюючої мембрани, або при диспергуванні активної сполуки у полімерній матриці або гелі.

Офтальмологічні препарати, очні мазі, порошки, розчини і тому подібне також розглядаються як такі, що попадають в об'єм даного винаходу. Переважно, фармацевтичний препарат являє собою офтальмологічну композицію (наприклад, препарат для періокулярної, ретробульбарної або внутрішньоочної ін'єкції,

системний препарат або хірургічний зрошувальний розчин).

Офтальмологічні препарати за даним винаходом можуть включати один або декілька дезазапуринів і фармацевтично прийнятний носій. Можна використати різні типи носіїв. Носій звичайно буде водним за своєї природою. Звичайно віддають перевагу водним розчинам, основується на типі композиції, а також здатності пацієнта легко вводити такі композиції, закапуючи одну або дві краплі розчину в уражене око. Однак, дезазапурини за даним винаходом також легко можуть бути введені в інші типи композицій, такі як суспензії, в'язкі або напівв'язкі гелі або інші типи твердих або напівтвердих композицій. Офтальмологічні композиції за даним винаходом також можуть включати різні типи інгредієнтів, такі як буфери, консерванти, співрозчинники і агенти, які створюють в'язкість.

Відповідна буферна система (наприклад, фосфат натрію, ацетат натрію або борат натрію) може бути додана для запобігання зміні pH в умовах зберігання.

Офтальмологічні продукти звичайно упаковуються у вигляді безлічі дозованих форм. Таким чином, для запобігання мікробному забрудненню під час використання потрібні консерванти. Відповідні консерванти включають: хлорид бензалконію, тимерозал, хлорбутанол, метилпарабен, пропілпарабен, фенілетиловий спирт, едетат динатрію, сорбінову кислоту, полікватерній-1 або інші агенти, відомі фахівцям в даній області. Такі консерванти звичайно використовуються на рівні від 0,001 до 1,0% ваг./об'єм (% ваг./об.).

Коли дезазапурини за даним винаходом вводять під час внутрішньоочної хірургічної процедури, наприклад, за допомогою ретробульбарної або періокулярної ін'єкції і внутрішньоочного введення або ін'єкції, найбільш переважним є використання збалансованих сольових зрошувальних розчинів як носіїв. Прикладами фізіологічно збалансованих внутрішньоочних зрошувальних розчинів є BSS® стерильний зрошувальний розчин і BSS Plus® стерильний внутрішньоочний зрошувальний розчин (Alcon Laboratories, Inc., Fort Worth, Texas, USA). Останній тип розчину описаний у патенті США 4550022 (Garabedian et al.), повний зміст якого включений в даний опис як посилання. Ретробульбарні і періокулярні ін'єкції відомі фахівцям в даній області і описані в численних публікаціях, включаючи, наприклад, *Ophthalmic Surgery: Principles of Practice* (Офтальмологічна хірургія: принципи практики) Ed., G.L.Spaeth, W.B.Sanders Co., Philadelphia Pa., USA, сторінки 85-87 (1990).

Як указано вище, застосування дезазапуринів для профілактики або зменшення пошкодження тканин сітківки або головного зорового нерва на клітинному рівні являє собою особливо важливий аспект одного варіанту здійснення винаходу. Офтальмологічні захворювання, які можна лікувати, включають, але не обмежуються цим, ретинопатію, дегенерацію жовтої плями, ішемію ока, глаукому і пошкодження, пов'язані з пошкодженням тканин ока, такі як ішемічні реперфузійні пошкодження, фотохімічні пошкодження і пошкодження, пов'язані з хірургією ока, особливо пошкодження сітківки або головного зорового нерва, викликані дією світла або хірургічними інструментами. Сполуки також можна використати як супутнє лікування в офтальмологічній хірургії, наприклад, як ін'єкцію всередину сітківки або надкон'юнктивну ін'єкцію після офтальмологічної хірургії. Сполуки можна використати для короточасного лікування тимчасово виникаючих захворювань, або їх можна вводити постійно, особливо у разі дегенеративного захворювання. Сполуки також можна використати профілактично, особливо перед очним хірургічним втручанням або неінвазивними офтальмологічними процедурами, або іншими типами хірургічного втручання.

Фармацевтичні композиції за даним винаходом, придатні для парентерального введення, включають одну або декілька сполук за винаходом в поєднанні з одним або декількома фармацевтично прийнятними стерильними ізотонічними водними або неводними розчинами, дисперсіями, суспензіями або емульсіями, або у вигляді стерильних порошків, вологовміст яких відновлюється безпосередньо перед застосуванням у стерильних розчинах або дисперсіях для ін'єкцій, які можуть містити антиоксиданти, буфери, бактеріостатичні агенти, розчинні речовини, що надають рецептурі ізотонічних властивостей з кров'ю передбачуваного реципієнта, або суспендуючі або згущувальні агенти.

Приклади відповідних водних і неводних носіїв, які можна використати у фармацевтичних композиціях за винаходом, включають воду, етанол, багатоатомні спирти (такі як гліцерин, пропіленгліколь, поліетиленгліколь і тому подібні) і їх відповідні суміші, олії, такі як оливкова олія, та ін'єктовані органічні складні ефіри, такі як етилолеат. Належна текучість може підтримуватись, наприклад, за рахунок використання матеріалів покриттів, таких як лецитин, підтримка необхідного розміру частинок у разі дисперсій і застосування поверхнево-активних речовин.

Дані композиції також можуть містити допоміжні агенти, такі як консерванти, змочувальні агенти, емульгуючі агенти і диспергуючі агенти. Запобігання дії мікроорганізмів можна гарантувати при включенні до складу композиції різних протимікробних і протигрибкових агентів, наприклад, парабену, хлорбутанолу, фенолсорбінової кислоти і тому подібних. Також може виявитись бажаним включати до складу композицій ізотонічні агенти, такі як цукор, хлорид натрію і тому подібні. Крім того, пролонговане всмоктування ін'єктованої фармацевтичної форми може досягатись шляхом введення агентів, які уповільнюють всмоктування, таких як моностеарат алюмінію і желатин.

У деяких випадках для досягнення тривалої дії лікарського засобу бажано уповільнити всмоктування лікарського засобу при підшкірній або внутрішньом'язовій ін'єкції. Це може досягатись за рахунок застосування рідкої суспензії кристалічної або аморфної речовини, що володіє низькою розчинністю у воді. Швидкість всмоктування лікарського засобу тоді залежить від швидкості його розчинення, що, в свою чергу, може залежати від розміру кристала і кристалічної форми. Альтернативно, уповільнене всмоктування парентерально препаративної лікарської форми, що вводиться, здійснюють шляхом розчинення або суспендування лікарського засобу в масляному носії.

Ін'єктовані депо-форми одержують шляхом утворення мікроінкапсульованих матриць сполук, що обговорюються, у біознищуваних полімерах, таких як полілактид-полігліколід. В залежності від співвідношення лікарського засобу і полімеру і природи конкретного полімеру, що використовується, можна контролювати швидкість вивільнення лікарського засобу. Приклади інших біознищуваних полімерів включають полі(орто-складні ефіри) і полі(ангідриди). Ін'єктовані депо-форми також одержують шляхом захоплення лікарського засобу ліпосомами або мікроемульсіями, які сумісні з тканинами тіла.

Препарати за даним винаходом можна вводити перорально, парентерально, місцево або ректально. Звичайно, їх вводять у вигляді форм, придатних для кожного шляху введення. Наприклад, їх вводять у

вигляді таблеток або капсул, шляхом ін'єкції, інгаляції, у вигляді очного лосьйону, мазі, супозиторію і т.д., здійснюють введення за допомогою ін'єкції, вливання або інгаляції; місцево з використанням лосьйону або мазі; і ректально з використанням супозиторіїв. Переважним є пероральне введення.

Вирази «парентеральне введення» і «вводять парентерально», як вони використовуються в даному описі, означають способи введення, які відрізняються від ентерального і місцевого введення, звичайно шляхом ін'єкції, і включають, без обмежень, внутрішньовенну, внутрішньом'язову, внутрішньоартеріальну, внутрішньооболонкову, внутрішньокапсульну, внутрішньоочну, внутрішньосерцеву, внутрішньошкірну, внутрішньоочеревинну, транстрахеїну, підшкірну, підкутикулярну, внутрішньосуглобну, підкапсульну, субарахноїдальну, інтраспінальну і внутрішньогрудинну ін'єкцію та інфузію.

Вирази «системне введення» і «вводять системно», «периферичне введення» і «вводять периферично», як вони використані в даному описі, означають введення сполуки, лікарського засобу або іншої речовини іншим шляхом, ніж безпосереднє введення в центральну нервову систему, так що вона надходить в систему пацієнта і таким чином зазнає метаболізму та інших подібних процесів, наприклад, при підшкірному введенні.

Дані сполуки можна вводити людям та іншим тваринам для лікування за допомогою будь-якого відповідного шляху введення, включаючи пероральне, назальне, наприклад, за допомогою спрею, ректальне, внутрішньовагінальне, парентеральне, інтрацистернальне і місцеве введення, наприклад, за допомогою порошків, мазей і крапель, включаючи букальне і сублінгвальне введення.

Незалежно від вибраного шляху введення, сполуки за даним винаходом, які можуть використовуватись у відповідній гідратованій формі, і/або фармацевтичні композиції за даним винаходом одержують у вигляді фармацевтично прийнятних препаративних лікарських форм звичайними способами, відомими фахівцям в даній області.

Фактичні рівні дозування активних інгредієнтів у фармацевтичних композиціях за даним винаходом можуть змінюватись так, щоб одержувати кількість активного інгредієнта, яка є ефективною для досягнення бажаної терапевтичної реакції у відповідь для конкретного пацієнта, композиції і способу введення, не будучи токсичним для пацієнта.

Вибрані рівні дозування будуть залежати від множини факторів, включаючи активність конкретної сполуки, що використовується за даним винаходом, або її складного ефіру, солі або амід, шлях введення, час введення, швидкість виведення з організму конкретної сполуки, що використовується, тривалість лікування, інші лікарські засоби, сполуки і/або речовини, що використовуються в поєднанні з конкретною сполукою, що використовується, вік, стать, вага, захворювання, загальний стан здоров'я і попередню історію хвороби пацієнта, що піддається лікуванню, і аналогічні фактори, добре відомі в медицині.

Лікуючий лікар або ветеринар, що є звичайним фахівцем в даній області, легко може визначити і прописати ефективну кількість необхідної фармацевтичної композиції. Наприклад, лікуючий лікар або ветеринар можуть почати із застосування доз сполук, що використовуються у фармацевтичній композиції, на рівнях, більш низьких, ніж потрібно для досягнення бажаної терапевтичної дії, і поступово збільшувати дозування доти, поки не буде досягнутий бажаний ефект.

Звичайно, відповідна денна доза сполуки за винаходом буде такою кількістю сполуки, яка являє собою найменшу дозу, ефективну для надання терапевтичної дії. Така ефективна доза звичайно буде залежати від описаних вище факторів. Звичайно внутрішньовенні і підшкірні дози сполук за даним винаходом для пацієнта, коли їх використовують для надання вказаної анальгетичної дії, будуть коливатись від приблизно 0,0001 до приблизно 200мг на кілограм ваги тіла на добу, більш переважно від приблизно 0,01 до приблизно 150мг на кг на добу і ще більш переважно від приблизно 0,2 до приблизно 140мг на кг на добу.

При бажанні, ефективну денну дозу активної сполуки можна водити у вигляді двох, трьох, чотирьох, п'яти, шести або більше піддоз, що вводяться окремо з відповідними проміжками протягом дня, необов'язково у вигляді одиничних дозованих лікарських форм.

Хоча сполуку за даним винаходом можливо вводити саму по собі, переважним є введення сполуки у вигляді фармацевтичної композиції.

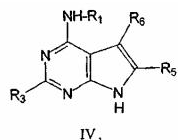
Даний винахід також відноситься до упакованих фармацевтичних композицій для лікування хворобливих станів, що дають реакцію у відповідь на N-6 заміщений 7-дезазапурин, наприклад, при небажаній підвищеній активності аденозинового рецептора у ссавця. Упаковані фармацевтичні композиції включають контейнер, що містить терапевтично ефективну кількість принаймні одного дезазапурина, як описано вище, і інструкції з використання дезазапурина для лікування стану, що дає реакцію у відповідь на дезазапурин.

Дезазапурина даного винаходу можуть бути одержані з використанням стандартних способів органічного синтезу. Дезазапурина можуть бути очищені ВЕРХ із оберненою фазою, хроматографією, перекристалізацією і т.д. і їх структури підтверджені за допомогою мас-спектрального аналізу, елементного аналізу, ІЧ і/або ЯМР спектроскопії.

Звичайно, синтез проміжних сполук, а також дезазапуринів за винаходом здійснюють у розчині. Приєднання і видалення однієї або декількох захисних груп також є звичайним на практиці і відомо фахівцям.

Типові схеми синтезу проміжних сполук для одержання дезазапуринів за винаходом представлені нижче на схемі I.

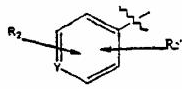
Даний винахід додатково відноситься до сполуки, що має структуру (IV):



де R₁ являє собою транс-4-гідроксициклогексил, 2-метиламінокарбоніламіноциклогексил,

ацетиламіноетил або метиламінокарбоніламіноетил;

де R_3 являє собою заміщене або незаміщене чотирьох-шестичленне кільце; феніл, пірол, тіофен, фуран, тiazол, імідазол, піразол, 1,2,4-триазол, піридин, 2(1H)-піридон, 4(1H)-піридон, піразин, піримідин, піридазин, ізотіазол, ізоксазол, оксазол, тетразол, нафталін, тетралін, нафтиридин, бензофуран, бензотіофен, індол, 2,3-дигідроіндол, 1H-індол, індолін, бензопіразол, 1,3-бензодіоксол, бензоксазол, пурин, кумарин, хромон, хінолін, тетрагідрохінолін, ізохінолін, бензімідазол, хіназолін, піридо[2,3-b]піразин, піридо[3,4-b]піразин, піридо[3,2-b]піридазин, піридо[3,4-b]піридин, 1H-піразол[3,4-d]піримідин, птеридин, 2(1H)-хінолон, 1(2H)-ізохінолон, 1,4-бензізоксазин, бензотіазол, хіноксалін, хінолін-N-оксид, ізохінолін-N-оксид, хіноксалін-N-оксид, хіназолін-N-оксид, бензоксазин, фталазин, цинолін, або має структуру:

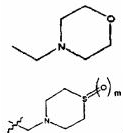


де Y являє собою вуглець або азот;

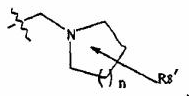
де R_2 і R_3 незалежно являють собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений арил, галоген, метокси, метиламіне або метилтіо; де R_5 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, арил, арилалкіл, аміно, заміщений арил, де вказаний заміщений алкіл являє собою $-C(R_7)(R_8)XR_9$, де X являє собою O, S або NR_{10} , де кожний з R_7 і R_8 незалежно являє собою N або алкіл, де кожний з R_9 і R_{10} незалежно являє собою алкіл або циклоалкіл, або NR_9R_{10} являє собою заміщене або незаміщене кільце, що містить від 4 до 7 членів;

де R_6 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, циклоалкіл; або до її фармацевтично прийнятної солі, похідних проліків або біологічно активного метаболіту, за умови, що коли R_1 являє собою ацетиламіноетил, R_3 не є 4-піридиллом.

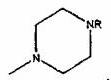
В одному варіанті здійснення сполуки, що має структуру IV, NR_9R_{10} являє собою заміщене або незаміщене кільце, що містить від 4 до 7 членів, яке вибрано з групи, що складається з:



де m дорівнює 0, 1 або 2,

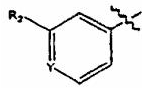


де n дорівнює 0, 1, 2 або 3; де R_8' являє собою водень, $-OH$, $-CH_2OH$, $-C(=O)NR_9R_{10}$, NHR_{11} ; де R_{11} являє собою $-C(=O)CH_3$ або $-SO_2Me$, або



де R являє собою H, алкіл або арил.

При іншому варіанті здійснення сполуки, що має структуру IV, R_3 має структуру



де Y являє собою вуглець або азот; де R_2 являє собою N або галоген, O-алкільну групу, аміногрупу або сульфідну групу;

де R_5 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, арил, арилалкіл, аміно, заміщений арил, де вказаний заміщений алкіл являє собою $-C(R_7)(R_8)NR_9R_{10}$, де кожний з R_7 і R_8 незалежно являє собою N або алкіл, де кожний з R_9 і R_{10} незалежно являє собою алкіл або циклоалкіл, або R_9 , R_{10} і азот разом утворюють заміщене або незаміщене кільце, що складається з 4-7 членів.

В іншому варіанті здійснення сполуки Y являє собою вуглець.

В іншому варіанті здійснення сполуки R_2 являє собою водень.

В іншому варіанті здійснення сполуки R_6 являє собою водень.

В іншому варіанті здійснення сполуки R_5 являє собою водень.

В іншому варіанті здійснення сполуки кожний з R_5 і R_6 являє собою метил.

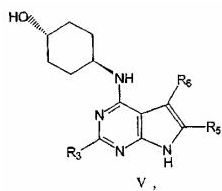
В іншому варіанті здійснення сполуки R_5 являє собою $-C(R_7)(R_8)NR_9R_{10}$, де кожний з R_7 і R_8 незалежно являє собою N або алкіл, де кожний з R_9 і R_{10} незалежно являє собою алкіл або циклоалкіл, або R_9 , R_{10} і азот разом утворюють заміщене або незаміщене кільце, що складається з 4-7 членів.

В іншому варіанті здійснення сполуки R_2 являє собою галоген.

В іншому варіанті здійснення сполуки Y являє собою азот.

Ще в одному варіанті здійснення сполуки R_2 являє собою водень.

У наступному варіанті здійснення сполуки кожний з R_5 і R_6 являє собою водень.
Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру (V):



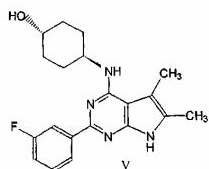
де R_3 являє собою арил, заміщений арил або гетероарил;

де R_6 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл або циклоалкіл; де R_5 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, арил, арилалкіл, аміно, заміщений арил, де вказаний заміщений алкіл являє собою $-C(R_7)(R_8)NR_9R_{10}$, де кожний з R_7 і R_8 незалежно являє собою N або алкіл, де кожний з R_9 і R_{10} являє собою алкіл або циклоалкіл, або R_9, R_{10} і азот разом утворюють кільцеву систему, що складається з 4-7 членів.

В одному варіанті здійснення сполуки, що має структуру V, кожний з R_7 і R_8 являє собою H; де R_9 являє собою H і R_{10} являє собою $-R_{12}C(=O)R_{13}$.

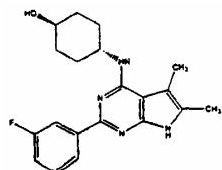
В іншому варіанті здійснення сполуки, що має структуру V, кожний з R_7 і R_8 являє собою H; де кільцева система являє собою морфоліно, тіоморфоліно, N-4-заміщений піперазіно, 2-заміщений піперизин або R_8' заміщений піролідіно, піперидин, де R_8' являє собою H, OH, CH_2OH , $-C(=O)NR_9R_{10}$, NR_{11} де R_{11} являє собою $-C(=O)CH_3$, $-SO_2Me$.

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має наступну структуру:

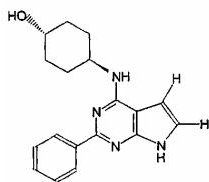


(Сполука 706)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

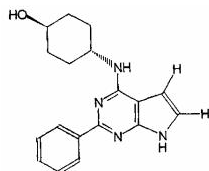


В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



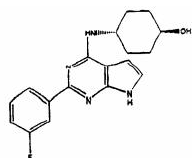
(Сполука 1318-a)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



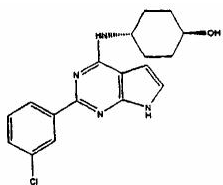
(Сполука 1318-b)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



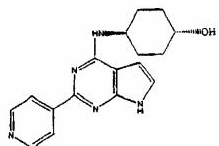
(Сполука 1319)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



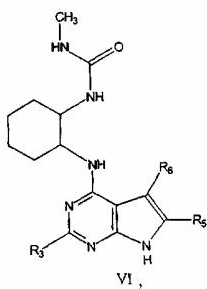
(Сполука 1320)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

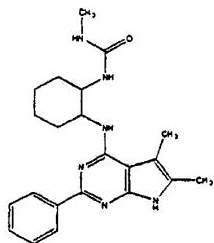


(Сполука 1321)

Сполука має структуру

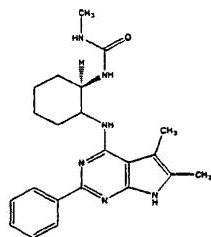


де R_3 являє собою 5-6-членне ароматичне кільце; де R_5 і R_6 незалежно являють собою N або алкіл.
В одному варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

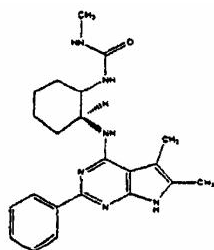


(Сполука 1500)

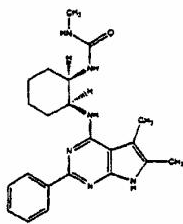
В одному варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



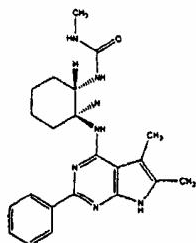
В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



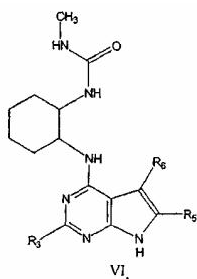
В іншому варіанті здійснення сполуки 1500, сполука має структуру:



У наступному втіленні сполуки, сполука має структуру:

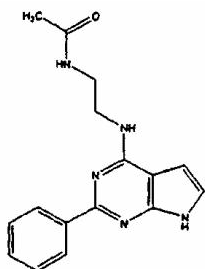


Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:



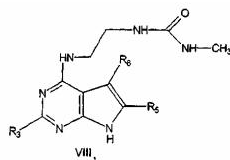
де R_3 являє собою 5-6-членне ароматичне кільце; де R_5 і R_6 незалежно являють собою N або алкіл; за умови, що R_3 не є 4-піридилом.

В одному варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



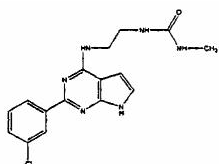
(Сполука 1501)

Даний винахід додатково відноситься до сполуки, що має структуру:



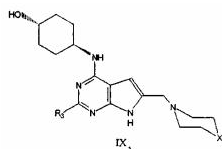
де R_3 являє собою заміщене 5-6-членне ароматичне кільце; де R_5 і R_6 незалежно являють собою N або алкіл.

В одному варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

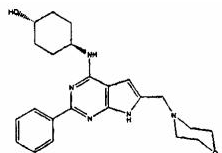


(Сполука 1520)

Даний винахід додатково відноситься до сполуки, що має структуру:

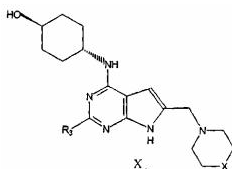


де R₃ являє собою 5-6-членне ароматичне кільце; де Х являє собою кисень або сірку.
В одному варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

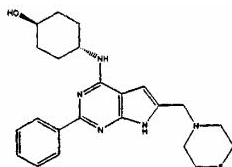


(Сполука 1503)

Даний винахід додатково відноситься до сполуки, що має структуру:



де R₃ являє собою 5-6-членне ароматичне кільце; де Х являє собою кисень або сірку.
В одному варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



(Сполука 1504)

Даний винахід також відноситься до способу лікування захворювання, пов'язаного з A₁ аденозиновим рецептором у суб'єкта, що включає введення суб'єкту терапевтично ефективної кількості сполуки, що має формулу IV, V, VI, VI, VII, VIII, IX або X.

В одному варіанті здійснення способу суб'єкт являє собою ссавця. В іншому варіанті здійснення способу ссавець є людиною.

У наступному варіанті здійснення способу, A₁ аденозиновий рецептор пов'язаний з порушенням пізнавальної здатності, нирковою недостатністю, серцевою аритмією, епітелієм дихальних шляхів, вивільненням трансмітера, седативною дією, звуженням кровоносних судин, брадикардією, негативною серцевою іотропією і дромотропією, бронхостенозом, нейтрофільним хемотаксисом, станом рефлюксу або виразковим захворюванням.

Даний винахід також відноситься до комбінованої терапії астми, що включає сполуки IV і V, і стероїд, β₂-агоніст, глюкокортикоїд, антагоніст люкотриєну або антихолінергічний агоніст. Захворювання, пов'язані з A₁, A_{2a}, A_{2b} і A₃ аденозиновими рецепторами, описані в WO 99/06053 і WO-09822465, WO-09705138, WO-09511681, WO-09733879, JP-09291089, PCT/US98/16053 і патенті США № 5516894, повний зміст яких у всій своїй повноті включений в даний опис як посилання.

Даний винахід також відноситься до водорозчинних проліків сполук, що мають структуру IV, V, VI, VI, VII, VIII, IX або X, де вказані водорозчинні проліки метаболізують *in vivo* до активного лікарського засобу, який селективно інгібує A₁ аденозиновий рецептор.

В одному варіанті здійснення проліків, вказані проліки метаболізують *in vivo* за допомогою каталізованого естеразою гідролізу.

Даний винахід також відноситься до фармацевтичної композиції, що включає проліки і фармацевтично прийнятний носій.

Даний винахід додатково відноситься до способу інгібування активності A₁ аденозинового рецептора в клітині, який включає контактування вказаної клітини зі сполукою, що має структуру IV, V, VI, VI, VII, VIII, IX або X.

В одному варіанті здійснення способу сполука є антагоністом вказаного A₁ аденозинового рецептора.

Даний винахід також відноситься до способу лікування шлунково-кишкового захворювання у суб'єкта, що включає введення терапевтично ефективної кількості сполуки, що має структуру IV, V, VI, VI, VII, VIII, IX або X.

В одному варіанті здійснення способу вказане захворювання являє собою діарею.

В іншому варіанті здійснення способу суб'єкт є людиною.

В іншому варіанті здійснення способу сполука є антагоністом A_1 аденозинових рецепторів.

Даний винахід також відноситься до способу лікування захворювання дихальних шляхів у суб'єкта, що включає введення суб'єкту ефективної кількості сполуки, що має структуру IV, V, VI, VI, VII, VIII, IX або X.

В одному варіанті здійснення способу вказане захворювання являє собою астму, хронічне обструктивне захворювання легень, алергічний риніт або захворювання верхніх дихальних шляхів.

В іншому варіанті здійснення способу суб'єкт є людиною.

В іншому варіанті здійснення способу вказана сполука є антагоністом A_1 аденозинових рецепторів.

Даний винахід також відноситься до способу лікування пошкодження ока у суб'єкта, що включає введення вказаному суб'єкту ефективної кількості сполуки, що має структуру IV, V, VI, VI, VII, VIII, IX або X.

В одному варіанті здійснення способу вказане пошкодження включає пошкодження сітківки або зорового головного нерва.

В іншому варіанті здійснення способу вказане пошкодження є гострим або хронічним.

В іншому варіанті здійснення способу вказане пошкодження є результатом глаукоми, набряку, ішемії, гіпоксії або травми.

В іншому варіанті здійснення способу суб'єкт є людиною.

В іншому варіанті здійснення способу сполука є антагоністом A_1 аденозинових рецепторів.

Даний винахід також відноситься до фармацевтичної композиції, що включає терапевтично ефективну кількість сполуки, що має структуру IV, V, VI, VI, VII, VIII, IX або X, і фармацевтично прийнятний носій.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана терапевтично ефективна кількість є ефективною для лікування захворювання дихальних шляхів або шлунково-кишкового захворювання.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказане шлунково-кишкове захворювання являє собою діарею.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказане захворювання дихальних шляхів являє собою астму, алергічний риніт або хронічне обструктивне захворювання легень.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана фармацевтична композиція являє собою офтальмологічний препарат.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана фармацевтична композиція являє собою препарат для періокулярної, ретробульбарної або внутрішньоочної ін'єкції.

Ще в одному варіанті здійснення фармацевтичної композиції дана фармацевтична композиція являє собою системний препарат.

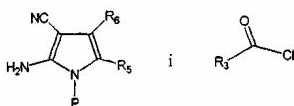
У додатковому варіанті здійснення фармацевтичного препарату вказана фармацевтична композиція являє собою хірургічний зрошувальний розчин.

Даний винахід також відноситься до упакованої фармацевтичної композиції для лікування захворювання, пов'язаного з A_1 -аденозиновим рецептором у суб'єкта, що включає: (a) контейнер, що містить терапевтично ефективну кількість A_1 -аденозин специфічної сполуки, і (b) інструкції для використання вказаної сполуки для лікування вказаного захворювання у суб'єкта.

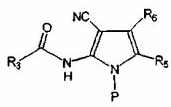
Як використано в даному описі, вираз «сполука є A_1 селективною» означає, що сполука має константу зв'язування з Араденозиновим рецептором принаймні в десять разів вище, ніж аналогічна константа для A_{2a} , A_{2b} або A_3 аденозину.

Даний винахід також відноситься до способу одержання сполуки, що має структуру (IV), який включає стадії:

a) взаємодії

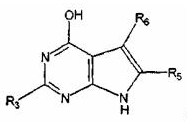


з одержанням

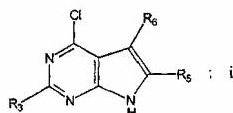


де Р являє собою захисну групу, що видалається;

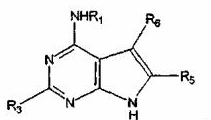
b) обробки продукту стадії a) в умовах циклізації з одержанням



c) обробки продукту стадії b) у відповідних умовах з одержанням



d) обробки хлорованого продукту стадії c) NH_2R_1 з одержанням



де R_1 являє собою транс-4-гідроксициклогексил, 2-метиламінокарбоніламіноциклогексил, ацетиламіноетил або метиламінокарбоніламіноетил;

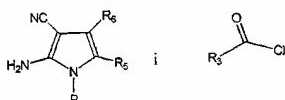
де R_3 являє собою заміщене або незаміщене чотирьох-шестичленне кільце;

де R_5 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, арил, арилалкіл, аміно, заміщений арил, де вказаний заміщений алкіл являє собою $-C(R_7)(R_8)XR_9$, де X являє собою O, S або NR_{10} , де кожний з R_7 і R_8 незалежно являє собою N або алкіл, де кожний з R_9 і R_{10} незалежно являє собою алкіл або циклоалкіл, або NR_9R_{10} являє собою заміщене або незаміщене кільце, що містить від 4 до 7 членів;

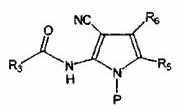
де R_6 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, циклоалкіл; або її фармацевтично прийнятної солі, пролікарського похідного або біологічно активного метаболіту; за умови, що коли R_1 являє собою ацетиламіноетил, R_3 не є 4-піридил.

Даний винахід також відноситься до способу одержання сполуки, що має структуру V, який включає стадії

a) взаємодії

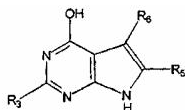


з одержанням

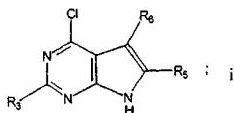


де P являє собою захисну групу, що видаляється;

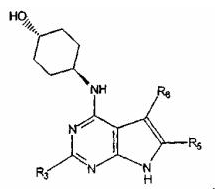
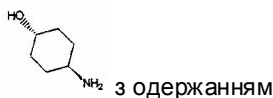
b) обробки продукту стадії a) в умовах циклізації з одержанням



c) обробки продукту стадії b) у відповідних умовах з одержанням



d) обробки хлорованого продукту стадії c)



де R_3 являє собою арил, заміщений арил, гетероарил;

де R_6 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл або циклоалкіл; де R_5 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, арил, арилалкіл, аміно, заміщений арил, де вказаний заміщений алкіл являє собою $-C(R_7)(R_8)NR_9R_{10}$, де кожний з R_7 і R_8 являє собою N або алкіл, де кожний з R_9 і R_{10} являє собою алкіл або циклоалкіл, або NR_9R_{10} являє собою кільцеву систему, що містить від 4 до 7 членів.

Сполуки, представлені формулами VI, VII і VIII, можуть бути синтезовані за будь-якою зі схем I-VIII. Сполуки, представлені формулою IX і X, можуть бути одержані за схемою IX.

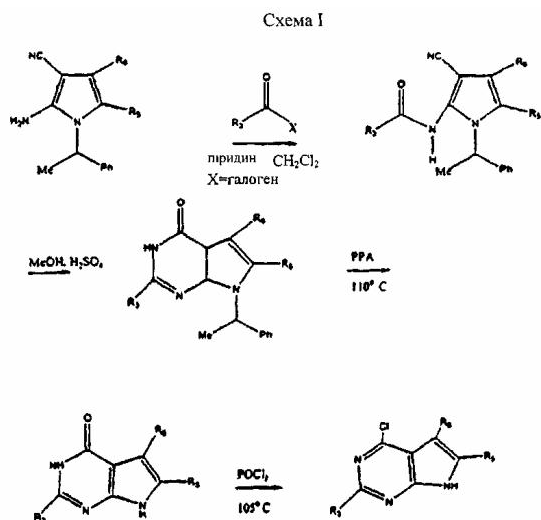
Винахід далі проілюстрований наступними прикладами, які жодним чином не треба розглядати як додаткове обмеження. Зміст всіх посилань, що чекають рішення заявок на патенти і опублікованих заявок на патенти, процитованих в даній заявці, включаючи процитовані в розділі «Передумови створення винаходу», включений в даний опис як посилання. Потрібно розуміти, що моделі, використані у прикладах,

є загальноприйнятими моделями, і демонстрування ефективності на даних моделях передбачає ефективність на людях.

Даний винахід буде краще зрозумілий з наведених далі експериментальних подробиць. Однак, фахівцеві в даній області буде без великих зусиль зрозуміло, що конкретні способи і результати, що обговорюються, є тільки ілюстрацією винаходу, як описано більш детально у формулі винаходу, яка йде далі.

Дезазапурины за винаходом можуть бути одержані стандартними способами органічного синтезу. Дезазапурины можуть бути очищені ВЕРХ із оберненою фазою, хроматографією, перекристалізацією і т.д., і їх структури підтверджені маспектральним аналізом, елементним аналізом, ІЧ і/або ЯМР спектроскопією.

Звичайно синтез проміжних сполук, а також дезазапуринів за винаходом проводять у розчині. Додавання і видалення однієї або декількох захисних груп також типово для практичного здійснення і відомо фахівцям у даній області. Типові схеми синтезу для одержання проміжних продуктів дезазапуринів за винаходом представлені нижче на схемі I.


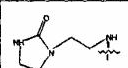
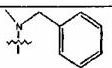
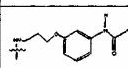
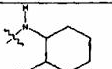
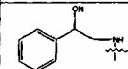
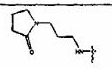
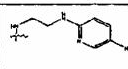
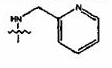
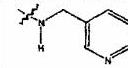
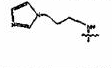
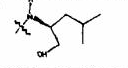
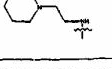
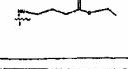

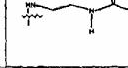
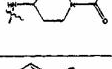
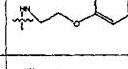
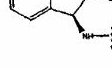
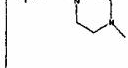
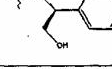
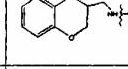
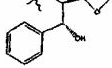
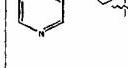
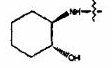
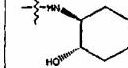
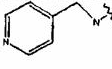
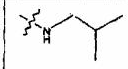
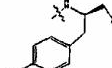
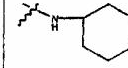
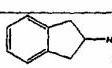
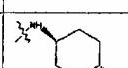
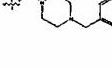
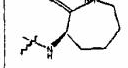
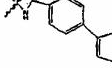
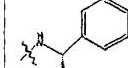
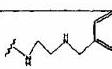
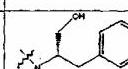
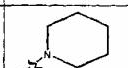


де R_3 , R_5 і R_6 є такими, як визначено вище.

В цілому, захищений 2-аміно-3-ціано-пірол може бути оброблений ацилгалогенідом з утворенням карбоксамідо-3-ціанопіролу, який може бути оброблений підкисленим метанолом для здійснення замикання кільця в піроло[2,3-d]піримідин-4-(3H)-он (Muller CE. et al., J. Med. Chem. 40:4396 (1997)). Видалення захисної групи піролу з подальшою обробкою хлоруючим реагентом, наприклад, оксихлоридом фосфору, приводить до заміщених або незаміщених 4-хлор-7H-піроло[2,3-d]піримідинів. Обробка хлорпіримідину амінами давала 7-дезазапурины.

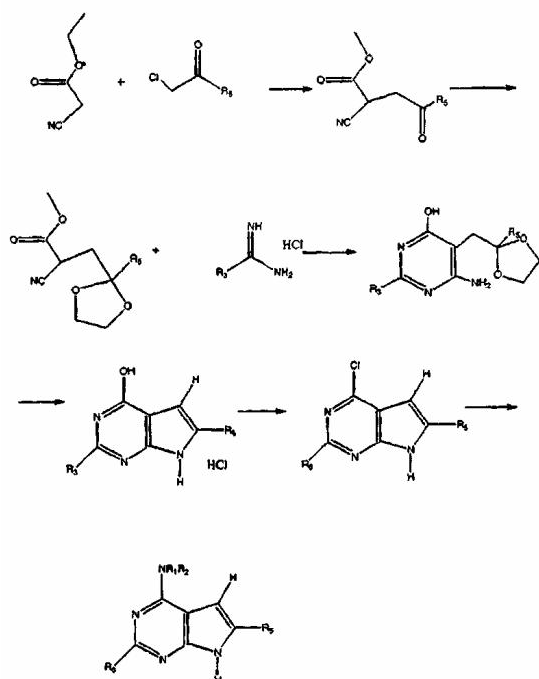
Наприклад, як показано на схемі I, N-(1-d1-фенілетил)-2-аміно-3-ціаношрол обробляли ацилгалогенідом у піридині і дихлорметані. Одержаний N-(1-d1-фенілетил)-2-фенілкарбоксамідо-3-ціанопірол обробляли сумішшю метанол/сірчана кислота у співвідношенні 10:1 для проведення замикання кільця, що приводить до d1-7H-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-d]піримідин-4(3H)-ону. Видалення фенілетилової групи при обробці піримідину поліфосфорною кислотою (PPA) з подальшою обробкою $POCl_3$, давало ключову проміжну сполуку 4-хлор-7H-піроло[2,3-d]піримідин. Подальша обробка 4-хлор-7H-піроло[2,3-d]піримідину різними амінами, перерахованими у таблиці 1, дає сполуки формули (I) і (II).

Таблиця I

| R | M' + H | R | M' + H |
|---|---------|---|---------|
|  | 343, 2 |  | 351, 27 |
|  | 343, 18 |  | 430, 35 |
|  | 337, 21 |  | 359, 44 |
|  | 364, 19 |  | 404, 32 |
|  | 330, 18 |  | 330, 45 |
|  | 347, 22 |  | 339, 47 |
|  | 350, 28 |  | 353, 41 |
|  | 344, 19 |  | 324, 45 |
|  | 394, 16 |  | 359, 38 |
|  | 371, 12 |  | 379, 40 |
|  | 359, 39 |  | 387, 41 |
|  | 403, 33 |  | 344, 48 |
|  | 351, 49 |  | 337, 53 |
|  | 330, 37 |  | 295, 2 |
|  | 407, 23 |  | 321, 2 |
|  | 355, 45 |  | 337, 53 |
|  | 441, 33 |  | 350, 2 |
|  | 413, 24 |  | 343, 2 |
|  | 372, 48 |  | 373, 2 |
| | |  | 307, 2 |

Загальний підхід до одержання 6-заміщених піролів зображений на наступній схемі (Схема II).

Схема II

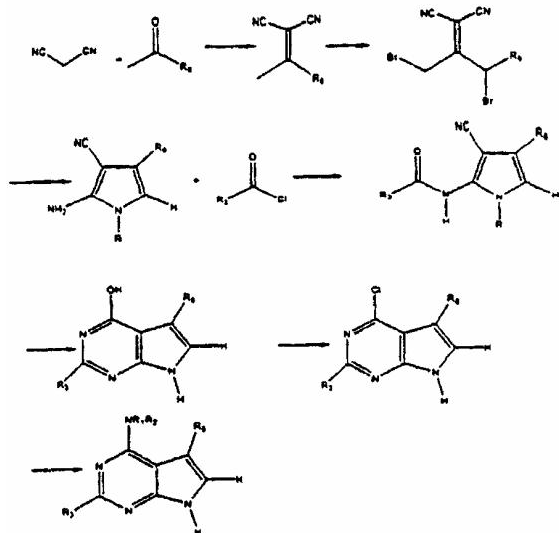


де R_1 - R_5 є такими, як визначено вище.

Переестерифікація і алкілювання етилціаноацетату α -галогенкетонем приводять до кетометилового складного ефіру. Захист кетону з подальшою обробкою гідрохлоридом амідину (наприклад, алкіл, арил або алкіларил) приводить до кінцевого піримідину, захищеного кеталем. Видалення захисної групи з подальшою циклізацією і обробкою оксихлоридом фосфору приводить до хлорвмісної проміжної сполуки, яка далі може бути оброблена аміном з одержанням амін-6-заміщеного піролу. Додатково може бути здійснене алкілювання азоту піролу в умовах, відомих в даній області.

Загальний підхід до синтезу 5-заміщених піролів зображений на наступній схемі (Схема III)

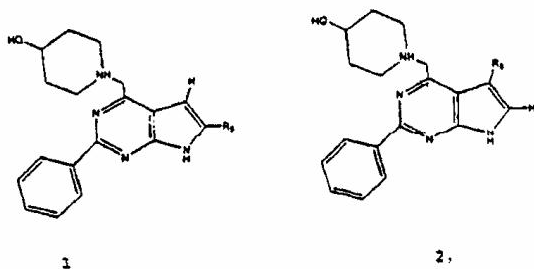
Схема III



де R_1 - R_6 є такими, як визначено вище, і R являє собою захисну групу, що видаляється.

Конденсація малонітрилу і надлишку кетону з подальшим бромуванням продукту приводить до суміші вихідної речовини, монобромованого і дибромованого продуктів, які були оброблені алкіламіном, ариламіном або алкіларил аміном. Одержаний амінний продукт ацилювали хлорангідридом кислоти і моноацильований пірол циклізували в присутності кислоти з одержанням відповідного піримідину. Захисну групу піролу видаляли поліфосфорною кислотою і обробляли оксихлоридом фосфору з одержанням хлорованого продукту. Хлорований пірол згодом міг бути оброблений аміном, даючи аміно-5-заміщений пірол. Алкілювання азоту піролу може бути здійснене в умовах, відомих в даній області.

На схемах IV і V зображені способи одержання дезазапуринів 1 і 2 за винаходом.

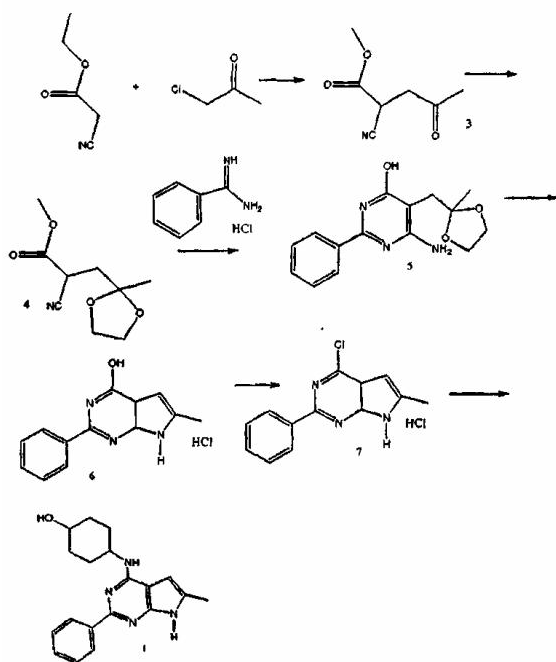


де R_5 і R_6 є такими, як описано вище, наприклад, CH_3 .

Конкретне одержання 6-метилпіролопіримідинів

Ключовою реакцією для одержання 6-метилпіролопіримідинів (1) [$R_5=\text{CH}_3$] була циклізація ціаноацетату з бензамідином у піримідин. Передбачали, що метилціаноацетат буде циклізуватись з бензамідином у піримідин більш ефективно, ніж відповідний етиловий складний ефір. Тому, переетерифікація і алкілювання етилціаноацетату в присутності NaOMe і надлишку α -галогенацетильного фрагменту, наприклад, хлорацетону, давала бажаний метиловий складний ефір (3) з виходом 79% (схема IV). Складний кетоефір (3) захищали у вигляді ацеталю (4) з виходом 81%. Новий спосіб циклізації у піримідин (5) здійснювали з використанням гідрохлориду амідину, наприклад, гідрохлориду бензамідину, з використанням 2 еквівалентів ДБУ, одержуючи 5 з виходом виділеного продукту 54%. Даний спосіб дозволяє поліпшити вихід з 20% відповідно до опублікованих умов, де під час циклізації з гуанідином використовується NaOMe . Циклізацію у пірол-піримідин (6) проводили зняттям ацетального захисту у водній HCl з 78% виходом. Взаємодія (6) з оксихлоридом фосфору при кипінні із зворотним холодильником давала відповідне 4-хлоропохідне (7). Поєднання з транс-4-аміноциклогексанолом у диметилсульфоксиді при 135°C давало (1) з виходом 57% з (7). Фахівцям в даній області буде очевидно, що вибір реагентів допускає велику гнучкість при виборі бажаного замісника R_5 .

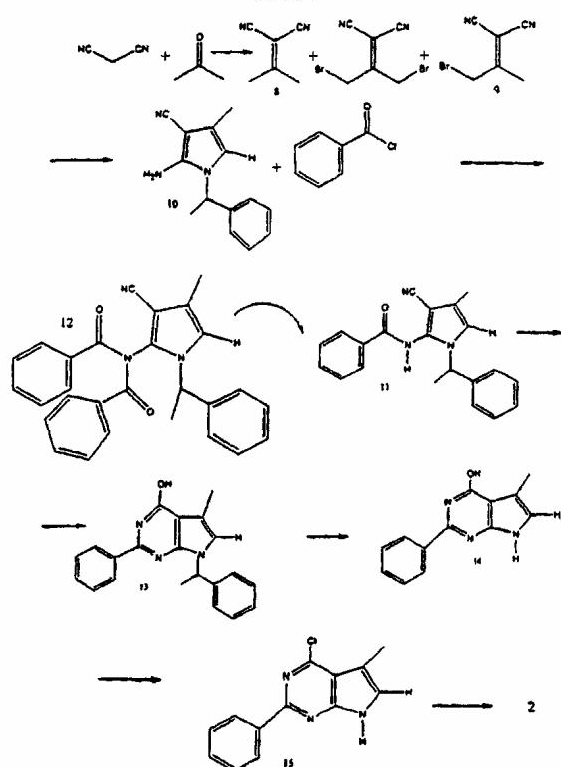
Схема IV



Конкретне одержання 5-метилпіролопіримідинів

Конденсація Кневенагеля малонітрилу і надлишку кетону, наприклад, ацетону в киплячому бензолі приводила до 8 з виходом 50% після перегонки. Бромовання 8 N-бромсукцинімідом у присутності перекису бензоїлу у хлороформі давало суміш вихідної речовини, моно- (9), і дибромованого продуктів (5/90/5) після перегонки (70%). Суміш піддавали взаємодії з α -метилалкіламіном або α -метилариламіном, наприклад, α -метилбензиламіном, одержуючи амінопірол (10). Після пропущення через коротку колонку з силікагелем частково очищений амін (вихід 31%) ацилювали хлорангідридом кислоти, наприклад, бензоїлхлоридом, одержуючи моно- (11) і діацильовані (12) піроли, які розділяли флеш-хроматографією. Кислотний гідроліз дизаміщеного піролу (12) давав загальний вихід у 29% для ацилпіролу (11). Циклізація у присутності концентрованої сірчаної кислоти і ДМФ давала (13) (23%), в якому знімали захист поліфосфорною кислотою, одержуючи (14). Взаємодія (14) з оксихлоридом фосфору при кипінні із зворотним холодильником давала відповідне 4-хлоропохідне (15). Поєднання з транс-4-аміноциклогексанолом у диметилсульфоксиді при 135°C давало (2) [$R_5=\text{CH}_3$] у з виходом 30% з (14) (дивись схему V). Фахівцям в даній області буде очевидно, що вибір реагентів допускає велику гнучкість при виборі бажаного замісника R_6 .

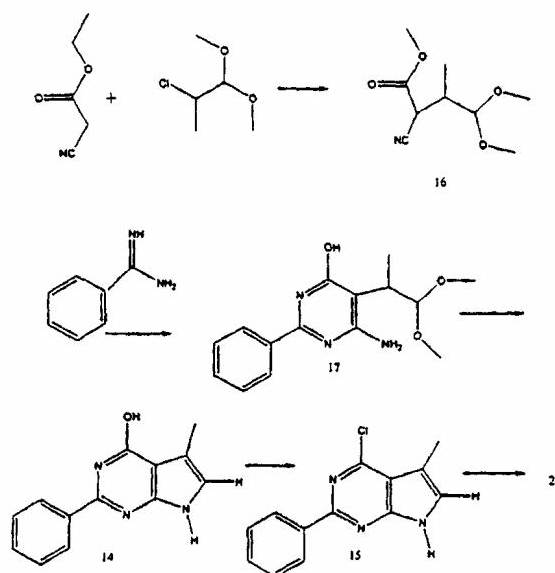
Схема V



Альтернативний шлях синтезу R_6 -заміщених піролів, наприклад, 5-метилпіролопіримідинів

Даний альтернативний шлях до R_6 -заміщених піролів, наприклад, 5-метилпіролопіримідинів, включає переетерифікацію і алкілювання етилціаноацетату з утворенням (16) (схема VI). Конденсація (16) з гідрохлоридом бензамідину з використанням 2 еквівалентів ДБУ давала піримідин (17). Циклізацію у піролопіримідин (14) будуть проводити шляхом зняття ацетального захисту у водній HCl . Взаємодія (14) з оксихлоридом фосфору при кипінні із зворотним холодильником давала відповідне 4-хлорпохідне (15). Поеднання з транс-4-аміноциклогексанолом в диметилсульфоксиді при $135^\circ C$ давало (2). За даною методикою число синтетичних реакцій для цільової сполуки (2) зменшується з 9 до 4 стадій. Крім того, вихід різко поліпшується. Знову ж, фахівцям в даній області буде очевидно, що вибір реагентів допускає велику гнучкість при виборі бажаного замісника R_6 .

Схема VI



Загальний підхід до одержання дез-метилпіролу зображений на наступній схемі (Схема VII).

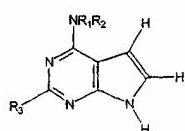
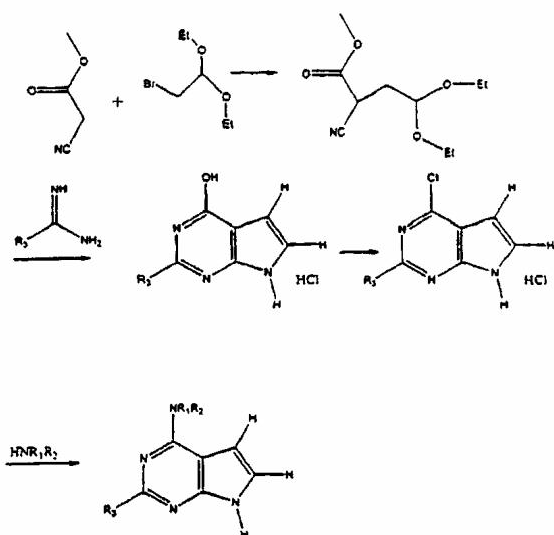


Схема VII

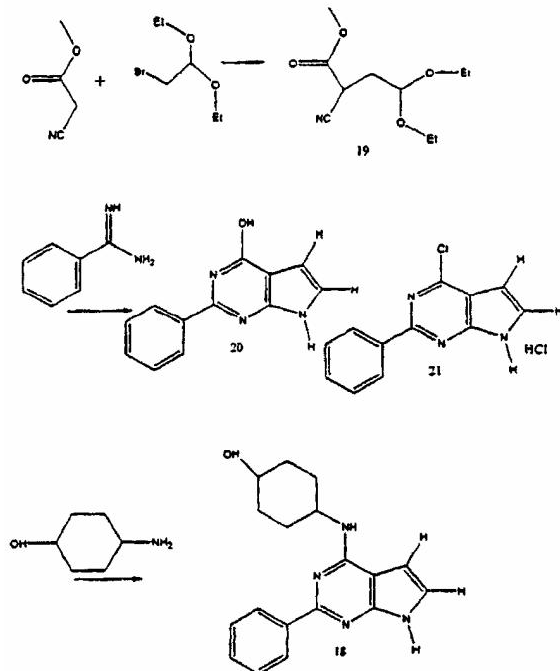


де R_1 - R_3 є такими, як визначено вище.

Алкилювання алкілціаноацетату діетилацеталем у присутності основи давало ціанодіетилацеталь, який обробляли сіллю амідину, одержуючи попередник метилпіролопіримідину. Попередник хлорували і обробляли аміном з утворенням цільового дез-метилпіролопіримідину, як показано вище.

Наприклад, на схемі VIII зображений синтез сполуки (18).


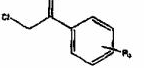



Схема VIII



Комерційно доступний метилціаноацетат алкилювали діетилацеталем бромацетальдегіду в присутності карбонату калію і NaI, одержуючи (19). Циклізацію у піримідин (20) проводили в дві стадії. Спочатку, утворювався піримідин-ацеталь при реакції (19) з гідрохлоридом бензамідину з використанням 2 еквівалентів ДБУ. В одержаному піримідин-ацеталі без очищення знімали захисну групу водної 1н HCl і одержаний альдегід циклізували у піроло-піримідин (20), який виділяли фільтруванням. Взаємодія (20) з оксихлоридом фосфору при кипінні із зворотним холодильником приводила до відповідного 4-хлорпохідного (21). Зв'язування хлорпохідного з транс-4-аміноциклогексаноном в ДМСО при 135°C давало сполуку (18) із сполуки (21).

На схемах II-VIII продемонстровано, що можна функціоналізувати 5- і 6-положення піролопіримідинового кільця. З використанням різних вихідних реагентів і незначних модифікацій вищезгаданих реакційних схем різні функціональні групи можуть бути введені в 5- і 6-положення у формулі (I) і (II). Деякі приклади проілюстровані у таблиці 2.

Таблиця 2.
Вибраний перелік 5- і 6-заміщених піролопіримідинів.

| Вихідний реагент | R ₅ | R ₆ |
|---|-----------------------|--------------------------------------|
|  | H | |
|  | H | Заміщений Ar |
|  | H | CH ₂ C(O)OCH ₃ |
|  | C(O)OCH ₃ | CH ₃ |
|  | C(O)NHCH ₃ | CH ₃ |

Кваліфікованому фахівцеві відомо, що метаболізм описаних тут сполук у суб'єкта буде приводити до деяких біологічно активних метаболітів, які служать як лікарські засоби.

Винахід далі проілюстрований наступними прикладами, які жодним чином не треба розглядати як додаткове обмеження. Зміст всіх посилань, що чекають рішення заявок на патенти і опублікованих заявок на патенти, процитованих в даній заявці, включаючи процитовані в розділі «Передумови створення винаходу», включений в даний опис як посилання. Потрібно розуміти, що моделі, використані у прикладах, є загальноприйнятими моделями, і демонстрування ефективності на даних моделях передбачає ефективність на людях.

Одержання 1.

Використали модифікацію способу алкілювання Seela і Lüpke¹. До розчину, що охолоджується льодом, (0°C) етилцаноацетату (6,58г, 58,1ммоль) в MeOH повільно додавали розчин NaOMe (25% ваг./об.; 58,1ммоль). Через 10 хвилин повільно додавали хлорацетон (5мл; 62,8ммоль). Через 4 години розчинник видаляли. Коричневе масло розбавляли EtOAc (100мл) і промивали H₂O (100мл). Органічну фракцію сушили, фільтрували і концентрували, одержуючи коричневе масло (7,79г; 79%). Масло (3) (схема IV) являло собою суміш продуктів метилового/етилового складних ефірів (9/1) і його використали без додаткового очищення. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 4,24 (кв, J=7,2Гц, OCH₂), 3,91 (дд, 1H, J=7,2, 7,0Гц, CH), 3,62 (с, 3H, OCH₃), 3,42 (дд, 1H, J=15,0, 7,1Гц, 1xCH₂), 3,02 (дд, 1H, J=15,0, 7,0Гц, 1xCH₂); 2,44 (с, 3H, CH₃), 1,26 (т, J=7, 1Гц, складноефірний-CH₃).

¹ Seela F.; Lüpke U. Chem.Ber. 1977, 110, 1462-1469.

Одержання 2:

Використали метод Seela і Lüpke¹. Таким чином, захист кетону (3) (схема IV; 5,0г, 32,2ммоль) етиленгліколем (4мл, 64,4ммоль) в присутності TsOH (100мг) давала 4 у вигляді масла (схема IV; 5,2г, 81,0) після флеш-хроматографії (SiO₂; 3/7 EtOAc/гексани, R_f 0,35). Продукт все ще містить 5% етилового складного ефіру: ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 4,24 (кв, J=7,2Гц, OCH₂), 3,98 (с, 4H, 2хацетальний-CH₂), 3,79 (с, 3H, OCH₃), 3,62 (дд, 1H, J=7,2, 7,0Гц, CH), 2,48 (дд, 1H, J=15,0, 7,1Гц, 1xCH₂), 2,32 (дд, 1H, J=15,0, 7,0Гц, 1xCH₂); 1,35 (с, 3H, CH₃), 1,26 (т, J=7,1Гц, складноефірний-CH₃); Мас-спектр (ES-електророзпилення): 200,1 (M⁺+1).

¹ Seela F.; Lüpke U. Chem.Ber. 1977, 110, 1462-1469.

Одержання 3:

Розчин ацеталю (4) (схема IV; 1,0г, 5,02ммоль), бензамідину (786мг, 5,02ммоль) і ДБУ (1,5мл, 10,04ммоль) в сухому ДМФ (15мл) нагрівали при 85°C протягом 15 годин. Суміш розбавляли CHCl₃ (30мл) і промивали 0,5н NaOH (10мл) і H₂O (20мл). Органічну фракцію сушили, фільтрували і концентрували, одержуючи коричневе масло. Була зроблена проба флеш-хроматографії (SiO₂; 1/9 EtOAc/CH₂Cl₂, R_f 0,35), але речовина кристалізувалась на колонці. Силікагель промивали MeOH. Фракції, що містять продукт (5) (схема IV), концентрували і використовували без додаткового очищення (783мг, 54,3%): ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 8,24 (м, 2H, Ar-H), 7,45 (м, 3H, Ar-H), 5,24 (ушир.с, 2H, NH₂), 3,98 (с, 4H, 2хацетальний-CH₂), 3,60-3,15 (м, 2H, CH₂), 1,38 (с, 3H, CH₃); Мас-спектр (ES): 288,1 (M⁺+1).

Одержання сполуки (20) (схема VIII): Розчин ацеталю (19) (4,43г, 20,6ммоль) 1, гідрохлориду бензамідину (3,22г, 20,6ммоль) і ДБУ (6,15мл, 41,2ммоль) в безводному ДМФ (20мл) нагрівали при 85°C протягом п'ятнадцяти годин. Суміш розбавляли CHCl₃ і промивали H₂O (2x50мл). Органічну фракцію сушили, фільтрували і концентрували, одержуючи темно-коричневе масло. Темно-коричневе масло перемішували в 1н HCl (100мл) протягом 2 годин при кімнатній температурі. Одержану суспензію фільтрували, одержуючи HCl сіль сполуки (20) у вигляді золотисто-коричневої твердої речовини (3,60г, 70,6%); ¹H-ЯМР (200МГц, DMSO-d₆) 11,92 (с, 1H), 8,05 (м, 2H, Ar-H), 7,45 (м, 3H, Ar-H), 7,05 (с, 1H, пірол-Н); Мас-спектр (ES): 212,1 (M⁺+1).

Одержання 4:

Розчин ацеталю (5) (700мг, 2,44ммоль) в 1н HCl (40мл) перемішували протягом 2 годин при кімнатній температурі. Одержану суспензію фільтрували, одержуючи HCl сіль 2-феніл-6-метил-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4(3Н)-ону у вигляді золотисто-коричневої твердої речовини (498мг, 78,0 ¹H-ЯМР (200МГц, DMSO-d₆) δ 11,78 (с, 1H), 8,05 (м, 2H, Ar-H), 7,45 (м, 3H, Ar-H), 6,17 (с, 1H, пірол-Н), 2,25 (с, 3H, CH₃); Мас-спектр (ES): 226,1 (M⁺+1).

Одержання 5:

Використали модифікацію способу циклізації Chen et al.¹ До розчину броміду (9), що охолоджується льодом (0°C), (схема V; 20,0г, 108ммоль, 90% чистота) в ізопропіловому спирті (60мл) повільно додавали розчин α-метилбензиламіну (12,5мл, 97,3ммоль). Чорний розчин залишали нагріватись до кімнатної

температури і перемішували протягом 15 годин. Суміш розбавляли EtOAc (200мл) і промивали 0,5н NaOH (50мл). Органічну фракцію сушили, фільтрували і концентрували, одержуючи чорну смолу (19,2г; 94%). Залишок частково очищали флеш-хроматографією (SiO₂; 4/96 MeOH/CH₂Cl₂, R_f 0,35), одержуючи чорну тверду речовину (6,38г, 31%), що являє собою d1-1-(1-фенілетил)-2-аміно-3-ціано-4-метилпірол: Мас-спектр (ES): 226,1 (M⁺+1).

¹ Chen Y.L.; Mansbach R.S.; Winter S.M.; Brooks E.; Collins J.; Coman M.L.; Dunaikis A.R.; Faraci W.S.; Gallaschun R.J.; Schmidt A.; Schulz D.W. J. Med. Chem., 1997, 40, 1749-1754.

Одержання 6: До розчину d1-1-(1-фенілетил)-2-аміно-3-ціано-4,5-диметилпіролу (14,9г, 62,5ммоль) і піридину (10,0мл) в дихлорметані (50,0мл) додавали хлористий бензоїл (9,37г, 66,7ммоль) при 0°C. Після перемішування при 0°C протягом 1 години додавали гексан для полегшення кристалізації продукту. Розчинник видаляли у вакуумі і тверду речовину перекристалізовували з суміші EtOH/H₂O, одержуючи 13,9г (65%) d1-1-(1-фенілетил)-2-фенілкарбоніламіно-3-ціано-4,5-диметилпіролу, т.пл. 218-221°C; ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,72 (с, 3H), 1,76 (д, J=7,3Гц, 3H), 1,98 (с, 3H), 5,52 (кв, J=7,3Гц, 1H), 7,14-7,54 (м, 9H), 7,68-7,72 (дд, J=1,4Гц, 6,9Гц, 2H), 10,73 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 344,4 (M⁺+1).

¹ Liebigs Ann. Chem., 1986, 1485-1505.

Аналогічним чином одержували наступні сполуки.

Одержання 6A:

d1-1-(1-фенілетил)-2-(3-піридил)карбоніламіно-3-ціано-4,5-диметилпірол. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,83 (д, J=6,8Гц, 3H), 2,02 (с, 3H), 2,12 (с, 3H), 5,50 (кв, J=6,8Гц, 1H), 7,14-7,42 (м, 5H), 8,08 (м, 2H), 8,75 (м, 3H); Мас-спектр (ES): 345,2 (M⁺+1).

d1-1-(1-фенілетил)-2-(2-фурил)карбоніламіно-3-ціано-4,5-диметилпірол. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,84 (д, J=7,4Гц, 3H), 1,92 (с, 3H), 2,09 (с, 3H), 5,49 (кв, J=7,4Гц, 1H), 6,54 (дд, J=1,8Гц, 3,6Гц, 1H), 7,12-7,47 (м, 7H); Мас-спектр (ES): 334,2 (M⁺+1), 230,1.

d1-1-(1-фенілетил)-2-(3-фурил)карбоніламіно-3-ціано-4,5-диметилпірол. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,80 (д, J=7Гц, 3H), 1,89 (с, 3H), 2,05 (с, 3H), 5,48 (кв, J=7Гц, 1H), 6,59 (с, 1H), 7,12-7,40 (м, 6H), 7,93 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 334,1 (M⁺+1), 230,0.

d1-1-(1-фенілетил)-2-циклопентилкарбоніламіно-3-ціано-4,5-диметилпірол. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,82 (д, J=7,4Гц, 3H), 1,88 (с, 3H), 2,05 (с, 3H), 1,63-1,85 (м, 8H), 2,63 (м, 1H), 5,43 (кв, J=7,4Гц, 1H), 6,52 (с, 1H), 7,05-7,20 (м, 5H); Мас-спектр (ES): 336,3 (M⁺+1).

d1-1-(1-фенілетил)-2-(2-тієніл)карбоніламіно-3-ціано-4,5-диметилпірол. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,82 (д, J=6,8Гц, 3H), 1,96 (с, 3H), 2,09 (с, 3H), 5,49 (кв, J=6,8Гц, 1H), 7,05-7,55 (м, 8H); Мас-спектр (ES): 350,1 (M⁺+1), 246,0.

d1-1-(1-фенілетил)-2-(3-тієніл)карбоніламіно-3-ціано-4,5-диметилпірол. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,83 (д, J=7,0Гц, 3H), 1,99 (с, 3H), 2,12 (с, 3H), 5,49 (кв, J=7,0Гц, 1H), 6,90 (м, 1H), 7,18-7,36 (м, 6H), 7,79 (м, 1H); Мас-спектр (ES): 350,2 (M⁺+1), 246,1.

d1-1-(1-фенілетил)-2-(4-фторфеніл)карбоніламіно-3-ціано-4,5-диметилпірол. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,83 (д, J=7,4Гц, 3H), 1,96 (с, 3H), 2,08 (с, 3H), 5,51 (кв, J=7,4Гц, 1H), 7,16-7,55 (м, 9H); Мас-спектр (ES): 362,2 (M⁺+1), 258,1.

d1-1-(1-фенілетил)-2-(3-фторфеніл)карбоніламіно-3-ціано-4,5-диметилпірол. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,83 (д, J=7,4Гц, 3H), 1,97 (с, 3H), 2,10 (с, 3H), 5,50 (кв, J=7,4Гц, 1H), 7,05-7,38 (м, 7H), 7,67-7,74 (м, 2H); Мас-спектр (ES): 362,2 (M⁺+1), 258,1.

d1-1-(1-фенілетил)-2-(2-фторфеніл)карбоніламіно-3-ціано-4,5-диметилпірол. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,85 (д, J=7,2Гц, 3H), 1,94 (с, 3H), 2,11 (с, 3H), 5,50 (кв, J=7,2Гц, 1H), 7,12-7,35 (м, 6H), 7,53 (м, 1H), 7,77 (м, 1H), 8,13 (м, 1H); Мас-спектр (ES): 362,2 (M⁺+1), 258,0.

d1-1-(1-фенілетил)-2-ізопропілкарбоніламіно-3-ціано-4,5-диметилпірол. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,19 (д, J=7,0Гц, 6H), 1,82 (д, J=7,2Гц, 3H), 1,88 (с, 3H), 2,06 (с, 3H), 2,46 (м, 1H), 5,39 (м, J=7,2Гц, 1H), 6,64 (с, 1H), 7,11-7,36 (м, 5H); Мас-спектр (ES): 310,2 (M⁺+1), 206,1.

При ацилюванні d1-1-(1-фенілетил)-2-аміно-3-ціано-4-метилпіролу одержували моноацильований d1-1-(1-фенілетил)-2-бензоїламіно-3-ціано-4-метилпірол і діацильований пірол d1-1-(1-фенілетил)-2-добензоїламіно-3-ціано-4-метилпірол. Моноацильований пірол: ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 7,69 (д, 2H, J=7,8Гц, Ar-H), 7,58-7,12 (м, 8H, Ar-H), 6,18 (с, 1H, пірол-N), 5,52 (кв, 1H, J=7,2Гц, CH-CH₃), 2,05 (с, 3H, пірол-CH₃), 1,85 (д, 3H, J=7,2Гц, CH-CH₃); Мас-спектр (ES): 330,2 (M⁺+1); Діацильований пірол: ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 7,85 (д, 2H, J=7,7Гц, Ar-H), 7,74 (д, 2H, J=7,8Гц, Ar-H), 7,52-7,20 (м, 9H, Ar-H), 7,04 (м, 2H, Ar-H), 6,21 (с, 1H, пірол-H), 5,52 (кв, 1H, J=7,2Гц, CH-CH₃), 1,77 (д, 3H, J=7,2Гц, CH-CH₃), 1,74 (с, 3H, пірол-CH₃); Мас-спектр (ES): 434,1 (M⁺+1).

Одержання 7:

До розчину d1-1-(1-фенілетил)-2-фенілкарбоксіаміно-3-ціано-4,5-диметилпіролу (1,0г, 2,92ммоль) в метанолі (10,0мл) додавали концентровану сірчану кислоту (1,0мл) при 0°C. Одержану суміш нагрівали при кипінні із зворотним холодильником протягом 15 годин і охолоджували до кімнатної температури. Осад відфільтровували, одержуючи 0,48г (48%) d1-5,6-диметил-2-феніл-7H-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-d]піримідин-4(3H)-он. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 2,02 (д, J=7,4Гц, 3H), 2,04 (с, 3H), 2,41 (с, 3H), 6,25 (кв, J=7,4Гц, 1H), 7,22-7,50 (м, 9H), 8,07-8,12 (дд, J=3,4Гц, 6,8Гц, 2H), 10,51 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 344,2 (M⁺+1). Наступні сполуки одержували способом, аналогічним описаному в одержанні 7.

d1-5,6-диметил-2-(3-піридил)-7H-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-d]піримідин-4(3H)-он. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 2,03 (д, J=7,2Гц, 3H), 2,08 (с, 3H), 2,42 (с, 3H), 6,24 (кв, J=7,2Гц, 1H), 7,09-7,42 (м, 5H), 8,48 (м, 2H), 8,70 (м, 3H); Мас-спектр (ES): 345,1 (M⁺+1).

d1-5,6-диметил-2-(2-фурил)-7H-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-d]піримідин-4(3H)-он. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,98 (д, J=7,8Гц, 3H), 1,99 (с, 3H), 2,37 (с, 3H), 6,12 (кв, J=7,8Гц, 1H), 6,48 (дд, J=1,8Гц, 3,6Гц, 1H), 7,17-7,55 (м, 7H), 9,6 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 334,1 (M⁺+1).

d1-5,6-диметил-2-(3-фурил)-7H-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-d]тримідин-4(3H)-он. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,99 (д, J=7Гц, 3H), 2,02 (с, 3H), 2,42 (с, 3H), 6,24 (кв, J=7Гц, 1H), 7,09 (с, 1H), 7,18-7,32 (м, 5H), 7,48 (с, 1H), 8,51 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 334,2 (M⁺+1).

d1-5,6-диметил-2-циклопентил-7Н-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-*d*]піримідин-4 (3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,95 (д, J=7,4Гц, 3Н), 2,00 (с, 3Н), 2,33 (с, 3Н), 1,68-1,88 (м, 8Н), 2,97 (м, 1Н), 6,10 (кв, J=7,4Гц, 1Н), 7,167, 30 (м, 5Н), 9,29 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 336,3 (M⁺+1).

d1-5,6-диметил-2-(2-тієніл)-7Н-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 2,02 (д, J=7,2Гц, 3Н), 2,06 (с, 3Н), 2,41 (с, 3Н), 6,13 (кв, J=7,2Гц, 1Н), 7,12 (дд, J=4,8, 2,8Гц, 1Н), 7,26-7,32 (м, 5Н), 7,44 (д, J=4,8Гц, 1Н), 8,01 (д, J=2,8Гц, 1Н) 11,25 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 350,2 (M⁺+1).

d1-5,6-диметил-2-(3-тієніл)-7Н-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 2,00 (д, J=7,4Гц, 3Н), 2,05 (с, 3Н), 2,43 (с, 3Н), 6,24 (кв, J=7,4Гц, 1Н), 7,24-7,33 (м, 5Н), 7,33-7,39 (м, 1Н), 7,85 (м, 1Н), 8,47 (м, 1Н), 12,01 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 350,2 (M⁺+1).

d1-5,6-диметил-2-(4-фторфеніл)-7Н-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 2,01 (д, J=6,8Гц, 3Н), 2,05 (с, 3Н), 2,42 (с, 3Н), 6,26 (кв, J=6,8Гц, 1Н), 7,12-7,36 (м, 7Н), 8,23-8,30 (м, 2Н), 11,82 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 362,3 (M⁺+1).

d1-5,6-диметил-2-(3-фторфеніл)-7Н-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 2,02 (д, J=7,4Гц, 3Н), 2,06 (с, 3Н), 2,44 (с, 3Н), 6,29 (кв, J=7,4Гц, 1Н), 7,13-7,51 (м, 7Н), 8,00-8,04 (м, 2Н), 11,72 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 362,2 (M⁺+1).

d1-5,6-диметил-2-(2-фторфеніл)-7Н-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 2,00 (д, J=7,2Гц, 3Н), 2,05 (с, 3Н), 2,38 (с, 3Н), 6,24 (кв, J=7,2Гц, 1Н), 7,18-7,45 (м, 8Н), 8,21 (м, 1Н), 9,54 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 362,2 (M⁺+1).

d1-5,6-диметил-2-ізопропіл-7Н-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,30 (д, J=6,8Гц, 3Н), 1,32 (д, J=7,0Гц, 3Н), 2,01 (с, 3Н), 2,34 (с, 3Н), 2,90 (м, 1Н), 6,13 (м, 1Н), 7,17-7,34 (м, 5Н), 10,16 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 310,2 (M⁺+1).

Одержання 8:

Розчин d1-1-(1-фенілетил)-2-бензоїламіно-3-ціано-4-метилпіролу (785мг, 2,38ммоль) з концентрованої H₂SO₄ (1мл) в ДМФ (13мл) перемішували при 130°C протягом 48 годин. Чорний розчин розбавляли CHCl₃ (100 мл) і промивали 1н NaOH (30мл) і насиченим розчином солі (30мл). Органічну фракцію сушили, фільтрували, концентрували і очищали флеш-хроматографією (SiO₂; 8/2 EtOAc/гексани, R_f 0,35), одержуючи коричневу тверду речовину (6,38г, 31%), що являє собою d1-5-метил-2-феніл-7Н-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 8,18 (м, 2Н, Ar-Н), 7,62-7,44 (м, 3Н, Ar-Н), 7,407,18 (м, 5Н, Ar-Н), 6,48 (с, 1Н, пірол-Н), 6,28 (кв, 1Н, J=7,2Гц, CH-CH₃), 2,18 (с, 3Н, пірол-CH₃), 2,07 (д, 3Н, J=7,2Гц, CH-CH₃); Мас-спектр (ES): 330,2 (M⁺+1).

Одержання 9:

Суміш d1-1-(1-фенілетил)-2-аміно-3-ціано-4,5-диметилпіролу (9,60г, 40,0ммоль) і мурашиної кислоти (50,0мл, 98%) нагрівали при кипінні із зворотним холодильником протягом 5 годин. Після охолодження до кімнатної температури і потирання бічних сторін колби утворювався рясний осад, який відфільтровували. Речовину промивали водою доти, поки промивні води не показували нейтрального значення рН, одержуючи d1-5,6-диметил-7Н-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,96 (д, J=7,4Гц, 3Н), 2,00 (с, 3Н), 2,38 (с, 3Н), 6,21 (кв, J=7, 4Гц, 1Н), 7, 11-7,35 (м, 5Н), 7,81 (с, 1Н), 11,71 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 268,2 (M⁺+1).

Одержання 10:

d1-5,6-диметил-2-феніл-7Н-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он (1,0г, 2,91ммоль) суспендували у поліфосфорній кислоті (30,0мл). Суміш нагрівали при 100°C протягом 4 годин. Гарячу суспензію виливали в крижану воду, інтенсивно перемішували для диспергування суспензії і підлугували твердим КОН до рН 6. Одержану тверду речовину відфільтровували і виділяли, одержуючи 0,49г (69%) 5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, DMSO-*d*₆) δ 2,17 (с, 3Н), 2,22 (с, 3Н), 7,45 (ушир., 3Н), 8,07 (ушир., 2Н.), 11,49 (с, 1Н), 11,82 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 344,2 (M⁺+1).

Наступні сполуки одержували способом, аналогічним описаному в одержанні 10:

5-метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. Мас-спектр (ES): 226,0 (M⁺+1).

5,6-диметил-2-(3-піридил)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. Мас-спектр (ES): 241,1 (M⁺+1).

5,6-диметил-2-(2-фурил)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, DMSO-*d*₆) δ 2,13 (с, 3Н), 2,18 (с, 3Н), 6,39 (дд, J=1,8, 3,6Гц, 1Н), 6,65 (дд, J=1,8Гц, 3,6Гц, 1Н), 7,85 (дд, J=1,8, 3,6Гц, 1Н.), 11,45 (с, 1Н), 11,60 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 230, 1 (M⁺+1).

5,6-диметил-2-(3-фурил)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, DMSO-*d*₆) δ 2,14 (с, 3Н), 2,19 (с, 3Н), 6, 66 (с, 1Н), 7,78 (с, 1Н), 8,35 (с, 1Н), 11,3 (с, 1Н), 11,4 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 230,1 (M⁺+1).

5,6-диметил-2-циклопентил-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, DMSO-*d*₆) δ 1,57-1,91 (м, 8Н), 2,12 (с, 3Н), 2,16 (с, 3Н), 2,99 (м, 1Н), 11,24 (с, 1Н), 11,38 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 232,2 (M⁺+1).

5,6-диметил-2-(2-тієніл)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, DMSO-*d*₆) δ 2,14 (с, 3Н), 2,19 (с, 3Н), 7,14 (дд, J=3,0, 5,2Гц, 1Н), 7,70 (д, J=5,2Гц, 1Н), 8,10 (д, J=3,0Гц, 1Н), 11,50 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 246,1 (M⁺+1).

5,6-диметил-2-(3-тієніл)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, DMSO-*d*₆) δ 2,17 (с, 3Н), 2,21 (с, 3Н), 7,66 (м, 1Н), 7,75 (м, 1Н), 8,43 (м, 1Н), 11,47 (с, 1Н), 11,69 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 246,1 (M⁺+1).

5,6-диметил-2-(4-фторфеніл)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, DMSO-*d*₆) δ 2,17 (с, 3Н), 2,21 (с, 3Н), 7,31 (м, 2Н), 8,12 (м, 2Н), 11,47 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 258,2 (M⁺+1).

5,6-диметил-2-(3-фторфеніл)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, DMSO-*d*₆) δ 2,18 (с, 3Н), 2,21 (с, 3Н), 7,33 (м, 1Н), 7,52 (м, 1Н), 7,85-7,95 (м, 2Н), 11,56 (с, 1Н), 11,80 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 258,1 (M⁺+1).

5,6-диметил-2-(2-фторфеніл)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, DMSO-*d*₆) δ 2,18 (с, 3Н), 2,22 (с, 3Н), 7,27-7,37 (м, 2Н), 7,53 (м, 1Н), 7,68 (м, 1Н), 11,54 (с, 1Н), 11,78 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 258,1 (M⁺+1).

5,6-диметил-2-ізопропіл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, DMSO-*d*₆) δ 1,17 (д, J=6,6Гц, 6Н), 2,11 (с, 3Н), 2,15 (с, 3Н), 2,81 (м, 1Н), 11,20 (с, 1Н), 11,39 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 206,1 (M⁺+1).

5,6-диметил-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-он. ¹Н-ЯМР (200МГц, DMSO-*d*₆) δ 2,13 (с, 3Н), 2,17 (с, 3Н),

7,65 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 164,0 ($M^+ + 1$).

Одержання 11:

Розчин 5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4(3Н)-ону (1,0г, 4,2ммоль) в оксихлориді фосфору (25,0мл) нагрівали при кипінні із зворотним холодильником протягом 6 годин, а потім концентрували у вакуумі досуха. До залишку додавали воду для індукування кристалізації і одержану тверду речовину відфільтровували і збирали, одержуючи 0,9г (83%) 4-хлор-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідину. ^1H -ЯМР (200МГц, DMCO-d_6) δ 2,33 (с, 3Н), 2,33 (с, 3Н), 7,46-7,49 (м, 3Н), 8,30-8,35 (м, 2Н), 12,20 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 258,1 ($M^+ + 1$).

Наступні сполуки одержували способом, аналогічним описаному в одержанні 11:

4-хлор-5-метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): 244,0 ($M^+ + 1$).

4-хлор-6-метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): 244,0 ($M^+ + 1$).

4-хлор-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, DMCO-d_6) δ 8,35 (2,2Н), 7,63 (ушир.с, 1Н), 7,45 (м, 3Н), 6,47 (ушир.с, 1Н); Мас-спектр (ES): 230,0 ($M^+ + 1$).

4-хлор-5,6-диметил-2-(3-піридил)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): 259,0 ($M^+ + 1$).

4-хлор-5,6-диметил-2-(2-фурил)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, DMCO-d_6) δ 2,35 (с, 3Н), 2,35 (с, 3Н), 6,68 (дд, $J=1,8$, 3,6Гц, 1Н), 7,34 (дд, $J=1,8$ Гц, 3,6Гц, 1Н), 7,89 (дд, $J=1,8$, 3,6Гц, 1Н); Мас-спектр (ES): 248,0 ($M^+ + 1$).

4-хлор-5,6-диметил-2-(3-фурил)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, DMCO-d_6) δ 2,31 (с, 3Н), 2,31 (с, 3Н), 6,62 (с, 1Н), 7,78 (с, 1Н), 8,18 (с, 1Н), 12,02 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 248,1 ($M^+ + 1$).

4-хлор-5,6-диметил-2-циклопентил-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, DMCO-d_6) δ 1,61-1,96 (м, 8Н), 2,27 (с, 3Н), 2,27 (с, 3Н), 3,22 (м, 1Н), 11,97 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 250,1 ($M^+ + 1$).

4-хлор-5,6-диметил-2-(2-тієніл)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, DMCO-d_6) δ 2,29 (с, 3Н), 2,31 (с, 3Н), 7, 14 (дд, $J=3,1$ Гц, 4,0Гц, 1Н), 7,33 (д, $J=4,9$ Гц, 1Н), 7,82 (д, $J=3,1$ Гц, 1Н), 12,19 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 264,1 ($M^+ + 1$).

4-хлор-5,6-диметил-2-(3-тієніл)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, DMCO-d_6) δ 2,32 (с, 3Н), 2,32 (с, 3Н), 7,62 (дд, $J=3,0$, 5,2Гц, 1Н), 7,75 (д, $J=5,2$ Гц, 1Н), 8,20 (д, $J=3,0$ Гц, 1Н); Мас-спектр (ES): 264,0 ($M^+ + 1$).

4-хлор-5,6-диметил-2-(4-фторфеніл)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, DMCO-d_6) δ 2,33 (с, 3Н), 2,33 (с, 3Н), 7,30 (м, 2Н), 8,34 (м, 2Н), 12,11 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 276,1 ($M^+ + 1$).

4-хлор-5,6-диметил-2-(3-фторфеніл)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, DMCO-d_6) δ 2,31 (с, 3Н), 2,33 (с, 3Н), 7,29 (м, 1Н), 7,52 (м, 1Н), 7,96 (м, 1Н), 8,14 (м, 1Н), 11,57 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 276,1 ($M^+ + 1$).

4-хлор-5,6-диметил-2-(2-фторфеніл)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, DMCO-d_6) δ 2,34 (с, 3Н), 2,34 (с, 3Н), 7,33 (м, 2Н), 7,44 (м, 1Н), 7,99 (м, 1Н), 12,23 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 276,1 ($M^+ + 1$).

4-хлор-5,6-диметил-2-ізопропіл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ^1H -ЯМР (200мгц, DMCO-(1_6) δ 1,24 (д, $J=6,6$ Гц, 6Н), 2,28 (с, 3Н), 2,28 (с, 3Н), 3,08 (кв, $J=6,6$ Гц, 1Н), 11,95 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 224,0 ($M^+ + 1$).

4-хлор-5,6-диметил-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, DMCO-d_6) δ 2,31 (с, 3Н), 2,32 (с, 3Н), 8,40 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 182,0 ($M^+ + 1$).

1Н-4-хлор-5,6-диметил-2-феніл-7Н-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-*d*]тримідин.

Одержання 12:

До розчину d1-діамінопропану (1,48г, 20,0ммоль) і карбонату натрію (2,73г, 22,0ммоль) в діоксані (100,0мл) і воді (100,0мл) додавали ди-трет-бутилдикарбонат (4,80г, 22,0ммоль) при кімнатній температурі. Одержану суміш перемішували протягом 14 годин. Діоксан видаляли у вакуумі. Осад відфільтровували і фільтрат концентрували у вакуумі досуха. Залишок розтирали з EtOAc і потім відфільтровували. Фільтрат концентрували у вакуумі досуха, одержуючи суміш dl-1-аміно-2-(1,1-диметилетокси)карбоніламінопропану і d1-2-аміно-1-(1,1-диметилетокси)карбоніламінопропану, які не вдалось розділити звичайними методами хроматографії. Суміш використали для реакції у прикладі 8.

Одержання 13:

До розчину Fmoc- β -Ala-OH (1,0г, 3,212ммоль) і оксалілхлориду (0,428г, 0,29мл, 3,373ммоль) у дихлорметані (20,0мл) додавали декілька крапель N,N-диметилформаміду при 0°C. Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1 години з подальшим додаванням циклопропілметиламіну (0,229г, 0,28мл, 3,212ммоль) і триетиламіну (0,65г, 0,90мл, 6,424ммоль). Через 10 хвилин суміш обробляли 1М гідрохлоридом (10,0мл) і водну суміш екстрагували дихлорметаном (3x30,0мл). Органічний розчин концентрували у вакуумі досуха. Залишок розтирали з 20%-ним розчином піперидину в N,N-диметилформаміді (20,0мл) протягом 0,5 години. Після видалення розчинника у вакуумі залишок розтирали з 1М хлористим воднем (20,0мл) і етилацетатом (20,0мл). Суміш розділяли і водний шар підлугували твердим гідроксидом натрію до pH 8. Осад видаляли фільтруванням і водний шар піддавали іонообмінній колонковій хроматографії, елюючи 20% піридин, одержуючи 0,262г (57%) аміду N-циклопропілметил- β -аланіну. ^1H -ЯМР (200МГц, CD_3OD) δ 0,22 (м, 2Н), 0,49 (м, 2Н), 0,96 (м, 2Н), 2,40 (т, 2Н), 2,92 (т, 2Н), 3,05 (д, 2Н); Мас-спектр (ES): 143,1 ($M^+ + 1$).

Одержання 14:

N-трет-Бутоксикарбоніл-транс-1,4-циклогексилдіамін.

транс-1,4-Циклогексилдіамін (6,08г, 53,2ммоль) розчиняли в дихлорметані (100мл). Через канюлю додавали розчин ди-трет-бутил-дикарбонату (2,32г, 10,65ммоль в 40мл дихлорметану). Через 20 годин реакційну суміш розподіляли між CHCl_3 і водою. Шари розділяли і водний шар екстрагували CHCl_3 (3x). Об'єднані органічні шари сушили над MgSO_4 , фільтрували і концентрували, одержуючи 1,20г білої твердої речовини (53%). ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,0-1,3 (м, 4Н), 1,44 (с, 9Н), 1,8-2,1 (м, 4Н), 2,62 (ушир.м, 1Н), 3,40 (ушир.с, 1Н), 4,37 (ушир.с, 1НО); Мас-спектр (ES): 215,2 ($M^+ + 1$).

4-(N-Ацетил)-N-трет-бутоксикарбоніл-транс-1,4-циклогексилдіамін.

N-трет-Бутоксикарбоніл-транс-1,4-циклогексилдіамін (530мг, 2,47ммоль) розчиняли в дихлорметані (20мл). Додавали краплями оцтовий ангідрид (250мг, 2,60ммоль). Через 16 годин реакційну суміш розбавляли водою і CHCl_3 . Шари розділяли і водний шар екстрагували CHCl_3 (3x). Об'єднані органічні шари

сушили над MgSO_4 , фільтрували і концентрували. Перекристалізація ($\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$) давала 190мг білих кристалів (30%). ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 0,9-1,30 (м, 4Н), 1,43 (с, 9Н), 1,96-2,10 (м, 7Н), 3,40 (ушир.с, Ш), 3,70 (ушир.с, 1Н), 4,40 (ушир.с, 1Н), 4,40 (ушир.с, 1Н); Мас-спектр (ES): 257,2 ($\text{M}^+ + 1$), 242,1 ($\text{M}^+ - 15$), 201,1 ($\text{M}^+ - 56$).

4-(4-транс-Ацетамідоциклогексил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-(1-фенілетил)піроло[2,3-*d*]піримідин

4-(*N*-Ацетил)-*N*-трет-бутоксикарбоніл-транс-1,4-циклогексилдіамін (190мг, 0,74ммоль) розчиняли у дихлорметані (5мл) і розбавляли ТФОК (6мл). Через 16 годин реакційну суміш концентрували. Неочищену тверду речовину, ДМСО (2мл), NaHCO_3 (200мг, 2,2ммоль) і 4-хлор-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин (35мг, 0,14ммоль) об'єднували в колбі і нагрівали до 130°C. Через 4,5 години реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і розбавляли EtOAc і водою. 1Нари розділяли і водний шар екстрагували EtOAc (3х). Об'єднані органічні шари сушили над MgSO_4 , фільтрували і концентрували. Хроматографія (препаративна пластина з силікагелем; 20:1, $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$) давала 0,3мг золотисто-коричневої твердої речовини (1% вихід). Мас-спектр (ES): 378,2 ($\text{M}^+ + 1$)

4-(*N*-Метансульфоніл)-*N*-трет-бутоксикарбоніл-транс-1,4-циклогексилдіамін

транс-1,4-Циклогексилдіамін (530мг, 2,47ммоль) розчиняли в дихлорметані (20мл) і розводили піридином (233мг, 3,0ммоль). Додавали краплями метансульфонілхлорид (300мг, 2,60ммоль). Через 16 годин реакційну суміш розбавляли водою і CHCl_3 . Шари розділяли і водний шар екстрагували CHCl_3 (3х). Об'єднані органічні шари сушили над MgSO_4 , фільтрували і концентрували. Перекристалізація ($\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$) давала 206мг білих кристалів (29%). ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,10-1,40 (м, 4Н), 1,45 (с, 9Н), 2,00-2,20 (м, 4Н), 2,98 (с, 3Н), 3,20-3,50 (ушир.с, 2Н), 4,37 (ушир.с, 1Н); Мас-спектр (ES): 293,1 ($\text{M}^+ + 1$), 278,1 ($\text{M}^+ - 15$), 237,1 ($\text{M}^+ - 56$).

4-(4-транс-Метансульфамідоциклогексил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-(1-фенілетил)піроло[2,3-*d*]піримідин

4-(*N*-Сульфоніл)-*N*-трет-бутоксикарбоніл-транс-1,4-циклогексилдіамін (206мг, 0,71ммоль) (5мл) і розбавляли ТФОК (6мл). Через 16 годин реакційну суміш концентрували. Неочищену реакційну суміш, ДМСО (2мл), NaHCO_3 (100мг, 1,1ммоль) і 4-хлор-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин (35мг, 0,14ммоль) об'єднували в колбі і нагрівали до 130°C. Через 15 годин реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і розбавляли EtOAc (3х). Об'єднані органічні шари сушили над MgSO_4 , фільтрували і концентрували. Хроматографія (препаративна пластина з силікагелем; 20:1, $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$) давала 2,6мг золотисто-коричневої твердої речовини (5% вихід). Мас-спектр (ES): 414,2 ($\text{M}^+ + 1$)

Приклад 1:

Розчин 4-хлор-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідину (0,50г, 1,94ммоль) і 4-транс-гідроксициклогексиламіну (2,23г, 19,4ммоль) у метил сульфоксиді (10,0мл) нагрівали при 130°C протягом 5 годин. Після охолодження до кімнатної температури додавали воду (10,0мл) і одержаний водний розчин екстрагували EtOAc (3х10,0мл). Об'єднаний EtOAc розчин сушили (MgSO_4), фільтрували і фільтрат концентрували у вакуумі досуха, залишок хроматографували на силікагелі, одержуючи 0,49г (75%) 4-(4-транс-гідроксициклогексил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідину. Т.пл. 197-199°C; ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,25-1,59 (м, 8Н), 2,08 (с, 3Н), 2,29 (с, 3Н), 3,68-3,79 (м, 1Н), 4,32-4,38 (м, 1Н), 4,88 (д, $J=8\text{Гц}$, 1Н), 7,26-7,49 (м, 3Н), 8,40-8,44 (дд, $J=2,2$, 8Гц, 2Н), 10,60 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 337,2 ($\text{M}^+ + 1$).

Наступні сполуки були одержані способом, аналогічним описаному в прикладі 1:

4-(4-транс-гідроксициклогексил)аміно-6-метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*] піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 11,37 (с, 1Н, пірол-NH), 8,45 (м, 2Н, Ar-H), 7,55 (м, 3Н, Ar-H), 6,17 (с, 1Н, пірол-H), 4,90 (ушир.д, 1Н, NH), 4,18 (м, 1Е, CH-O), 3,69 (м, 1Н, CH-N), 2,40-2,20 (м, 2Н), 2,19-1,98 (м, 2Н), 2,25 (с, 3Н, CH_3) 1,68-1,20 (м, 4Н); Мас-спектр (ES): 323,2 ($\text{M}^+ + 1$).

4-(4-транс-гідроксициклогексил)аміно-5-метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*] піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 11,37 (с, 1Н, пірол-NH), 8,40 (м, 2Н, Ar-H), 7,45 (м, 3Н, Ar-H), 5,96 (с, 1Н, пірол-H), 4,90 (ушир.д, 1Н, NN), 4,18 (м, 1Н, CH-O), 3,69 (м, 1Н, CH-N), 2,38-2,20 (м, 2Н), 2,18-1,98 (м, 2,00 (с, 3Н, CH_3) 1,68-1,20 (м, 4Н); Мас-спектр (ES): 323,1 ($\text{M}^+ + 1$).

4-(4-транс-гідроксициклогексил)аміно-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідину. Т.пл. 245,5-246,5°C; ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 8,33 (м, 2Н, Ar-H), 7,42 (м, 3Н, Ar-H), 7,02 (д, 1Н, $J=3,6\text{Гц}$, пірол-H), 6,53 (д, 1Н, $J=3,6\text{Гц}$, пірол-H), 4,26 (м, 1Н, CH-O), 3,62 (м, 1Н, CH-N), 2,30-2,12 (м, 2Н), 2,12-1,96 (м, 2Н), 1,64-1,34 (м, 4Н); Мас-спектр $\text{M}^+ + 1=309,3$; Елементний аналіз ($\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}$) С, Н, N.

4-(4-транс-гідроксициклогексил)аміно-5,6-диметил-2-(3-піридил)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,21-1,54 (м, 8Н); 2,28 (с, 3Н); 2,33 (с, 3Н); 3,70 (м, 1Н), 4,31 (м, 1Н), 4,89 (д, 1Н), 7,40 (м, 1Н), 8,61 (м, 2Н), 9,64 (м, 1Н); Мас-спектр (ES): 338,2 ($\text{M}^+ + 1$).

4-(4-транс-гідроксициклогексил)аміно-5,6-диметил-2-(2-фурил)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,26-1,64 (м, 8Н), 2,22 (с, 3Н), 2,30 (с, 3Н), 3,72 (м, 1Н), 4,23 (м, 1Н), 4,85 (д, 1Н), 6,52 (м, 1Н), 7,12 (м, 1Н), 7,53 (м, 1Н), 9,28 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 327,2 ($\text{M}^+ + 1$).

4-(4-транс-гідроксициклогексил)аміно-5,6-диметил-2-(3-фурил)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,25-1,63 (м, 8 Н), 2,11 (с, 3Н), 2,27 (с, 3Н), 3,71 (м, 1Н), 4,20 (м, 1Н), 4,84 (д, 1Н), 7,03 (м, 1Н), 7,45 (м, 1Н), 8,13 (м, 1Н), 10,38 (м, 1Н); Мас-спектр (ES): 327,2 ($\text{M}^+ + 1$).

4-(4-транс-гідроксициклогексил)аміно-5,6-диметил-2-циклопентил-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,26-2,04 (м, 16 Н), 2,26 (с, 3Н), 2,27 (с, 3Н), 3,15 (м, 1Н), 3,70 (м, 1Н), 4,12 (м, 1Н), 4,75 (д, 1Н); Мас-спектр (ES): 329,2 ($\text{M}^+ + 1$).

4-(4-транс-гідроксициклогексил)аміно-5,6-диметил-2-(2-тієніл)-7Н-піроло[2,3-*d*]тримідин-4-амін. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,28-1,59 (м, 8Н), 2,19 (с, 3Н), 2,29 (с, 3Н), 3,74 (м, 1Н), 4,19 (м, 1Н), 4,84 (д, 1Н), 7,09 (м, 1Н), 7,34 (м, 1Н), 7,85 (м, 1Н), 9,02 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 343,2 ($\text{M}^+ + 1$).

4-(4-транс-гідроксициклогексил)аміно-5,6-диметил-2-(3-тієніл)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,21-1,60 (м, 8Н), 1,98 (с, 3Н), 2,23 (с, 3Н), 3,66 (м, 1Н), 4,22 (м, 1Н), 7,27 (м, 1Н), 7,86 (м, 1Н), 8,09 (м, 1Н), 11,23 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 343,2 ($\text{M}^+ + 1$).

4-(4-транс-гідроксициклогексил)аміно-5,6-диметил-2-(4-фторфеніл)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,26-1,66 (м, 8Н), 1,94 (с, 3Н), 2,28 (с, 3Н), 3,73 (м, 1Н), 4,33 (м, 1Н), 4,92 (д, 1Н), 7,13 (м,

2H), 8,41 (м, 2H), 11,14 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 355,2 ($M^+ + 1$).

4-(4-транс-гідроксициклогексил)аміно-5,6-диметил-2-(3-фторфеніл)-7H-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,26-1,71 (м, 8H), 2,06 (с, 3H), 2,30 (с, 3H), 3,72 (м, 1H), 4,30 (м, 1H), 4,90 (д, 1H), 7,09 (м, 1H), 7,39 (м, 1H), 8,05 (м, 1H), 8,20 (м, 1H), 10,04 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 355,2 ($M^+ + 1$).

4-(4-транс-гідроксициклогексил)аміно-5,6-диметил-2-(2-фторфеніл)-7H-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,30-1,64 (м, 8H), 2,17 (с, 3H), 2,31 (с, 3H), 3,73 (м, 1H), 4,24 (м, 1H), 4,82 (д, 1H), 7,28 (м, 2H), 8,18 (м, 1H), 9,02 (м, 1H), 12,20 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 355,3 ($M^+ + 1$).

4-(4-транс-гідроксициклогексил)аміно-5,6-диметил-2-ізопропіл-7H-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,31 (д, $J=7,0$ Гц, 6H), 1,30-1,65 (м, 8H), 2,27 (с, 3H), 2,28 (с, 3H), 3,01 (м, $J=7,0$ Гц, 1H), 3,71 (м, 1H), 4,14 (м, 1H), 4,78 (д, 1H); Мас-спектр (ES): 303,2 ($M^+ + 1$).

d1-4-(2-транс-гідроксициклогексил)аміно-5,6-диметил-2-ізопропіл-7H-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,31-1,42 (ушир., 4H), 1,75-1,82 (ушир., 4H), 2,02 (с, 3H), 2,29 (с, 3H), 3,53 (м, 1H), 4,02 (м, 1H), 5,08 (д, 1H), 7,41-7,48 (м, 3H), 8,30 (м, 2H), 10,08 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 337,2 ($M^+ + 1$).

4-(3,4-транс-дигідроксициклогексил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин. Мас-спектр (ES): 353,2 ($M^+ + 1$).

4-(3,4-цис-дигідроксициклогексил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин. Мас-спектр (ES): 353,2 ($M^+ + 1$).

4-(2-ацетиламіноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин. Т.пл. 196-199°C; ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,72 (с, 3H), 1,97 (с, 3H), 2,31 (с, 3H), 3,59 (м, 2H), 3,96 (м, 2H), 5,63 (ушир., 1H), 7,44-7,47 (м, 3H), 8,36-8,43 (дд, $J=1$ Гц, 7Гц, 2H), 10,76 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 324,5 ($M^+ + 1$).

1H-4-(2-транс-гідроксициклопентил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,62 (м, 2H), 1,79 (ушир., 4H), 1,92 (с, 3H), 2,29 (с, 3H), 4,11 (м, 1H), 4,23 (м, 1H), 5,28 (д, 1H), 7,41-7,49 (м, 3H), 8,22 (м, 2H), 10,51 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 323,2 ($M^+ + 1$).

Для одержання 2-транс-гідроксициклопентиламіну дивись РСТ 9417090.

1H-4-(3-транс-гідроксициклопентил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,58-1,90 (ушир., 6H), 2,05 (с, 3H), 2,29 (с, 3H), 4,48-4,57 (м, 1H), 4,91-5,01 (м, 2H), 7,35-7,46 (м, 3H), 8,42-8,47 (м, 2H), 10,11 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 323,2 ($M^+ + 1$).

Для одержання 3-транс-гідроксициклопентиламіну дивись EP-A-322242.

d1-4-(3-цис-гідроксициклопентил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,82-2,28 (ушир., 6H), 2,02 (с, 3H), 2,30 (с, 3H), 4,53-4,60 (м, 1H), 4,95-5,08 (м, 1H), 5,85-5,93 (д, 1H), 7,35-7,47 (м, 3H), 8,42-8,46 (м, 2H), 10,05 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 323,2 ($M^+ + 1$).

Для одержання 3-цис-гідроксициклопентиламіну дивись EP-A-322242.

4-(3,4-транс-дигідроксициклопентил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,92-1,99 (ушир., 2H), 2,14 (с, 3H), 2,20 (ушир., 2H), 2,30 (с, 3H), 2,41-2,52 (ушир., 2H), 4,35 (м, 2H), 4,98 (м, 2H), 7,38-7,47 (м, 3H), 8,38-8,42 (м, 2H), 9,53 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 339,2 ($M^+ + 1$).

Для одержання 3,4-транс-дигідроксициклопентиламіну дивись РСТ 9417090.

4-(3-аміно-3-оксопропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 2,02 (с, 3H), 2,29 (с, 3H), 2,71 (т, 2H), 4,18 (м, 2H), 5,75-5,95 (м, 3H), 7,38-7,48 (м, 3H), 8,37-8,41 (м, 2H), 10,42 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 310,1 ($M^+ + 1$).

4-(3-N-циклопропілметиламіно-3-оксопропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 0,51 (кв, 2H), 0,40 (кв, 2H), 1,79-1,95 (ушир., 1H), 2,36 (с, 3H), 2,40 (с, 3H), 2,72 (т, 2H), 2,99 (д, 2H), 4,04 (т, 2H), 7,58-7,62 (м, 3H), 8,22-8,29 (м, 2H); Мас-спектр (ES): 364,2.

4-(2-аміно-2-оксоетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 2,31 (с, 3H), 2,38 (с, 3H), 4,26 (с, 2H), 7,36 (м, 3H), 8,33 (м, 2H); Мас-спектр (ES): 396,1 ($M^+ + 1$).

4-(2-N-метиламіно-2-оксоетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,99 (с, 3H), 2,17 (с, 3H), 2,82 (д, 3H), 4,39 (д, 2H), 5,76 (т, 1H), 6,71 (ушир., 1H), 7,41-7,48 (м, 3H), 8,40 (м, 4H), 1-0,66 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 310,1 ($M^+ + 1$).

4-(3-трет-бутилоксил-3-оксопропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,45 (с, 9H), 1,96 (с, 3H), 2,29 (с, 3H), 2,71 (т, 2H), 4,01 (кв, 2H), 5,78 (т, 1H), 7,41-7,48 (м, 3H), 8,22-8,29 (м, 2H); Мас-спектр (ES): 367,2 ($M^+ + 1$).

4-(2-гідроксіетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,92 (с, 3H), 2,29 (с, 3H), 3,81-3,98 (ушир., 4H), 5,59 (т, 1H), 7,39-7,48 (м, 3H), 8,37 (м, 2H), 10,72 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 283,1 ($M^+ + 1$).

4-(3-гідроксіпропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,84 (м, 2H), 1,99 (с, 3H), 2,32 (с, 3H), 3,62 (т, 2H), 3,96 (м, 2H), 3,35 (т, 1H), 7,39-7,48 (м, 3H), 8,36 (м, 2H), 10,27 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 297,2 ($M^+ + 1$).

4-(2-гідроксибутил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,71-1,82 (м, 4H), 1,99 (с, 3H), 2,31 (с, 3H), 3,68-3,80 (м, 4H), 5,20 (т, 1H), 7,41-7,49 (м, 3H), 8,41 (м, 2H), 10,37 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 311,2 ($M^+ + 1$).

4-(4-транс-ацетиламіноциклогексил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло [2,3-d]піримідин.

4-(4-транс-метилсульфоніламіноциклогексил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин.

4-(2-ацетиламіноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-d]піримідин.

4-(4-транс-гідроксициклогексил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-(1-фенілетил)піроло[2,3-d]піримідин.

4-(3-піридилметил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-d]піримідин.

4-(2-метилпропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-7-(1-фенілетил)піроло[2,3-d]піримідин.

Приклад 2:

До суспензії, що перемішується, трифенілфосфіну (0,047г, 0,179ммоль) і бензойної кислоти (0,022г, 0,179ммоль) в ТГФ (1,0мл), охолодженої до 0°C, додавали 4-(4-транс-гідроксициклогексил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин (0,05г, 0,149ммоль) при 0°C. Потім додавали краплями протягом 10 хвилин діетилазодикарбоксилат (0,028мл, 0,179ммоль). Реакційну суміш залишали нагріватись до кімнатної температури. Після завершення реакції за ТШХ реакційну суміш гасили водним розчином бікарбонату натрію (3,0мл). Водну фазу відділяли і екстрагували ефіром (2x5,0мл). Органічні екстракти

об'єднували, сушили і концентрували у вакуумі досуха. До залишку додавали ефір (2,0мл) і гексан (5,0мл), після чого об'ємний осад трифенілфосфіноксиду відфільтровували. Концентрування фільтрату давало в'язке масло, яке очищали колонковою хроматографією (гексан:етилацетат=4:1), одержуючи 5,0мг (7,6%) 4-(4-цис-бензоїлоксидиклогексил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідину. Мас-спектр (ES): 441,3 ($M^+ + 1$). Реакція також давала 50,0мг (84%) 4-(3-циклогексеніл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідину. Мас-спектр (ES): 319,2 ($M^+ + 1$).

Приклад 3:

До розчину 4-(4-цис-бензоїлоксидиклогексил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]тримідину (5,0мг, 0,0114ммоль) в етанолі (1,0мл) додавали 10 крапель 2М гідроксиду натрію. Через 1 годину реакційну суміш екстрагували етилацетатом (3x5,0мл) і органічний шар сушили, фільтрували і концентрували у вакуумі досуха. Залишок піддавали колонковій хроматографії (гексан:етилацетат=4:1), одержуючи 3,6мг (94%) 4-(4-цис-гідроксидиклогексил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідину. Мас-спектр (ES): 337,2 ($M^+ + 1$).

Наступні сполуки одержували способом, аналогічним описаному в прикладі 3:

4-(3-N,N-диметил-3-оксопропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 2,01 (с, 3Н), 2,31 (с, 3Н), 2,73 (т, 2Н), 2,97 (с, 6Н), 4,08 (м, 2Н), 6,09 (т, 1Н), 7,41-7,48 (м, 3Н), 8,43 (м, 2Н), 10,46 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 338,2 ($M^+ + 1$).

4-(2-форміламіноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 2,26 (с, 3Н), 2,37 (с, 3Н), 3,59-3,78 (м, 2Н), 3,88-4,01 (м, 2Н), 5,48-5,60 (м, 1Н), 7,38-7,57 (м, 3Н), 8,09 (с, 1Н), 8,30-8,45 (м, 2Н), 8,82 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 310,1 ($M^+ + 1$).

4-(3-ацетиламінопропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин. Мас-спектр (ES): 338,2 ($M^+ + 1$).

Приклад 4:

4-(3-Бутилокі-3-оксопропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин (70,0мг, 0,191ммоль) розчиняли в суміші трифтороцтова кислота:дихлорметан (1:1, 5,0мл). Одержаний розчин перемішували при кімнатній температурі протягом 1 години, а потім нагрівали при кипінні із зворотним холодильником протягом 2 годин. Після охолодження до кімнатної температури суміш концентрували у вакуумі досуха. Залишок піддавали препаративній тонкошаровій хроматографії (EtOAc :гексан: AcOH =7:2, 5:0,5), одержуючи 40,0мг (68%) 4-(3-гідроксі-3-оксопропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідину. ^1H -ЯМР (200МГц, CD_3OD) δ 2,32 (с, 3Н), 2,38 (с, 3Н), 2,81 (т, 2Н), 4,01 (т, 2Н), 7,55 (м, 3Н), 8,24 (м, 2Н); Мас-спектр (ES): 311,1 ($M^+ + 1$).

Наступну сполуку одержували способом, аналогічним описаному в прикладі 4:

4-(3-амінопропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин. Мас-спектр (ES): 296,1 ($M^+ + 1$), 279, 1 ($M^+ - \text{NH}_3$).

Приклад 5:

4-(3-Гідроксі-3-оксопропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин (50,0мг, 0,161ммоль) розчиняли в суміші N,N-диметилформаміду (0,50мл), діоксану (0,50мл) і води (0,25мл). До цього розчину додавали метиламін (0,02мл, 40% ваг. у воді, 0,242ммоль), триетиламін (0,085мл) і тетрафторборат N,N,N',N'-тетраметилуранію (61,2мг, 0,203ммоль). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 10 хвилин розчин концентрували і залишок піддавали препаративній тонкошаровій хроматографії (EtOAc), одержуючи 35,0мг (67%) 4-(3-N-метил-3-оксопропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідину. ^1H -ЯМР (200МГц, CD_3OD) δ 1,92 (с, 3Н), 2,30 (с, 3Н), 2,65 (т, 2Н), 4,08 (т, 2Н), 5,90 (т, 1Н), 6,12 (м, 1Н), 7,45 (м, 3Н), 8,41 (м, 2Н), 10,68 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 311,1 ($M^+ + 1$).

Наступні сполуки одержували способом, аналогічним описаному в прикладі 5:

4-(2-циклопропанкарбоніламіноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин. Мас-спектр (ES): 350,2 ($M^+ + 1$).

4-(2-ізобутириламіноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин. Мас-спектр (ES): 352,2 ($M^+ + 1$).

4-(3-пропіоніламінопропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,00-1,08 (т, 3Н), 1,71-2,03 (м, 4Н), 2,08 (с, 3Н), 2,37 (с, 3Н), 3,26-3,40 (м, 2Н), 3,79-3,96 (м, 2Н), 5,53-5,62 (м, 1Н), 6,17-6,33 (м, 1Н), 7,33-7,57 (м, 3Н), 8,31-8,39 (м, 2Н), 9,69 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 352,2 ($M^+ + 1$).

4-(2-метилсульфоніламіноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CD_3Cl) δ 2,18 (с, 3Н), 2,27 (с, 3Н), 2,92 (с, 3Н), 3,39-3,53 (м, 2Н), 3,71-3,88 (м, 2Н), 5,31-5,39 (м, 1Н), 6,17-6,33 (м, 1Н), 7,36-7,43 (м, 3Н), 8,20-8,25 (м, 2Н), 9,52 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 360,2 ($M^+ + 1$).

Приклад 6:

Суміш 4-хлор-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідину (0,70г, 2,72ммоль) і 1,2-діаміноетану (10,0мл, 150ммоль) нагрівали при кипінні із зворотним холодильником в інертній атмосфері протягом 6 годин. Надлишок аміну видаляли у вакуумі, залишок промивали послідовно ефіром і гексаном, одержуючи 0,75г (98%) 4-(2-аміноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідину. Мас-спектр (ES): 265,1 ($M^+ - \text{NH}_3$).

Приклад 7:

До розчину 4-(2-аміноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідину (70,0мг, 0,249ммоль) і триетиламіну (50,4мг, 0,498ммоль) в дихлорметані (2,0мл) додавали пропіонілхлорид (25,6мг, 0,244ммоль) при 0°C. Через 1 годину суміш концентрували у вакуумі і залишок піддавали препаративній тонкошаровій хроматографії (EtOAc), одержуючи 2,0мг (26%) 4-(2-пропіоніламіноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідину. Мас-спектр (ES): 338,2 ($M^+ + 1$).

Наступні сполуки одержували способом, аналогічним описаному в прикладі 7:

4-(2-N'-метилуреаетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 2,13 (с, 3Н), 2,32 (с, 3Н), 3,53 (д, 3Н), 3,55 (м, 2Н), 3,88 (м, 2Н), 4,29 (м, 1Н), 5,68 (т, 1Н), 5,84 (м, 1Н), 7,42 (м, 3Н), 8,36 (дд, 2Н), 9,52 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 339,3 ($M^+ + 1$).

4-(2-N'-етилуреаетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин. Мас-спектр (ES): 353,2

(M⁺+1).

Приклад 8:

До розчину гідрохлориду 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодіміду (41,1мг, 0,215ммоль), диметиламінопіридину (2,4мг, 0,020ммоль) і піровиноградної кислоти (18,9мг, 0,015мг, 0,215ммоль) в дихлорметані (2,0мл) додавали 4-(2-аміноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-і]піримідин (55,0мг, 0,196ммоль). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 4 годин. Звичайна обробка і колонкова хроматографія (EtOAc) потім давали 10,0мг (15%) 4-(2'-пірувіламідоетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідину. Мас-спектр (ES): 352,2 (M⁺+1).

Приклад 9:

До розчину 4-(2-аміноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідину (60,0мг, 0,213ммоль) в дихлорметані (2,0мл) додавали N-триметилсилізіоціанат (43,3мг, 0,051мг, 0,320ммоль). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3 годин з подальшим додаванням водного розчину бікарбонату натрію. Після фільтрування через невелику кількість силікагелю фільтрат концентрували у вакуумі досуха, одержуючи 9,8мг (14%) 4-(2-уреаєтил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідину. Мас-спектр (ES): 325,2 (M⁺+1).

Наступні сполуки одержували способом, аналогічним описаному в прикладі 9: d1-4-(2-ацетиламінопропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідин. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,28-1,32 (д, J=8Гц, 3Н), 1,66 (с, 3Н), 1,96 (с, 3Н), 2,30 (с, 3Н), 3,76-3,83 (м, 2Н), 4,10-4,30 (м, 1Н), 5,60-5,66 (т, J=6Гц, 1Н), 7,40-7,51 (м, 3Н), 8,36-8,43 (м, 2Н), 10,83 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 338,2 (M⁺+1).

(R)-4-(2-ацетиламінопропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідин. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,31 (д, 3Н), 1,66 (с, 3Н), 1,99 (с, 3Н), 2,31 (с, 3Н), 3,78-3,83 (м, 2Н), 4,17-4,22 (м, 1Н), 5,67 (т, 1Н), 7,38-7,5 (м, 3Н), 8,39 (м, 2Н), 10,81 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 338,2 (M⁺+1).

(R)-4-(1-метил-2-ацетиламіноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідин. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,41 (д, 3Н), 1,68 (с, 3Н), 2,21 (с, 3Н), 2,34 (с, 3Н), 3,46-3,52 (ушир, м, 2Н), 4,73 (м, 1Н), 5,22 (д, 1Н), 7,41-7,46 (м, 3Н), 8,36-8,40 (м, 2Н), 8,93 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 338,2 (M⁺+1).

(S)-4-(2-ацетиламінопропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідин. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,31 (д, 3Н), 1,66 (с, 3Н), 2,26 (с, 3Н), 2,35 (с, 3Н), 3,78-3,83 (м, 2Н), 4,17-4,22 (м, 1Н), 5,67 (т, 1Н), 7,38-7,5 (м, 3Н), 8,39 (м, 2Н), 8,67 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 338,2 (M⁺+1).

(S)-4-(1-метил-2-ацетиламіноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідин. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,41 (д, 3Н), 1,68 (с, 3Н), 2,05 (с, 3Н), 2,32 (с, 3Н), 3,46-3,52 (м, 2Н), 4,73 (м, 1Н), 5,22 (д, 1Н), 7,41-7,46 (м, 3Н), 8,36-8,40 (м, 2Н), 10,13 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 338,2 (M⁺+1).

Приклад 10:

Взаємодія 4-хлор-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідину з сумішшю d1-1-аміно-2-(1,1-диметилетокси)карбоніламінопропану і d1-2-аміно-1-(1,1-диметилетокси)карбоніламінопропану проводили способом, аналогічним описаному в прикладі 1. Реакція давала суміш d1-4-(1-метил-2-(1,1-диметилетокси)карбоніламіно)етиламіно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідину і d1-4-(2-метил-2-(1,1-диметилетокси)карбоніламіно)етиламіно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідину, які розділяли колонковою хроматографією (EtOAc.гексан=1:3). Перша фракція являла собою d1-4-(1-метил-2-(1,1-диметилетокси)карбоніламіноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідин. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,29-1,38 (м, 12Н), 1,95 (с, 3Н), 2,31 (с, 3Н), 3,34-3,43 (м, 2Н), 4,62-4,70 (м, 1Н), 5,36-5,40 (д, J=8Гц, 1Н), 5,53 (ушир., 1Н), 7,37-7,49 (м, 3Н), 8,37-8,44 (м, 2Н), 10,75 (с, 1Н). Мас-спектр (ES): 396,3 (M⁺+1). Друга фракція являла собою d1-4-(2-(1,1-диметилетокси)карбоніламінопропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідин. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,26-1,40 (м, 12Н), 2,00 (с, 3Н), 2,31 (с, 3Н), 3,60-3,90 (м, 2Н), 3,95-4,10 (м, 1Н), 5,41-5,44 (д, J=6,0Гц, 1Н), 5,65 (ушир., 1Н), 7,40-7,46 (м, 3Н), 8,37-8,44 (м, 2Н), 10,89 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 396,2 (M⁺+1).

Наступні сполуки одержували способом, аналогічним описаному в прикладі 10:

(S,S)-4-(2-ацетиламіноциклогексил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідин. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,43 (м, 4Н), 1,60 (с, 3Н), 1,83 (м, 2Н), 2,18 (с, 3Н), 2,30 (м, 2Н), 2,32 (с, 3Н), 3,73 (ушир., 1Н), 4,25 (ушир., 1Н), 5,29 (д, 1Н), 7,43-7,48 (м, 3Н), 8,35-8,40 (м, 2Н), 9,05 (с, 1Н).

4-(2-метил-2-ацетиламінопропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідин. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,51 (с, 6Н), 1,56 (с, 3Н), 2,07 (с, 3Н), 2,36 (с, 3Н), 3,76 (д, 2Н), 5,78 (т, 1Н), 7,41-7,48 (м, 3Н), 7,93 (с, 1Н), 8,39 (м, 2Н), 10,07 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 352,3 (M⁺+1).

Приклад 11:

d1-4-(1-Метил-2-(1,1-диметилетокси)карбоніламіноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідин (60,6мг, 0,153ммоль) обробляли трифтороцтовою кислотою (0,5мл) у дихлорметані (2,0мл) протягом 14 годин. Органічний розчинник видаляли у вакуумі досуха. Залишок розчиняли в N,N-диметилформаміді (2,0мл) і триетиламіні (2,0мл). До розчину при 0°C додавали оцтовий ангідрид (17,2мг, 0,169ммоль). Одержану суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 48 годин, а потім концентрували у вакуумі досуха. Залишок піддавали препаративній тонкошаровій хроматографії (EtOAc), одержуючи 27,0мг (52%) d1-4-(1-метил-2-ацетиламіноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідин. ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,38-1,42 (д, J=8Гц, 3Н), 1,69 (с, 3Н), 2,01 (с, 3Н), 2,32 (с, 3Н), 3,38-3,60 (м, 2Н), 4,65-4,80 (м, 1Н), 5,23-5,26 (д, J=6Гц, 1Н), 7,40-7,51 (м, 3Н), 8,37-8,43 (м, 2Н), 10,44 (с, 1Н); Мас-спектр (ES): 338,2 (M⁺+1).

Приклад 12:

(R,R)-4-(2-Аміноциклогексил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідин, одержаний способом, аналогічним описаному в прикладі 1, з 4-хлор-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-д]піримідину (0,15г, 0,583ммоль) і (1R,2R)-(-)-1,2-діаміноциклогексану (0,63г, 5,517ммоль), обробляли триетиламіном (0,726г, 7,175ммоль) і оцтовим ангідридом (0,325г, 3,18ммоль) в N,N-диметилформаміді (10,0мл) при кімнатній температурі протягом 2 годин. Після видалення розчинника у вакуумі до залишку додавали етилацетат (10,0мл) і воду (10,0мл). Суміш розділяли і водний шар екстрагували етилацетатом (2x10,0мл). Об'єднаний розчин в етилацетаті сушили (MgSO₄) і фільтрували. Фільтрат концентрували у вакуумі досуха і залишок піддавали колонковій хроматографії (EtOAc:гексан=1:1), одержуючи 57,0мг (26%) (R,R)-4-(2-

ацетиламіноциклогексил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. ¹Н-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1,43 (м, 4Н), 1,60 (с, 3Н), 1,84 (м, 2Н), 2,22 (с, 3Н), 2,30 (м, 2Н), 2,33 (с, 3Н), 3,72 (ушир., 1Н), 4,24 (ушир., 1Н), 5,29 (д, 1Н), 7,43-7,48 (м, 3Н), 8,35-8,39 (м, 2Н), 8,83 (с, 1 Н); Мас-спектр (ES): 378,3 (M⁺+1).

Приклад 13:

До розчину 4-(2-гідроксietил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідину (40,0мг, 0,141ммоль) в піридині (1,0мл) додавали оцтовий ангідрид (0,108г, 1,06ммоль) при 0°C. Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 4 годин і розчинник видаляли у вакуумі. Залишок піддавали препаративній тонкошаровій хроматографії (EtOAc:гексан=1:1), одержуючи 32,3мг (71%) 4-(2-ацетилгексietил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідину. ¹Н-ЯМР (200МГц, CDCl₃) δ 1, 90 (с, 3Н), 2,08 (с, 3Н), 2,31 (с, 3Н), 4,05 (м, 2Н), 4,45 (т, 2Н), 5,42 (м, 1Н), 7,41-7,49 (м, 3Н), 8,42 (м, 2Н), 11,23 (с, 1Н).

Приклад 14:

Розчин Fmoc-β-Ala-OH (97,4мг, 0,313ммоль) і оксалілхлориду (39,7мг, 27,3мкл, 0,313ммоль) у дихлорметані (4,0мл) з однією краплею N,N-диметилформаміду перемішували при 0°C протягом 1 години з подальшим додаванням 4-(2-аміноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідину (80,0мг, 0,285ммоль) і триетиламіну (57,6мг, 79,4мкл, 0,570ммоль) при 0°C. Через 3 години суміш концентрували у вакуумі і залишок розтирали з 20%-ним розчином піперидину в N,N-диметилформаміді (2,0мл) протягом 0,5 години. Після видалення розчинника у вакуумі залишок промивали сумішшю діетиловий ефіртексан (1:5), одержуючи 3,0мг (93%) 4-(6-аміно-3-аза-4-оксогексил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідину. Мас-спектр (ES): 353,2 (M⁺+1).

Приклад 15:

Розчин 4-(2-аміноетил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідину (70,0мг, 0,249ммоль) і янтарного ангідриду (27,0мг, 0,274ммоль) у дихлорметані (4,0мл) з 1 краплею N,N-диметилформаміду перемішували при кімнатній температурі протягом 4 годин. Реакційну суміш екстрагували 20%-ним гідроксидом натрію (3x5,0мл). Водний розчин підкисляли 3М хлористим воднем до pH 7,0. Суміш цілком екстрагували етилацетатом (3x10мл). Об'єднані органічний розчин сушили (MgSO₄) і фільтрували. Фільтрат концентрували у вакуумі досуха, одержуючи 15,0мг (16%) 4-(7-гідрокс-3-аза-4,7-діоксогептил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідину. Мас-спектр (ES): 382,2 (M⁺+1).

Приклад 16:

До 10мл диметилформаміду (ДМФ) при кімнатній температурі додавали 700мг 4-(цис-3-гідроксициклопентил)аміно-2-феніл-5,6-диметил-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідину з подальшим додаванням 455мг N-Вос гліцину, 20мг N,N-диметиламінопіридину (OMAP), 293мг гідроксибензотриазолу (HOBt) і 622мг гідрохлориду 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодіміду (EDC1). Реакційну суміш залишали перемішуватись протягом ночі. ДМФ потім видаляли при зниженому тиску і реакційну суміш розподіляли між 20мл етилацетату і 50мл води. Водну частину екстрагували додатково 2x20мл етилацетату і об'єднані органічні частини промивали насиченим розчином солі, сушили над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Очищення на силікагелі, при елююванні сумішшю етилацетат/гексан давало 410мг цільового продукту: 4-(цис-3-(N-трет-бутоксикарбоніл-2-аміноацетокси)циклопентил)аміно-2-феніл-5,6-диметил-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідину. Мас-спектр (ES): (M⁺+1)=480,2. Складний ефір потім обробляли 5мл 20%-ної трифтороцтової кислоти у дихлорметані при кімнатній температурі, залишали на ніч і потім концентрували. Розтирання з етилацетатом давало 300мг не зовсім білої твердої речовини; солі трифтороцтової кислоти 4-(цис-3-(2-аміноацетокси)циклопентил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідину. Мас-спектр (ES): (M⁺+1)=380,1.

Фахівцєві в даній області буде зрозуміло, що наступні сполуки можуть бути синтезовані за допомогою описаних вище способів:

4-(цис-3-гідроксициклопентил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): (M⁺+1)=323,1.

сіль трифтороцтової кислоти 4-(цис-3-(2-аміноацетокси)циклопентил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідину. Мас-спектр (ES): (M⁺+1)=380,1.

4-(3-ацетамідо)піперидиніл-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): (M⁺+1)=364,2.

4-(2-N-метилуреапропіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-троло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): (M⁺+1)=353,4.

4-(2-ацетамідобутил)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): (M⁺+1)=352,4.

4-(2-N-метилуреабутіл)аміно-5,6-диметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): (M⁺+1)=367,5.

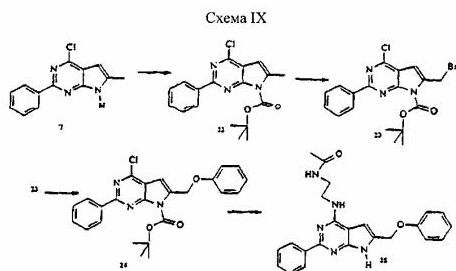
4-(2-аміноциклопропілацетамідоетил)аміно-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): (M⁺+1)=309,1.

4-(транс-4-гідроксициклогексил)аміно-2-(3-хлорфеніл)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): (M⁺+1)=342,8.

4-(транс-4-гідроксициклогексил)аміно-2-(3-фторфеніл)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): (M⁺+1)=327,2.

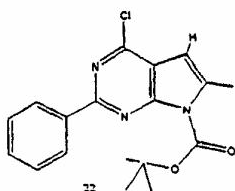
4-(транс-4-гідроксициклогексил)аміно-2-(4-піридил)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): (M⁺+1)=310,2.

Приклад 17

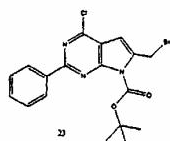


Азот піролу (7) (схема IX) захищали ди-трет-бутилдикарбонатом в лужному середовищі, одержуючи відповідний карбамат (22). Радикальне бромовання (22) проходило регіоселективно, даючи бромід (23). Звичайно, сполука (23) служить ключовою електрофільною проміжною сполукою для різних нуклеофільних партнерів у реакціях поєднання. Заміщення алкілброміду тригідратом феноляту натрію давало сполуку (24). Подальше заміщення арилхлориду і видалення трет-бутилкарбаматної захисної групи відбувалось в одну стадію, даючи цільову сполуку (25).

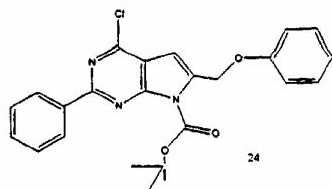
Докладний синтез сполук (22)-(25) відповідно до схеми IX.



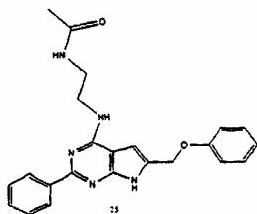
Ди-трет-бутилдикарбонат (5,37г, 24,6ммоль) і диметиламінопіридин (1,13г, 9,2ммоль) додавали до розчину, що містить (7) (1,50г, 6,15ммоль) і піридин (30мл). Через 20 годин реакційну суміш концентрували і залишок розподіляли між CH_2Cl_2 і водою. 1Нар, що містить CH_2Cl_2 , відділяли, сушили над MgSO_4 , фільтрували і концентрували, одержуючи чорну тверду речовину. Флеш-хроматографія (SiO_2 /1/9EtOAc/гексани, R_f 0,40) давала 1,70г (80%) білої твердої речовини. ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 8,50 (м, 2H, Ar-H), 7,45 (м, 3H, Ar-H), 6,39 (с, 1H, пірол-Н), 2,66 (с, 3H, пірол- CH_3), 1,76 (с, 9H, карбамат- CH_3); Мас-спектр, $M+1=344,1$; Т.пл.=175-177°C.



N-бромсукцинімід (508мг, 2,86ммоль) і AIBN (азобісізобутиронітрил) (112мг, 0,68ммоль) додавали до розчину, що містить (22) (935мг, 2,71ммоль) і CCl_4 (50мл). Розчин нагрівали при кипінні із зворотним холодильником. Через 2 години реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і концентрували у вакуумі, одержуючи білу тверду речовину. Флеш-хроматографія (SiO_2 ; 1/1 CH_2Cl_2 /гексани, R_f 0,30) давала 960мг (84%) білої твердої речовини (23). ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 8,52 (м, 2H, Ar-H), 7,48 (м, 3H, Ar-H), 6,76 (с, 1H, пірол-Н), 4,93 (с, 2H, пірол- CH_2Br), 1,79 (с, 9H, карбамат-CH); Мас-спектр, $M+1=423,9$; т.пл.=155-157°C.



Тригідрат феноксиду натрію (173мг, 1,02ммоль) додавали в один прийом до розчину броміду (23) (410мг, 0,97ммоль), розчиненого у CH_2Cl_2 (5мл) і ДМФ (10мл). Через 2 години реакційний розчин розподіляли між CH_2Cl_2 і водою. Водний шар екстрагували CH_2Cl_2 . Об'єднані CH_2Cl_2 шари промивали водою, сушили над MgSO_4 , фільтрували і концентрували, одержуючи жовту тверду речовину. Флеш-хроматографія (SiO_2 ; 1/6 EtOAc/гексани, R_f 0,30) давала 210мг (50%) білої твердої речовини (24). ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 8,53 (м, 2H, Ar-H), 7,48 (м, 3H, Ar-H), 7,34 (м, 2H, Ar-H), 7,03 (м, 3H, Ar-H), 6,83 (с, 1H, пірол-Н), 5,45 (с, 2H, Ar CH_2O), 1,76 (с, 9H, карбамат-CH); Мас-спектр, $M^+=436,2$.



Розчин, що містить (24) (85мг, 0,20ммоль), N-ацетилетилендіамін (201мг, 1,95ммоль) і ДМСО (3мл) нагрівали при 100°C. Через 1 годину температуру підіймали до 130°C. Через 3 години реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і розподіляли між EtOAc і водою. Водний шар екстрагували EtOAc (2х). Об'єднані EtOAc шари промивали водою, сушили над $MgSO_4$, фільтрували і концентрували. Флеш-хроматографія (SiO_2 ; 1/10 EtOH/ $CHCl_3$, R_f 0,25) давала 73мг (93%) білої піноподібної твердої речовини (25). 1H -ЯМР (200МГц, ДМСО- d_6) δ 11,81 (ушир.с, 1H, N-H), 8,39 (м, 2H, Ar-H), 8,03 (ушир. т, 1H, N-H), 7,57 (ушир. т, 1H, N-H), 7,20-7,50 (м, 5H, Ar-H), 6,89-7,09 (м, 3H, Ar-H), 6,59 (с, 1H, пірол-Н), 5,12 (с, 2H, $ARCH_2O$), 3,61 (м, 2H, NCH), 3,36 (м, 2H, NCH), 1,79 (с, 3H, $COCH_3$); Мас-спектр, $M+1=402,6$

Наступні сполуки одержували способом, аналогічним описаному в прикладі 17.

4-(2-ацетиламіноетил)аміно-6-феноксиметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Т.пл. 196-197°C. Мас-спектр (ES): 401,6 (M^++1).

4-(2-ацетиламіноетил)аміно-6-(4-фторфенокси)метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): 420,1 (M^++1).

4-(2-ацетиламіноетил)аміно-6-(4-хлорфенокси)метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): 436,1 (M^++1).

4-(2-ацетиламіноетил)аміно-6-(4-метоксифенокси)метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): 432,1 (M^++1).

4-(2-ацетиламіноетил)аміно-6-(N-піридин-2-он)метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): 403,1 (M^++1).

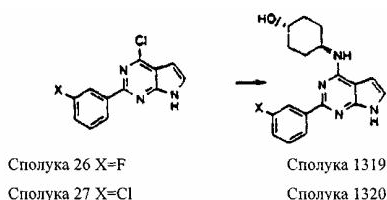
4-(2-ацетиламіноетил)аміно-6-(N-феніламіно)метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): 400,9 (M^++1).

4-(2-ацетиламіноетил)аміно-6-(N-метил-N-феніламіно)метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): 414,9 (M^++1).

4-(2-N'-метилуреаетил)аміно-6-феноксиметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин. Мас-спектр (ES): 416,9 (M^++1).

Приклад 18: Синтез антагоністів A_1 аденозину

Сполука 1319 і сполука 1320 (таблиця 13 нижче) можуть бути синтезовані з використанням описаних тут загальних способів.

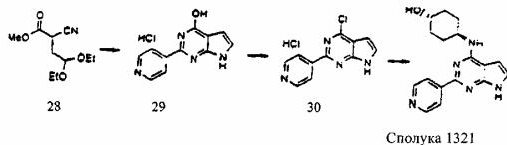


Сполука 1319 (81%). 1H -ЯМР (200МГц, ДМСО- d_6) δ 1,37 (м, 4H), 1,93 (м, 2H), 2,01 (м, 2H), 4,11 (ушир.с, 1H), 4,61 (д, 1H, $J=4,4$ Гц), 6,59 (м, 1H), 7,09 (м, 1H), 7,21 (м, 2H), 7,49 (дд, 1H, $1=8$ Гц, 14Гц), 8,03 (м, 1H), 8,18 (д, 1H, $J=8$ Гц), 11,55 (ушир.с, 1H). Мас-спектр (ES): 327,0 (M^++1).

Сполука 1320 (31%). Мас-спектр (ES): 343,1 (M^++1).

Приклад 19: Синтез антагоніста A_1 аденозину

Сполука 1321 (таблиця 13, нижче) може бути синтезована з використанням наведених далі загальних способів.



Сполуку 28 (10,93г, 50,76ммоль) розчиняли в ДМФ (67мл). Послідовно додавали гідрохлорид 4-амідинопіридину (8,0г, 50,76ммоль) і ДБУ (15,4г, 101,5ммоль) і реакційну суміш нагрівали до 85°C. Через 22 години реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і ДМФ видаляли у вакуумі. Темне масло розбавляли 2М HCl (80мл). Реакційну суміш залишали. Через 2 години розчин охолоджували до 10°C і фільтрували. Тверду речовину промивали холодною водою і сушили, одержуючи 7,40г жовтої твердої речовини. Сполука 29 (69%). 1H -ЯМР (200МГц, ДМСО- d_6) δ 6,58 (с, 1H), 7,27 (с, 1H), 8,53 (д, 2H, $J=5,6$), 9,00 (д, 2H, $J=5,2$ Гц), 12,35 (ушир.с, 1H). Мас-спектр (ES): 212,8 (M^++1).

Сполуку 29 (7,4ммоль, 29,8ммоль) розбавляли $POCl_3$ і нагрівали до 105°C. Через 18 годин реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і $POCl_3$ видаляли у вакуумі. Густе темне масло розбавляли MeOH (75мл) з подальшим додаванням ефіру (120мл). Аморфну червону тверду речовину відфільтровували і промивали ефіром, одержуючи 3,82г червоної твердої речовини. Неочищена тверда

речовина має приблизно 80%-ну чистоту і її використовують без додаткового очищення у наступній реакції. Мас-спектр (ES): 230,7 ($M^+ + 1$).

Сполука 1321. ^1H -ЯМР (200МГц, DMCO-d_6) δ 1,38 (м, 4Н), 1,92 (ушир.с, 2Н), 2,02 (ушир.с, 2Н), 3,44 (ушир.с, 1Н), 4,14 (ушир.с, 1Н), 4,56 (д, 1Н, $J=4$ Гц), 6,63 (м, 1Н), 7,15 (м, 1Н), 7,32 (д, 1Н, $J=6,2$ Гц), 8,20 (д, 2Н, $J=4,4$ Гц), 8,65 (д, 2Н, $J=4,4$ Гц), 11,67 (ушир.с, 1Н). Мас-спектр (ES): 310,2 ($M^+ + 1$).

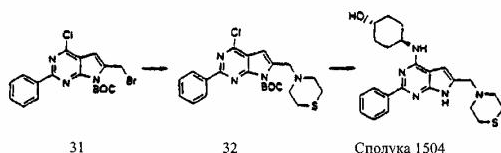
Сполука 1501 (таблиця 15 нижче). ^1H -ЯМР (70%) (200МГц, CD_3OD) δ 1,84 (с, 3Н), 3,52 (т, 2Н, $J=6,0$ Гц), 3,83 (т, 2Н, $J=6$ Гц), 6,51 (д, 1Н, $J=3,4$ Гц), 7,06 (д, 1Н, $J=3,8$ Гц), 7,42 (м, 3Н), 8,36 (м, 2Н). Мас-спектр (ES): 296,0 ($M^+ + 1$).

Сполука 1502 (таблиця 15 нижче). Мас-спектр (ES): 345,0 ($M^+ + 1$).

Сполука 1500 (таблиця 15 нижче). ^1H -ЯМР (70%) (200МГц, CDCl_3) δ 1,40-1,80 (м, 6Н), 1,85-2,10 (м, 2Н), 2,18 (с, 3Н), 2,33 (с, 3Н), 2,50 (д, 3Н), 3,90-4,10 (м, 2Н), 4,76 (м, 1Н), 5,50 (д, 1Н), 6,03 (м, 1Н), 7,40 (м, 3Н), 8,37 (м, 2Н), 9,15 (ушир.с, 1Н). Мас-спектр (ES): 393,3 ($M^+ + 1$).

Приклад 20: Синтез антагоніста A_1 аденозину

Сполука 1504 (таблиця 15 нижче) може бути синтезована за загальними методиками, наведеними далі.

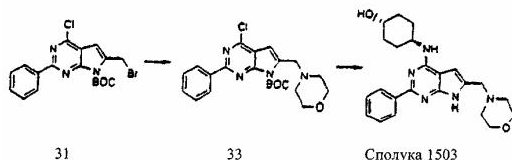


Сполуку 31 (200мг, 0,47ммоль) розчиняли в ДХМ (4мл). Додавали послідовно триетиламін (51мг, 0,5ммоль) і тіоморфолін (52мг, 0,5ммоль). Розчин перемішували протягом декількох хвилин, потім залишали на 72 години. Реакційну суміш розбавляли ДХМ і H_2O і шари відділяли. Водний шар екстрагували ДХМ. Об'єднані ДХМ шари сушили над MgSO_4 , фільтрували і концентрували. До неочищеного зразка додавали діетиловий ефір і одержану тверду речовину відфільтровували, одержуючи 100мг білої твердої речовини 32 (62%). ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,76 (с, 9Н), 2,66 (ушир.с, 2Н), 2,79 (ушир.с, 2Н), 3,86 (с, 2Н), 7,46 (м, 3Н), 8,50 (м, 2Н).

Сполуку 32 об'єднували з ДМСО (3мл) і транс-4-аміноциклогексаноном (144мг, 1,25ммоль) і нагрівали при 130°C протягом 4 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і розбавляли EtOAc і H_2O . Шари розділяли і водний шар екстрагували EtOAc (2х) Об'єднані органічні шари промивали H_2O і насиченим розчином солі, сушили над MgSO_4 , фільтрували і концентрували. Хроматографія (діоксид кремнію, 8:1 $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$) давала 32мг золотисто-коричневого масла. Додавали діетиловий ефір і одержану тверду речовину відфільтровували, одержуючи 5мг білої твердої речовини (9%). OSIC-148265: ^1H -ЯМР (200МГц, CD_3OD) δ 1,44 (ушир.м, 4Н), 2,03 (ушир.м, 2Н), 2,21 (ушир.м, 2Н), 2,70 (ушир.м, 8Н), 3,63 (м, 4Н), 3,92 (м, 1Н), 4,26 (ушир.с, 1Н), 6,42 (с, 1Н), 7,42 (м, 3Н), 8,33 (м, 2Н).

Приклад 21: Синтез антагоніста A_1 аденозину

Сполука 1503 (таблиця 15 нижче) може бути синтезована за загальними методиками, наведеними нижче.



Бромід, сполуку 31 (220мг, 0,47ммоль) розчиняли в суміші 1:1 ДМФ:дихлорметан (5мл). До цього розчину додавали K_2CO_3 (71мг, 0,52ммоль) і морфолін (0,047мл, 0,47ммоль). Суміш залишали перемішуватись при кімнатній температурі протягом ночі. Розчинники видаляли у вакуумі і залишок розподіляли між H_2O і дихлорметаном. Органічний шар сушили над MgSO_4 , фільтрували і концентрували, одержуючи не зовсім білу тверду речовину, яка при розтиранні з сумішшю ефір/гексани давала 175мг білої твердої речовини 33 (84%). ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,9 (9Н, с), 2,54 (4Н, с), 3,65 (4Н, с), 3,85 (1Н, с), 6,59 (1Н, с), 7,45 (3Н, м), 8,5 (2Н, м).

Сполуку 33 (50мг, 0,11ммоль) і транс-4-аміноциклогексаноном (105мг, 0,91ммоль) вмішували в ДМСО (2мл). Одержаний розчин продували N_2 , а потім нагрівали до 100°C на масляній бані і перемішували протягом ночі. Неочищену реакційну суміш виливали у воду і двічі екстрагували етилацетатом (50мл). Об'єднані органічні шари промивали H_2O . Після сушіння MgSO_4 і фільтрування органічний шар концентрували у вакуумі, одержуючи оранжеву тверду речовину. Хроматографія (діоксид кремнію, 10% CH_3OH в CH_2Cl_2) давала 15мг (33%). ^1H -ЯМР (200МГц, CDCl_3) δ 1,24-1,62 (4Н, м), 1,85 (2Н, м), 2,10 (2Н, м), 2,26 (4Н, м), 3,53 (4Н, м), 4,22 (1Н, м), 4,73 (1Н, м), 5,85 (1Н, д), 6,15 (1Н, с), 7,25 (3Н, м), 8,42 (2Н, М), 10,0 (1Н, с). Мас-спектр (ES): 408,0 ($M^+ + 1$).

Сполуки 1500, 1501 і 1502 можуть бути синтезовані з використанням тих же стадій одержання прикладу 20 при обробці сполуки 32 відповідним заміщенням аміном.

Аналіз A_1 і A_{2a} аденозинового рецептора людини з використанням репортерного гена β -галактозидази дріжджів.

Штами дріжджів (*S.cerevisiae*) трансформували аденозином A_1 ($A_1\text{R}$; CADUS штам CY12660) людини або аденозином A_{2a} (A_{2a} ; CADUS штам CY8362) людини і доповнювали lacZ (β -галактозидаза) репортерним геном для використання як функціонального виведення. Повний опис трансформацій перерахований нижче (дивись Штами дріжджів). Як ліганд для всіх аналізів використали NECA (5'-N-етилкарбоксамідоаденозин), що являє собою ефективний агоніст аденозинового рецептора з аналогічною афінністю до A_1 і A_{2a} .

рецепторів. Сполуки, що тестуються, досліджували у 8 концентраціях (0,1-10000нМ) на їх здатність інгібувати NECA-індуковану активність β -галактозидази CY12660 або CY8362.

Одержання вихідних культур дріжджів: кожний з відповідних дріжджових штамів, CY12660 або CY8362, наносили смугами на агарові пластини та інкубували при 30°C доти, поки не спостерігали утворення колоній. Дріжджі цих колоній додавали до LT рідини (pH 6,8) CY8362 і вирощували протягом ночі при 30°C. Кожний дріжджовий штам потім розводили до ОП₆₀₀=1,0-2,0 (приблизно 1-2x10⁷ клітин/мл), як визначено спектрофотометрично (Molecular Devices VMAX). З розрахунку на кожні 6мл рідкої дріжджової культури додавали 4мл 40% гліцерину (1:1,5об./об.) («дріжджовий/гліцериновий вихідний препарат»). З цього дріжджового/гліцеринового вихідного препарату готували десять аліквот по 1мл і зберігали при -80°C до проведення аналізу.

Дріжджовий A₁R^C і A_{2a}R аналіз: розморожували одну ампулу кожного з CY8362 і CY12660 дріжджового/гліцеринового вихідного препарату і використали для інокулювання доповненого LT рідкого середовища, pH 6,8 (92мл рідкої LT, до якої додавали: 5мл 40% глюкози, 0,45мл 1М KOH і 2,5мл Pipes, pH 6,8). Рідкі культури вирощували протягом 16-18 годин (протягом ночі) при 30°C. Аліквоти культур, одержаних протягом ночі, потім розводили в LT середовищі, що містить 4М.Е./мл аденозиндезамінази (тип VI або VII з бичачої слизової кишечника, Sigma), для досягнення ОП₆₀₀=0,15 (1,5x10⁶ клітин/мл) для CY8362 (A_{2a}R) і ОП₆₀₀=0,50 (5x10⁶ клітин/мл) для CY12660 (A₁R).

Аналізи проводили при кінцевому об'ємі 100мкл в 96-ямкових мікротитрувальних планшетах при кінцевій концентрації ДМСО 2%, що досягається у всіх ямках. Для первинного скринінгу використали 1-2 концентрації сполук, що тестуються (10мкМ, 1мкМ). Для профілювання сполуки досліджували 8 концентрацій (10000, 1000, 500, 50, 10, 1 і 0,1нМ). У кожний планшет для мікротитрування додавали 10мкл 20%-ного ДМСО в «контрольні» і «загальні» ямки, тоді як 10мкл сполуки (в 20% ДМСО), що тестується, додавали в «невідомі» ямки. Згодом в «контрольні» і «загальні» ямки додавали 10мкл NECA (5мкл для A₁R, 1мкл для A_{2a}R); 10мкл PBS (забуференого фосфатом фізіологічного розчину) додавали в «контрольні» ямки. При кінцевому додаванні у всі ямки додавали 80мкл дріжджового штаму, CY8362 або CY12660. Потім всі планшети струшували протягом короткого проміжку часу (LabLine орбітальний шейкер, 2-3хв.) і залишали інкубуватись протягом 4 годин при 30°C у сушильній печі.

Активність β -галактозидази може бути кількісно оцінена з використанням або колориметричного (наприклад, ONPG, CPRG), люмінесцентного (наприклад, Galacton-Star) або флуориметричного субстрату (наприклад, FDG, Resorufin). У цей час флуоресцентна реєстрація є переважною на основі кращого співвідношення сигнал: шум, відносної свободи від інтерференції і низької вартості. Флуоресцентний дигалактопіранозид (FDG, Molecular Probes або Marker Gene Technologies), флуоресцентний субстрат β -галактозидази, додавали у всі ямки при концентрації 20мкл/ямку (кінцева концентрація=80мкМ). Планшети струшували протягом 5-6 секунд (LabLine орбітальний шейкер), а потім інкубували при 37°C протягом 90 хвилин (95% O₂/5% CO₂ інкубатор). У кінці 90-хвилинного періоду інкубації активність β -галактозидази зупиняли з використанням 20мкл/ямку 1М Na₂CO₃ і всі планшети струшували протягом 5-6 секунд. Планшети потім струшували протягом 6 секунд і визначали відносну інтенсивність флуоресценції з використанням флуориметра (Tecan Spectrafluor; збудження=485нм, випускнення=535нм).

Розрахунки: Значення відносної флуоресценції для «контрольних» ямок інтерпретували як фон і віднімали із «загальних» і «невдомих» значень. Профілі сполук аналізували за допомогою логарифмічного перетворення (вісь x: концентрація сполуки) з подальшою одновузловою конкурентною кривою, відповідною розрахунку значення IC₅₀ (GraphPad Prism).

Штами дріжджів: використали штам *Saccharomyces cerevisiae* C Y 12660 [far1*1442 tbt1-1 fus1-his3 can1 stel4::trp1::LYS2 ste3*1156 gpa1(41)-Gai3 lys2 ura3 leu2 trp1: his3; LEU2 PGKp-MF α Leader-hAIR-PHO5tem 2mu-orig REP3 Amp^r] і CY8362 [gpa1p-rGaiEIOK far1*1442 tbt1 fus1-HIS3 can1 stel4:: trp1:LYS2 ste3*1156 lys2 ura3 leu2 trp1 his3; LEU2 PGKp-hA2aR 2mu-ori REPS Amp^r].

LT середовище: LT (Leu-Trp доповнене) середовище складається з 100г DIFCO дріжджової азотистої основи, доповненої наступним: 1,0г валіну, 1,0г аспарагінової кислоти, 0,75г фенілаланіну, 0,9г лізину, 0,45г тирозину, 0,45г ізолейцину, 0,3г метіоніну, 0,6г аденіну, 0,4г урацилу, 0,3г серину, 0,3г проліну, 0,3г цистеїну, 0,3г аргініну, 0,9г гістидину і 1,0г треоніну.

Конструювання штамів дріжджів, які експресують A₁ аденозиновий рецептор людини.

У даному прикладі описано конструювання штамів дріжджів, які експресують A₁ аденозиновий рецептор людини, функціонально інтегрований у шлях дріжджової феромонової системи.

Конструювання вектора експресії

Для конструювання дріжджового вектора експресії A₁ аденозинового рецептора людини одержували кДНК A₁ аденозинового рецептора за допомогою ПЛР зворотної транскриптази мРНК гіпокампу людини з використанням праймерів, розроблених на основі опублікованої послідовності A₁ аденозинового рецептора людини, і стандартних методик. Продукт ПЛР субклонували в NcoI і XbaI сайти дріжджової плазмідної експресії rMPI5.

rMPI5 плазмідну створювали з rKPXt таким чином: XbaI сайт YEP51 (Broach J.R. et al., (1983) "Vectors for high-level, inducible expression of cloned genes in Yeast" p.83-117 в M.Inouye (ed.) Experimental Manipulation of Gene Expression. Academic Press, New York) ліквідували розщепленням, заповненням кінця і повторним лігуванням для створення Yep51NcoDXba. Інший сайт XbaI створювали на BatHI сайті спаленням за допомогою BatHI, заповненням кінця, лінкерним (New England Biolabs, # 1081) лігуванням, XbaI розщепленням і повторним лігуванням для генерування Yep51NcoXt. Цю плазмідну розкладали за допомогою Esp3I і NcoI і лігували до Leu2 і PGKp фрагментів, генерованих ПЛР. Продукт ПЛР Leu2, розміром 2 тисячі основ, генерували ампліфікацією з Yep51Nco з використанням праймерів, що містять сайти Esp3I і BglII. Продукт ПЛР PGKp з 660 пар основ генерували ампліфікацією з rPGKots (Rang Y.-S. et al., (1990), Mol. Cell. Biol. 10:2582-2590) за допомогою ПЛР праймерів, що містять сайти BglII і NcoI. Одержану плазмідну називають rLPXt. rLPXt модифікували вставкою кодуєчої області pre-pro лідера а-фактора в сайт NcoI. Вставку pre-pro лідера проводили таким чином, що NcoI клонуючий сайт підтримували на 3' кінці лідера, але не регенерували на 5'кінці. Таким чином рецептори можуть клонуватись

розщепленням плазмід за допомогою NcoI і XbaI. Одержану плазмиду називають рMP15, pre-pro лідера а-фактора.

рMP15 плазмиду, в яку вставляли кДНК аденозинового рецептора A₁ людини, позначали як р5095. У цьому векторі кДНК рецептора конденсована з 3' кінцем pre-pro лідера а-фактора дріжджів. Під час дозрівання білка pre-pro пептидні послідовності розщеплюються, генеруючи зрілий рецептор з повною довжиною. Це відбувається під час обробки рецептора на секреторному шляху дріжджів. Дану плазмиду підтримують Leu селекцією (тобто зростання на середовищі з нестачею лейцину). Визначали послідовність клонованої області кодування і було встановлено, що вона еквівалентна опублікованій в літературі (привласнені номери в GenBank S45235 і S56143).

II. Конструювання дріжджового штаму

Для створення штаму дріжджів, який експресує A₁ аденозиновий рецептор людини, як вихідного батьківського штаму використали штам дріжджів CY7967. Генотип CY7967 наступний:

MAToc gpa D1163 gpa1(41)Gai3 far1D1442 tbt-1 FUS1-HIS3 can 1 stel4::trpl::LYS2 ste3D1156 lys2 ura3 leu2 trp1 his3

Генетичні маркери розглянуті нижче.

| MATa | Спарюючий тип а |
|-------------------|--|
| gpa1D1163 | Ендогенний дріжджовий G-білок GPA-1 був видалений |
| gpa1 (41)Gai3 | gpa1(41)-Gai3 інтегрували в геном дріжджів. Цей химерний Ga білок складається з перших 41 амінокислот ендогенної дріжджової Ga субодиниці GPA1, злитої з G-білком Gai3 ссавців, в якому гвіанцеві амінокислоти, які мають загальне походження, були видалені |
| Far1D1442 | FAR1 ген (відповідальний за зупинку клітинного циклу) видаляли, запобігаючи таким чином зупинці клітинного циклу при активації шляху відповіді на феромон |
| tbt-1 | штам з високою ефективністю трансформації за допомогою електропорації |
| FUS1-HIS3 | злиття між FUS1 промотором і HIS3 кодуючою областю (таким чином створюючи індукцибельний HIS3 ген феромону) |
| Can1 | аргінін/канавінін пермеаза |
| Stel4::trpl::LYS2 | генне руйнування STE14, С-фарнезилметилтрансферази (таким чином знижуючи основний сигнал через шлях феромону) |
| ste3D1156 | ендогенний дріжджовий STR, фактор феромонового рецептора (STE3) руйнували |
| lys2 | дефект 2-аміноадипатредуктази, дріжджам необхідний лізин для зростання |
| ura3 | дефект оротидин-5'-фосфат декарбоксилази, дріжджам необхідний урацил для зростання |
| leu2 | дефект b-ізопропілмалат дегідрогенази, дріжджам необхідний лейцин для зростання |
| Trp1 | дефект фосфорибозилантранілату, дріжджам необхідний триптофан для зростання |
| his3 | дефект імідазолгліцеролфосфат дегідрогенази, дріжджам необхідний гістидин для зростання |

Дві плазмиди трансформували у штам CY7967 електропорацією: плазмиди р5095 (кодує A₁ аденозиновий рецептор людини; описана вище) і плазмиди р 1584, яка є плазмидою FUS1-β-галактозидазного репортерного гена. Плазмиду р 1584 одержували з плазмиди рRS426 (Christianson T.W. et al. 1992) Gene 110:119-1122). Плазмиди рRS426 містить полілінкерний сайт на нуклеотидах 2004-2016. Проводили інсерцію злиття FUS1 промотора і β-галактозидазного гена в сайти рестрикції EagI і XhoI для створення плазмиди р 1584. Плазмиду з 1584 підтримували Trp селекцією (тобто зростання на середовищі з нестачею лейцину).

Одержаний штам, який несе р5095 і р1584, що згадується як CY12660, експресує A₁ аденозиновий рецептор людини. Для зростання даного штаму в рідині або на агарових пластинах використали мінімальне середовище з нестачею лейцину і триптофану. Для здійснення аналізу зростання на планшетах (аналізування FUS1-HIS3), планшети знаходились при pH 6,8 і містили 0,5-2,5мМ 3-аміно-1,2,4-триазолу і нестачу лейцину, триптофану і гістидину. Як контроль специфічності у всі експерименти включали порівняння з одним або декількома іншими сімома трансмембранними рецепторними відборами на основі дріжджів.

Конструювання штамів дріжджів, які експресують A_{2a} аденозиновий рецептор людини.

У даному прикладі описано конструювання штамів дріжджів, які експресують A_{2a} аденозиновий рецептор людини, функціонально інтегрований у шлях дріжджової феромонової системи.

Конструювання вектора експресії

Для конструювання дріжджового вектора експресії A_{2a} аденозинового рецептора людини одержували кДНК A₂ аденозинового рецептора від Dr. Phil Murphy (NIH). При одержанні даного клону секвенували A_{2a} рецепторну вставку, і було встановлено, що вона ідентична опублікованій послідовності (привласнений номер в GenBank t S46950). КДНК рецептора вирізали з плазмиди ПЛР за допомогою VENT полімерази і клонували в плазмиду рLBX, яка стимулювала експресію рецептора за допомогою складового промотора фосфогліцерат кінази (PGK) у дріжджах. Ще раз визначали послідовність амінокислот цілої вставки і встановили, що вона ідентична опублікованій послідовності. Однак внаслідок використаної тут стратегії клонування три амінокислоти були додані до карбоксильного кінця рецептора, GlySerVal.

Конструювання штаму дріжджів

Для створення штаму дріжджів, який експресує A_{2a} аденозиновий рецептор людини, як вихідного батьківського штаму використали штам дріжджів CY8342. Генотип CY8342 наступний:

MATα far1D1442 tbt1-1 lys2 ura3 leu2 trp1 his3 fus1-HIS3 can1 ste3D1156 gpaDH63 stel4:: trpl:: LYS2 gpa1p-rG_{as}E10K (або gpa1p-rG_{as}D229S або gpa1p-rG_{as}E10K+D229S)

Генетичні маркери є такими, як описано вище, за винятком маркера для варіювання G-білка. Для експресії A_{2a} рецептора людини використали штами дріжджів, в яких був видалений ендогенний дріжджовий G-білок GPA1 і замінений на G_{as} ссавця. Використали три шурячих G_{as} мутанти. Такі варіанти містять одну

або дві точки мутації, які перетворюють їх в білки, які раціонально зшиваються з β -дріжджів. Вони були ідентифіковані як G_{as}E10K (в яких глутамінова кислота в десятому положенні замінена на лізін), G_{as}D229S (в якому аспартамова кислота в положенні 229 замінена на серин) і G_{as}E10K+D229S (який містить обидві точки мутації).

Штам CY8342 (який несе один з трьох мутантних щурячих G_{as} білків) трансформували за допомогою або батьківського вектора rLPBX (Рецептор) або за допомогою rLPBX-A2a (Рецептор⁺). Додавали плазмиду з FUS1 промотором, злитим з кодуючими послідовностями β -галактозидази (описаними вище) для оцінки величини активації шляху феромонової відповіді.

Функціональний аналіз з використанням штамів дріжджів, які експресують A₁ аденозиновий рецептор

У даному прикладі описана розробка аналізу функціонального скринінгу модуляторів A₁ аденозинового рецептора людини в дріжджах

I. Ліганди, що використовуються в аналізі

Для розробки даного аналізу використали аденозин, природний агоніст даного рецептора, а також два інших синтетичних агоністи. У підмножині експериментів використали аденозин, що має за опублікованими даними EC₅₀, яке складає приблизно 75нм, і (-)-N6-(2-фенілізопропіл)аденозин (PIA) з опублікованої афінністю приблизно 50нм. У всіх аналізах зростання використали 5'-N-етилкарбоксамідоаденозин (NECA). Для запобігання передачі сигналів через присутність аденозину в середовищі для зростання у всіх аналізах додавали аденозіндеаміназу (4МЕ/мл).

II. Біологічна реакція у відповідь в дріжджах

Здатність A₁ аденозинового рецептора функціонально зв'язуватись з гетерологічною системою дріжджів оцінювали шляхом введення вектора експресії A₁ рецептора (p5095, описано вище) в ряд дріжджових штамів, які експресують різні субодиниці білка G. Більшість таких трансформантів експресувало G_a субодиниці G_{ai} або G_{ao} підтипу. Додаткові G_a білки також були протестовані для можливої ідентифікації неоднорідності їх зв'язування рецептор-G_a білок. У різних штаммах STE18 або химерний STE18-Gy конструкт інтегрували в геном дріжджів.

Штами дріжджів приховували дефективний HIS3 ген і інтегровану копію FUS1-HIS3, даючи таким чином можливість для відбору в селективному середовищі, що містить 3-аміно-1,2,4-триазол (протестований при 0,2, 0,5 і 1,0мМ) і який не має гістидину. Трансформанти виділяли і готували моношари на середовищі, що містить 3-аміно-1,2,4-триазол, 4МЕ/мл аденозіндеамінази і не містить гістидину. Використали п'ять мікролітрів різних концентрацій ліганду (наприклад, NECA в концентрації 0, 0,1, 1,0 і 10мМ). Зростання контролювали протягом 2 днів. Таким чином у різних штаммах дріжджів досліджували ліганд-залежну реакцію у відповідь зростання. Результати підсумовані нижче в таблиці 1. Символ (-) вказує, що ліганд-залежна активація рецептора не визначалась, тоді як (+) означає ліганд-залежну відповідь. Термін «LIRMA» вказує на ліганд-незалежну активацію, опосередковану рецептором.

Таблиця 3

| Штам дріжджів | G _a субодиниця | Gy субодиниця | Варіантиштаму | Результат |
|---------------|--|---------------|---------------|-----------|
| CY1316 | GPA ₁ | STE18 | | - |
| | GPA41-G _{ai1} | | | + |
| | GPA41-G _{ai2} | | | + |
| | GPA41-G _{ai3} | | | + |
| | GPA41-G _{ai2} -G _{aoB} | | | LIRMA |
| | GPA41-G _{ase10K} | | | - |
| | GPA41-G _{asD229S} | | | - |
| CY7967 | GPA41-G _{ai3} -інтегрований | STE18 | | +++ |
| CY2120 | GPA ₁ | STE18 | sst2A | + |
| | GPA41-G _{ai1} | | | + |
| | GPA41-G _{ai2} | | | + |
| | GPA41-G _{ai3} | | | + |
| | GPA41-G _{ai2} -G _{aoB} | | | LIRMA |
| | GPA41-G _{ase10K} | | | - |
| | GPA41-G _{asD229S} | | | - |
| CY9438 | GPA ₁ | STE18-Gy2 | | - |
| | GPA41-G _{ai1} | | | + |
| | GPA41-G _{ai2} | | | + |
| | GPA41-G _{ai3} | | | + |
| | GPA41-G _{ai2} -G _{aoB} | | | LIRMA |
| | GPA41-G _{ase10K} | | | - |
| CY10560 | GPA41-G _{asD229S} | | | - |
| | GPA ₁ -інтегрований | STE18-Gy2 | sst2Δ | ++ |

Як указано в таблиці 3, було встановлено, що найбільш сильна передача сигналів відбувалась у штам дріжджів, який експресує GPA₁(41)-G_{ai3} химерний білок.

III. fus1 LacZ аналіз

Щоб більш повно охарактеризувати активацію шляху феромонової реакції у відповідь, вимірювали

синтез β -галактозидази за допомогою fuslLacZ у відповідь на агоністичну стимуляцію. Для здійснення β -галактозидазного аналізу підвищені концентрації ліганду додавали до mid-log культури A_1 аденозинового рецептора людини, який експресується у штамі дріжджів, що співекспресує Ste18-Gy2 химеру і $GPA_1(41)-G_{\alpha 13}$. Виділяли трансформанти і вирощували протягом ночі у присутності гістидину і 4МЕ/мл аденозиндезамінази. Через п'ять годин інкубування з 4МЕ/мл аденозиндезамінази і лігандом вимірювали індукцію β -галактозидази з використанням CPRG як субстрата для β -галактозидази. Для аналізу використали 5×10^5 клітин.

Результати, одержані з NECA стимуляцією, вказували, що при концентрації NECA 10^{-8} М досягається приблизно 2-х кратна стимуляція активності β -галактозидази. Крім того, приблизно 10-кратний індекс стимуляції спостерігався при концентрації NECA, що становить 10^{-5} М.

Застосування даного аналізу розширювали для оцінки активності антагоністів на даному штамі. Два відомих антагоністи аденозину, ХАС і DPCPX, досліджували на їх здатність конкурувати з NECA (при 5мМ) на активність в аналізі β -галактозидази. У даних аналізах індукування β -галактозидази вимірювали з використанням FDG як субстрату і $1,6 \times 10^5$ клітин на аналіз. Результати показують, що як ХАС, так і DPCPX служать ефективними антагоністами експресованого дріжджами A_1 аденозинового рецептора при значеннях IC_{50} 44нм і 49нм, відповідно.

Для визначення, чи є ця інгібуюча дія специфічною для A_1 підтипу, був проведений ряд доповнюючих експериментів за допомогою аналізу A_{2a} рецептора на основі дріжджів. Результати, одержані в аналізі A_{2a} рецептора на основі дріжджів, вказували, що ХАС був відносно ефективним антагоністом A_{2a} рецептора, узгоджуючись з опублікованими даними. Навпаки, DPCPX був відносно інертним для даного рецептора, як очікувалось з опублікованих повідомлень.

IV. Радіолігандне зв'язування.

Аналіз A_1 аденозинового рецептора додатково охарактеризували вимірюванням параметрів радіолігандного зв'язування рецептора. Аналізували замісне зв'язування [3 H]CPX з декількома посиальними сполуками рецептора аденозину, ХАС, DPCPX і CGS з використанням мембран, одержаних з дріжджів, які експресують A_1 аденозиновий рецептор людини. Результати для дріжджових мембран, які експресують A_1 аденозиновий рецептор людини, порівнювали з результатами для дріжджових мембран, які експресують A_{2a} аденозиновий рецептор людини або A_3 рецептор людини, для оцінки специфічності зв'язування. Для проведення даного аналізу п'ятдесят міліграм мембран інкубували з 0,4нм [3 H]CPX і концентраціями лігандів аденозинового рецептора, що збільшуються. Інкубування проводили в 50мМ Tris-HCl, рН 7,4, 1мМ EDTA, 10мМ $MgCl_2$, 0,25% BCA і 2МЕ/мл аденозиндезамінази у присутності інгібіторів протеази протягом 60 хвилин при кімнатній температурі. Зв'язування зупиняли шляхом додавання охолодженого льодом 50мМ Tris-HCl, рН 1,4, плюс 10мМ $MgCl_2$, з подальшим швидким фільтруванням через GF7B фільтри, попередньо промиті 0,5% поліетиленіміном з використанням 96-ямкового харвестера Packard. Дані аналізували методом підбору нелінійної кривої за методом найменших квадратів з використанням програмного забезпечення Prism2.02. Одержані в даному експерименті значення IC_{50} підсумовані нижче у таблиці 4:

Таблица 4

| Сполука | IC_{50} (нМ) | | |
|-----------|----------------|--------|--------|
| | HAIR | hA2aR | hA3R |
| ХАС | 6,6 | 11,7 | 53,1 |
| DPCPX | 8,5 | 326,4 | 1307,0 |
| CGS-15943 | 13,1 | 15,8 | 55,5 |
| NECA | 215,5 | 294,9 | 34,9 |
| R-PIA | 67,6 | 678,1 | 23,6 |
| IB-MECA | 727,7 | 859,4 | 3,1 |
| Алоксозин | 1072,0 | 1934,0 | 8216,0 |

Ці дані вказують, що посиальні сполуки володіли афінністю, відповідною опублікованій у літературі. Дані додатково показують, що аналізи на основі дріжджів мають достатню чутливість для розпізнавання специфічності підтипу рецептора.

Функціональний аналіз з використанням штамів дріжджів, які експресують A_{2a} аденозиновий рецептор

У даному прикладі описана розробка аналізу функціонального скринінгу модуляторів A_1 аденозинового рецептора людини у дріжджах

I. Ліганди, що використовуються в аналізі

Природний ліганд аденозин, а також інші ретельно охарактеризовані і комерційно доступні ліганди використані для вивчення A_{2a} рецептора людини, який функціонально експресується дріжджами. При створенні даного аналізу використали три ліганди. Вони включають:

| Ліганд | Враховані K_1 | Функція |
|--|-----------------|---------|
| Аденозин | 500нм | агоніст |
| 5'-N-етилкарбоксамі доаденозин (NEC A) | 10-15нм | агоніст |
| (-)-M6-(2-фенілізопропіл)аденозин(PIA) | 100-125нм | агоніст |

Для запобігання передачі сигналів через присутність аденозину в середовищі для зростання у всіх аналізах додавали аденозиндезаміназу (4МЕ/мл).

II. Біологічна реакція у відповідь в дріжджах

Агоністи A_{2a} рецептора досліджували на їх здатність стимулювати шлях феромонової реакції у відповідь у дріжджах, трансформованих плазмідною експресією A_{2a} рецептора і експресуючих або G_{asE10K} ,

G_{as}D229S або G_{as}E10K+D229S. На здатність ліганда стимулювати шлях феромонової реакції у відповідь рецептор-залежним чином вказувала зміна фенотипу дріжджів. Активація рецептора модифікувала фенотип від гістидинової ауксотрофи на гістидинову прототрофію (активація *fus1-HIS3*). Виділяли три незалежних трансформанти і вирощували протягом ночі у присутності гістидину. Клітини промивали для видалення гістидину і розводили з розрахунку 2×10^6 клітин/мл. По 5 мл кожного трансформанту наносили у вигляді плями на неселективне середовище (включає гістидин) або селективне середовище (1мМ АТ) за відсутності або у присутності 4МЕ/мл аденозиндеамінази. Планшети вирощували при 30°C протягом 24 годин. У присутності гістидину як Рецептор⁺ (R⁺), так і Рецептор⁻ (R⁻) штами були здатні до зростання. Однак, за відсутності гістидину росли тільки клітини R⁺. Оскільки в дані планшети не додавали ліганд, можливо два пояснення даного результату. Одне можливе пояснення полягає в тому, що дріжджі, які містять рецептор, мали перевагу у зростанні завдяки ліганд-незалежній рецептор-опосередкованій активації (LIRMA). Альтернативно, дріжджі могли виявитись здатними синтезувати аденозин. Для того, щоб розрізнити ці дві можливості до зростаючих дріжджів і планшетів додавали фермент, який руйнує ліганд, аденозиндеаміназу (ADA). У присутності аденозиндеамінази R⁺ клітини більше не росли за відсутності гістидину, вказуючи на те, що дріжджі дійсно синтезували ліганд.

Дана інтерпретація була підтверджена аналізом A_{2a} зростання у рідині. У даному експерименті дріжджі (штам G_{as}E10K, який експресує A_{2a} рецептор) інокулювали при трьох щільностях (1×10^6 клітин/мл; 3×10^5 клітин/мл або 1×10^5 клітин/мл) у присутності або за відсутності аденозиндеамінази (4МЕ/мл). Переконливість аналізу підвищували за допомогою збільшення концентрацій (0, 0,1, 0,2 або 0,4мМ) 3-аміно-1,2,4-триазолу (АТ), конкурентного антагоніста імідазолгліцерол-Р дегідратази, білкового продукту *HIS3* гена. У присутності аденозиндеамінази і 3-аміно-1,2,4-триазолу дріжджі росли менш інтенсивно. Однак, за відсутності 3-аміно-1,2,4-триазолу аденозиндеаміназа справляла незначну дію. Таким чином, сама аденозиндеаміназа не справляє безпосередньої дії на шлях феромонової реакції у відповідь.

Альтернативний підхід до вимірювання зростання, такий, який можна зробити мініатюрним для високопродуктивного скринінгу, являє собою спот-аналіз A_{2a} рецепторного ліганду. G_{as}E10K штам, який експресує A_{2a} рецептор (A_{2a}R⁺) або не має рецептор (R⁻), вирощували протягом ночі в присутності гістидину і 4МЕ/мл аденозиндеамінази. Клітини промивали для видалення гістидину і розводили до 5×10^6 клітин/мл. На відбірні планшети, що містять 4МЕ/мл аденозиндеамінази і від 0,5 до 1,0мМ 3-аміно-1,2,4-триазолу (АТ), наносили 1×10^6 клітин і залишали сохнути протягом 1 години. На моношар наносили наступні реагенти: 10мМ аденозину, 38,7мМ гістидину, диметилсульфоксид (ДМСО), 10мМ PIA або 10мМ NECA. Клітини вирощували протягом 24 годин при 30°C. Результати продемонстрували, що клітини без рецептора могли рости тільки при додаванні до середовища гістидину. Навпаки, R⁺ клітини росли тільки на площах, куди були нанесені у вигляді плями A_{2a} рецепторні ліганди PIA або NECA. Оскільки планшети містили аденозиндеаміназу, недолік зростання, там де у вигляді плями був нанесений аденозин, підтверджував, що аденозиндеаміназа була активною.

III. *fus1 LacZ* аналіз

Для кількісної активації шляхи схрещування дріжджів вимірювали синтез β-галактозидази через *fus1LacZ*. Штами дріжджів, які експресують G_{as}E10K, G_{as}D229S або G_{as}E10K+D229S, трансформували плазмідом, що кодує A_{2a} рецептор людини (R⁺), або плазмідом, що не має рецептора (R⁻). Трансформанти виділяли і вирощували протягом ночі в присутності гістидину і 4МЕ/мл аденозиндеамінази. 1×10^7 клітин розводили до 1×10^7 клітин/мл і піддавали дії концентрації NEC A, що підвищується, протягом 4 годин з подальшим утворенням активності β-галактозидази у клітинах. Результати показали, що по суті активність β-галактозидази не виявлялась в R⁻ штаммах, тоді як підвищені кількості активності β-галактозидази виявлялись в R⁺ штаммах, які експресують або G_{as}E10K, G_{as}D229S, або G_{as}E10K+D229S, по мірі збільшення концентрації NECA, вказуючи на доза-залежне збільшення в одиницях β-галактозидази, виявленої як реакція у відповідь на дію підвищеної концентрації ліганду. Така залежність від дози спостерігалась тільки у клітинах, які експресують A_{2a} рецептор. Крім того, найбільш ефективним G_{as} конструктором для A_{2a} рецептора виявилась G_{as}E10K. Конструкт G_{as}D229S виявився другим найбільш ефективним G_{as} конструктором для A_{2a} рецептора, тоді як G_{as}E10K+D229S конструкт був найменше ефективним з трьох протестованих G_{as} конструктів, хоча навіть конструкт G_{as}E10K+D229S стимулював кількості активності β-галактозидази, що легко виявляються.

Для додаткового опису вказаних аналізів дивись публікацію заявки на патент США № US-2002-0015967-A1, опубліковану 7 лютого 2002 року, озаглавлену "Functional Expression of Adenosine Receptors in Yeast", зараз ліквідовану, повний зміст якої включений в даний опис як посилання.

Фармакологічна характеристика підтипів аденозинового рецептора людини

Матеріали. [³H] DPCPX [циклопентил-1,3-дипропілксантин, 8-[дипропіл-2,3-³H(N)] (120,0 кюрі/ммоль); [³H]-CGS 21680, [карбоксетил-³H(K)] (30 кюрі/ммоль); і [¹²⁵I]-AB-MECA ([¹²⁵I]-4-амінобензил-5'-N-метилкарбоксамідоаденозин) (2200 кюрі/ммоль) були одержані від New England Nuclear (Boston, MA). ХАС (що відноситься до класу ксантинаміну); NECA (5-N-етилкарбоксамідоаденозин) і IB-MECA одержані від Research Biochemicals International (RBI, Natick, MA). Змішані таблетки аденозиндеамінази і повний інгібітор протеази закуповували у Boehringer Mannheim Corp. (Indianapolis, IN). Мембрани HEK-293 клітин, які стабільно експресують A₂ аденозин [RB-HA2a], 2b 1 аденозин [RB-HA2b] або аденозин 3 [RB-HA3] підтипи рецепторів людини, відповідно, були одержані від Receptor Biology (Beltsville, MD). Реагенти клітинних культур одержані від Life Technologies (Grand Island, NY) за винятком сироватки, одержаної від Hyclone (Logan, UT).

Штами дріжджів: використали штами *Saccharomyces cerevisiae* CY12660 [*far1**1442 *tbt1*-1 *fus1*-*HIS3* *can1* *stel4*::*trp1*::*LYS2* *ste3**1156 *gpa1*(41)-G_{ai3} *lys2* *ura3* *leu2* *trp1*: *his3*; LEU2 PGKp-MFαLeader-hAIR-PH05term 2mu-orig REPS Amp^r] і CY8362 [*gpa1*-rGαE10K *far1**1442 *tbt1*-1 *fus1*-*HIS3* *can1* *stel4*::*trp1*::*LYS2* *ste3**1156 *lys2* *ura3* *leu2* *trp1* *his3*; LEU2 PGKp-hA2aR 2mu-ori REP3 Amp^r], як описано вище.

Культура дріжджів: трансформовані дріжджі вирощували в Leu-Trp (LT) середовищі (pH 5,4), доповненим 2% глюкози. Для одержання мембран 250мл LT середовища інокулювали при вихідному титрі 1×10^6 клітин/мл 30мл культури, одержаної протягом ночі, і інкубували при 30°C при постійному постачанні

киснем за рахунок обертання. Після 16 годин зростання клітини збирали центрифугуванням і одержували мембрани, як описано нижче.

Культура тканини людини: HEK-293 клітини, які стабільно експресують підтип 2а аденозинового рецептора людини (клон Cadus #5), вирощували в мінімальному незамінному середовищі Дульбекко (DMEM), доповненого 10% фетальною телячою сироваткою і сумішшю 1X пеніцилін/стрептоміцин при вибраному тиску з використанням 500мг/мл G418 антибіотика при 37°C у зволоженій атмосфері, що містить 5% CO₂.

Одержання мембран дріжджових клітин: 250мл культури збирали після інкубування протягом ночі центрифугуванням при 2000g у центрифугу Sorvall RT6000. Клітини промивали охолодженою льодом водою, центрифугували при 4°C і осад від центрифугування повторно суспендували в 10мл охолодженого льодом лізисного буфера [5mM Tris-HCl, pH 7,5; 5mM EDTA і 5mM EGTA], доповненого змішаними таблетками інгібітора протеази (1 таблетка на 25мл буфера). Складні бусини (17г; 400-600меш; Sigma) додавали до суспензії і клітини руйнували шляхом інтенсивного вихрового перемішування при 4°C протягом 5 хвилин. Гомогенат розводили додатково 30мл лізисного буфера плюс інгібітори протеази і центрифугували при 3000g протягом 5 хвилин. Згодом мембрани осаджували при 36000g (Sorval RC5B ротор типу SS34) протягом 45 хвилин. Одержаний осад мембран повторно суспендували в 5мл мембранного буфера [50mM Tris-HCl, pH 7,5; 0,6mM EDTA і 5mM MgCl₂], доповненого змішаними таблетками інгібітора протеази (1 таблетка на 50мл буфера) і зберігали при -80°C для подальших експериментів.

Одержання мембран клітин ссавців: мембрани клітин HEK-293 одержували, як описано раніше (Duzic E. Et al., J.Biol.Chem., 267, 9844-9851, 1992). Стисло, клітини промивали забуференим фосфатом фізіологічним розчином (PBS) і збирали за допомогою гумового збирача. Клітини осаджували при 4°C і 200g у центрифугу Sorvall RT6000. Осад від центрифугування повторно суспендували в 5мл на чашку лізисного буфера при 4°C [5mM Tris-HCl, pH 7,5; 5mM EDTA; 5mM EGTA; 0,1mM фенілметилсульфонілфториду, 10мг/мл пепстатину А і 10мг/мл апротиніну], і гомогенізували в гомогенізаторі Dounce. Клітинний лізат потім центрифугували при 36000g (Sorval RC5B ротор типу SS34) протягом 45 хвилин і одержаний при центрифугуванні осад повторно суспендували в 5мл мембранного буфера [50mM Tris-HCl, pH 7,5; 0,6mM EDTA; 5mM MgCl₂; 0,1mM фенілметилсульфоніл фториду, 10мг/мл пепстатину А і 10мг/мл апротиніну] і зберігали при -80°C для подальших експериментів.

Набори для протеїнового аналізу Bio-Rad на основі методики Бредфорда зв'язування з барвником (Bradford M., Anal.Biochem. 72:248 (1976)) використали для визначення загальної концентрації білка у мембранах дріжджів і ссавців.

Насичення і конкурентне радіолігандне зв'язування підтипу 1 аденозинового рецептора: Насичення і конкурентне зв'язування на мембранах дріжджових клітин, трансформованих A[підтипом рецептора людини, проводили з використанням антагоніста [³H]DPCPX як радіоактивного ліганду. Мембрани розводили в буфері для зв'язування [50mM Tris-HCl, pH 7,4; утримуючий 10mM MgCl₂; 1,0mM EDTA; 0,25% БСА; 2МЕ/мл аденозиндеамінази і 1 змішану таблетку інгібітора протеази/50мл] при концентраціях 1,0мг/мл.

При насиченому скріпленні мембрани (50мкг/ямку) інкубували з концентраціями [³H]DPCPX, що збільшуються, (0,05-25нм) в кінцевому об'ємі 100мкл буфера для зв'язування при 25°C протягом 1 години за відсутності або у присутності 10мкМ неміченого ХАС в 96-ячковому планшеті для мікротитрування.

При конкурентному скріпленні мембрани (50мкг/ямку) інкубували з [³H]DPCPX (1,0нм) в кінцевому об'ємі 100мкл буфера для зв'язування при 25°C протягом 1 години за відсутності або у присутності 10мкМ неміченого ХАС або концентрацій конкуруючих сполук, що збільшуються, в 96-ячковому планшеті для мікротитрування.

Конкурентне радіолігандне зв'язування підтипу 2а аденозинового рецептора: Конкурентне зв'язування на мембранах HEK293 клітин, які стабільно експресують A_{2a} підтип рецептора людини, проводили з використанням агоніста [³H] CGS-21680 як радіоактивного ліганду. Мембрани розводили в буфері для зв'язування [50mM Tris-HCl, pH 7,4; утримуючий 10mM MgCl₂; 1,0mM EDTA; 0,25% БСА; 2МЕ/мл аденозиндеамінази і 1 змішану таблетку інгібітора протеази/50мл] при концентраціях 0,2мг/мл. Мембрани (10мкг/ямку) інкубували з [³H] CGS-21680 (100нм) в кінцевому об'ємі 100мкл буфера для зв'язування при 25°C протягом 1 години за відсутності або у присутності 50мкМ неміченого NECA або концентрацій конкуруючих сполук, які збільшуються, в 96-ячковому планшеті для мікротитрування.

Конкурентне радіолігандне зв'язування підтипу 3 аденозинового рецептора: Конкурентне зв'язування на мембранах HEK293 клітин, які стабільно експресують A₃ підтип рецептора людини, проводили з використанням агоніста [¹²⁵I] AB-MECA як радіоактивного ліганду. Мембрани розводили в буфері для зв'язування [50mM Tris-HCl, pH 7,4; утримуючий 10mM MgCl₂; 1,0mM EDTA; 0,25% БСА; 2МЕ/мл аденозиндеамінази і 1 змішану таблетку інгібітора протеази/50мл] при концентраціях 0,2мг/мл. Мембрани (10мкг/ямку) інкубували з [¹²⁵I] AB-MECA (0,75нм) в кінцевому об'ємі 100мкл буфера для зв'язування при 25°C протягом 1 години за відсутності або у присутності 50мкМ неміченого IB-MECA або концентрацій конкуруючих сполук, що збільшуються, в 96-ячковому планшеті для мікротитрування.

При закінченні інкубування аналізу радіолігандного зв'язування A₂, A_{2a} і A₃ підтипів рецептора закінчували за допомогою додавання охолодженого льодом 50mM Tris-HCl (pH 7,4), доповненого 10mM MgCl₂ з подальшим швидким фільтруванням через фільтри зі скляним волокном (96-ямок, GF/B UniFilters, Packard, заздалегідь промитих 0,5% поліетиленіміном у харвестері клітин Filtermate 196 (Packard)). Фільтрувальні планшети сушили, покривали з розрахунку 50мкл/ямку сцинтиляційною рідиною (Microscint-20, Packard) і обраховували у TopCount (Packard). Аналізи проводили у трьох послідовностях. Неспецифічне зв'язування становило 5,6±0,5%, 10,8±1,4% і 15,1±2,6% від загального зв'язування в аналізах зв'язування AIR, A2aR і A3R, відповідно.

Конкурентне радіолігандне зв'язування підтипу 2b аденозинового рецептора: Конкурентне зв'язування на мембранах HEK293 клітин, які стабільно експресують A_{2b} підтип рецептора людини, проводили з використанням атнагоніста A! рецептора [³H]DPCPX як радіоактивного ліганду. Мембрани розводили в буфері для зв'язування [10mM Hepes-KOH, pH 7,4; містить 1,0mM EDTA; 0,1mM бензамідину і 2МЕ/мл аденозиндеамінази] при концентраціях 0,3мг/мл. Мембрани (15мкг/ямку) інкубували з [³H] DPCPX (15нм) у

кінцевому об'ємі 100мкл буфера для зв'язування при 25°C протягом 1 години за відсутності або у присутності 10мкМ неміченого ХАС або концентрацій конкуруючих сполук, що збільшуються, у 96-ямковому планшеті для мікротитрування. При закінченні інкубування аналіз закінчували додаванням охолодженого льодом 10мМ Hepes-KOH (pH 7,4) буфера з подальшим швидким фільтруванням через фільтри зі скляним волокном (96-ямок, GF/B UniFilters, Packard), попередньо промиті 0,5% поліетиленіміном у харвестері клітин Filtermate 196 (Packard). Фільтрувальні планшети сушили, покривали з розрахунку 50мкл/ямку сцинтиляційною рідиною (Microscint-20, Packard) і обраховували у TopCount (Packard). Аналізи проводили у трьох послідовностях. Неспецифічне зв'язування становило 14,3±2,3% від загального зв'язування.

Специфічне зв'язування [³H] DPCPX, [³H] CGS-21680 і [¹²⁵I] AB-MECA визначали як різницю між загальним зв'язуванням і неспецифічним зв'язуванням. Процент інгібування сполуками розраховували відносно загального зв'язування.

Конкурентні дані аналізували за допомогою ітеративної кривої, відповідної односайтової моделі, і значення K_i розраховували зі значень IC₅₀ (Cheng and Prusof, Biochem. Pharmacol.22, 3099-3109, 1973) з використанням програмного забезпечення Prism 2.01.

Результати.

Первинною функцією деяких рецепторів поверхні клітин є розпізнавання відповідних лігандів. Відповідно, авторами даного винаходу визначена афінність лігандного зв'язування для встановлення функціональної цілісності підтипу 1 аденозинового рецептора, який експресується дріжджами. Неочищені мембрани, одержані від *Saccharomyces cerevisiae*, трансформованих конструктом підтипу 1 аденозинового рецептора людини, виявляли специфічне насичене зв'язування [³H] DPCPX з K_D 4,00,19нм. Значення K_D і V_{max} розраховували з ізотерми насичення і перетворення даних по Скатчарду, які вказують один клас сайтів зв'язування. Щільність сайтів аденозинового зв'язування у препаратах дріжджових мембран оцінювали як 716,8±43,4фмоль/мг мембранного білка.

Фармакологічні характеристики підтипу рекомбінантних дріжджових клітин, трансформованих підтипом A₁ рецептора, досліджували за допомогою підтип-селективних аденозинових лігандів (ХАС, DPCPX, CGS-15943; Сполука 600; Сполука 1002; NECA, (R)-PIA, IB-MECA і алоксазин), які конкурували з [³H] DPCPX в очікуваному ранговому порядку. Криві заміщення, зареєстровані для даних сполук, показали типову крутизну для всіх лігандів, і дані для кожного ліганду можна було моделювати за допомогою односайтового підходу. Видимі константи дисоціації, оцінені з кривих для окремої сполуки (таблиця 5), відповідають опублікованому значенню для рецептора, одержаного з інших джерел.

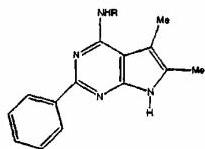
Таблиця 5

Значення K_i для мембран дріжджових клітин, трансформованих підтипом A₁ рецептора людини



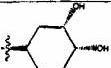
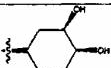


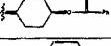
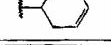
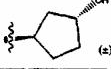
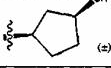
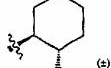
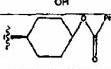
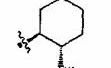
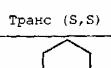
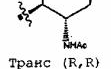

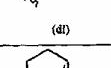
| Ліганди | K _i (нМ) |
|--------------|---------------------|
| ХАС | 5,5 |
| DPCPX | 7,1 |
| CGS-1594 | 10,8 |
| NECA | 179,6 |
| (R)- PIA | 56,3 |
| IB-MECA | 606,5 |
| Алоксазин | 894,1 |
| Сполука 600 | 13,9 |
| Сполука 1002 | 9,8 |

У таблицях 6-12 показані профілі ефективності і структурної активності дезазапуринів за винаходом. У таблицях 13-14 показана селективність, яка може бути досягнута для сайтів аденозинових рецепторів людини шляхом модулювання функціональних груп біля дезазапуринової структури. У таблиці 14 також показане те несподіване відкриття, що сполуки, вказані в даному описі, володіють субнаномольною активністю і більш високою селективністю до A_{2b} рецептора у порівнянні зі сполуками в таблиці 13.

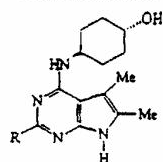
Таблиця 6
Вплив N₆-замісника



| Сполука | R | A ₁ | |
|---------|---|------------------------------------|-------------------------------|
| | | Зв'язування K _i (нМ) | Дріжджі IC ₅₀ (нМ) |

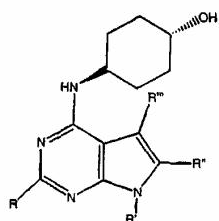
| | | | |
|-----|---|---------|---------|
| 600 |  | 13,9 | 97,2 |
| 601 |  | 1423 | >10,000 |
| 602 |  | 483,5 | >10,000 |
| 603 |  | 196,6 | 4442,0 |
| 604 |  | >10,000 | >10000 |
| 605 |  | >10000 | >10000 |
| 606 |  | 297,9 | >10000 |
| 607 |  | 309,7 | >10000 |
| 608 |  (z) | 29,1 | |
| 609 |  (z) | 193,9 | |
| 610 |  (z) | 411,5 | |
| 611 |  | 785,6 | >10000 |
| 612 |  Транс (S,S) | 64,8 | |
| 613 |  Транс (R,R) | 6726,0 | |
| 614 |  (dl) | 32,1 | |
| 615 |  (dl) | 816,9 | 2577,0 |
| 616 |  | 34,3 | |

Таблиця 7
Вплив C₂-замісника



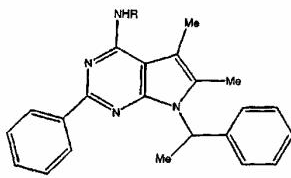
| Сполука | R | A1 | |
|---------|---|------------------------------------|-------------------------------|
| | | Зв'язування K _i (нМ) | Дріжджі IC ₅₀ (нМ) |
| 700 | | 604, 5 | >10000 |
| 701 | | 157, 7 | 763, 1 |
| 702 | | 198, 5 | 2782, 5 |
| 703 | | 443, 6 | >10000 |
| 704 | | 61, 1 | 297, 0 |
| 705 | | 30, 1 | 194, 7 |
| 706 | | 19, 9 | |
| 707 | | 62, 8 | |
| 708 | | 2145 | |
| 709 | | 48, 7 | |

Таблиця 8
Вплив замісника пірольного кільця

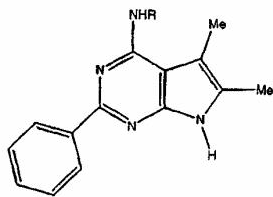


| Сполука | R | R' | R'' | R''' | A1 | |
|---------|---|----|-----|------|---------------------------------|-------------------------------|
| | | | | | Зв'язування K _i (нМ) | Дріжджі IC ₅₀ (нМ) |
| 800 | | Me | Me | Me | 3311 | >10000 |
| 801 | | H | Me | H | 22, 3 | 148, 3 |
| 802 | | H | H | Me | 8, 9 | |
| 803 | | | Me | Me | 2210 | >10000 |
| 804 | | | Me | Me | 863, 1 | |
| 805 | | | Me | Me | 4512 | |
| 806 | | | Me | Me | 8451 | |
| 807 | | | Me | Me | 35, 3 | |

Таблиця 9

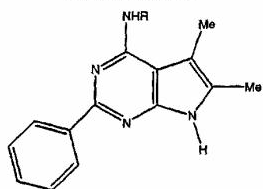


| Сполука | R | A1 | |
|---------|---|---------------------------|------------------------|
| | | Зв'язування K_i (нМ) | Дріжджі IC_{50} (нМ) |
| 900 | | 863, 1 | |
| 901 | | 4512 | |
| 902 | | 8451 | |
| 903 | | 35, 3 | |

Таблиця 10
Вплив N₆-замісника

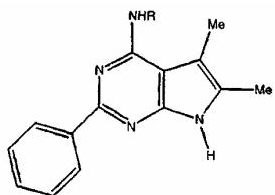
| Сполука | R | A1 | |
|---------|---|---------------------------|------------------------|
| | | Зв'язування K_i (нМ) | Дріжджі IC_{50} (нМ) |
| 1000 | | 1799 | >10000 |
| 1001 | | 54, 4 | 1865 |
| 1002 | | 9, 8 | 82, 8 |
| 1003 | | 26, 7 | 195, 7 |
| 1004 | | 32, 8 | 545, 8 |
| 1005 | | 147, 5 | 3972 |
| 1006 | | 151, 7 | 2918 |
| 1007 | | 692, 5 | >10000 |
| 1008 | | 93, 1 | 3217 |
| 1009 | | 475, 3 | >10000 |
| 1010 | | 674, 9 | 9376, 0 |
| 1011 | | 121, 9 | 2067, 5 |
| 1012 | | 233, 9 | 3462 |
| 1013 | | 270, 1 | 3009, 5 |
| 1014 | | 384, 9 | 2005 |
| 1015 | | 179, 3 | 3712 |
| 1016 | | 176, 1 | 5054 |

Таблиця 11
Вплив N₆-замісника



| Сполука | R | A1 | |
|---------|---|------------------------------------|----------------------------------|
| | | Зв'язування K _i (нМ) | Дріжджі IC ₅₀ (нМ) |
| 1100 | | 9, 8 | 115, 4 |
| 1101 | | 53, 9 | 551, 0 |
| 1102 | | 10, 3 | 101, 3 |
| 1103 | | 71, 1 | 3217 |
| 1104 | | 6, 5 | 58, 7 |
| 1105 | | 105, 4 | 472, 1 |
| 1106 | | 27, 8 | 162, 4 |
| 1107 | | 126, 5 | 1297, 0 |
| 1108 | | 2, 3 | |
| 1109 | | 9, 0 | |
| 1110 | | 17, 3 | |
| 1111 | | 2, 5 | |
| 1112 | | 213 | |

Таблиця 12
«Ретро-амідні» аналоги



| Сполука | R | A1 | |
|---------|---|------------------------------------|-------------------------------|
| | | Зв'язування K _i (нМ) | Дріжджі IC ₅₀ (нМ) |
| 1200 | | 16,5 | 189,4 |
| 1201 | | 7,4 | 45,7 |
| 1202 | | 95,8 | 3345,0 |
| 1203 | | 529,1 | 4040,0 |
| 1204 | | 1060,0 | >10000 |
| 1205 | | 1272 | >10000 |
| 1206 | | 50,8 | 4028 |
| 1207 | | 48,5 | 701,5 |

Таблиця 13

Профіль селективних аденозинових антагоністів

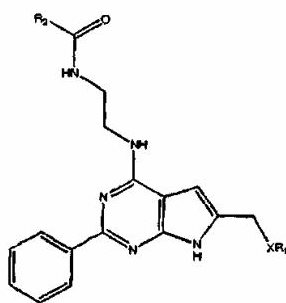
| | | Зв'язування K _i (нМ) | | | |
|-------------------|---|---------------------------------|---------------|-------|-------|
| Сполука | R | A1 | A2a | A2b | A3 |
| 1300 | | 9,8– 25,1 | 18,0– 48,6 | 80,3 | 513,0 |
| 1301 | | 27,8 | 50,7 | 84,6 | 429,8 |
| 1302 | | 20,2 | 75,6 | 20,1 | 4,3 |
| 1303 | | 17,4 | 111,3 | 120,6 | 44,6 |
| 1304 | | 13,9– 30,9 | 933,7 | 138,0 | 21,5 |
| 1305 ¹ | | 46,6 | 730,9 | 30% | 9,9 |

| | | | | | |
|---------------------|--|---------|----------|----------|------------------|
| 1306 ^c | | 16,4 | 766,3 | 168,3 | 71,7 |
| 1307 | | 29,1 | 190,6 | 1143,0 | 3,1 |
| 1308 | | 180 | 230 | 670 | 1,0 |
| 1309 | | 40 | 109 | 109 | 0,3 |
| 1310 | | 255 | 76% | 275 | ≤2,6 |
| 1311 | | 531 | 981 | 736 | 5,3 |
| 1312 | | 443 | 2965 | 375 | ≤6,2 |
| 1313 ² | | 30% | 65% | 515 | 24 |
| 1314 | | 87 | 204 | 30 | 0,02 |
| 1315 | | 75,000 | 720,000 | 3,400 | 507 |
| 1316 | | 333 | 710,000 | 710,000 | 97 |
| 1317 | | 710,000 | 710,000 | 720,000 | 369 |
| 1318 ^a | | 3,7±0,5 | 630±56,4 | 2307±926 | 630±76 |
| 1319 ^{a,5} | | 1,8 | 206 | 602 | 270 |
| 1320 ^{a,6} | | 8,0 | 531 | 530 | 419 |
| 1321 ^{a,7} | | 8,0 | 131 | 1031 | 54% ⁸ |

^a2-тієніл-2-іл; ²C₅-H; ³водорозчинний; ⁴R₅ і R₆ являють собою водень; ⁵R₃ являє собою 3-фторфеніл; ⁶R₆ являє собою 3-хлорфеніл; ⁷R₃ являє собою 4-піридил; ⁸% активність @ 10мкМ

Таблиця 14

Профіль селективності A_{2b} антагоністів



| Сполука | XR ₁ | R ₂ | Дані зв'язування K _i | | | | (нМ) |
|---------|-----------------|----------------|---------------------------------|-----------------|-----------------|----------------|------|
| | | | A ₁ | A _{2a} | A _{2b} | A ₃ | |
| 1400 | -O-Ph | Me | 41,7 | 21 | 10,3 | 14,6 | |
| 1401 | -O-Ph(p)F | Me | 33 | 58 | 8,8 | 18 | |
| 1402 | -O-Ph(p)Cl | Me | 825 | 591 | 22 | 60 | |
| 1403 | -N-піридин-2-он | Me | 60 | 41 | 18 | 48 | |
| 1404 | -NH-Ph | Me | 49 | 31 | 4,6 | | |

Таблиця 15

Сполуки, селективні до A₁-аденозинового рецептора

* принаймні в 10 разів більш селективний, ніж інші три підтипи

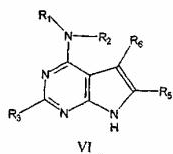
| Сполука | Структура | K _i -A ₁ | Відповідний K _i -A _{2a} | Відповідний K _i -A _{2b} | Відповідний K _i -A ₃ |
|---------|-----------|--------------------------------|---|---|--|
| 706 | | * | | | |
| 1318 | | * | | | |
| 1319 | | * | | | |
| 1318 | | * | | | |
| 1319 | | * | | | |
| 1320 | | * | | | |
| 1500 | | * | | | |
| 1321 | | * | | | |

| | | | | | |
|------|--|---|--|--|--|
| 1320 | | * | | | |
| 1500 | | * | | | |
| 1321 | | * | | | |
| 1501 | | * | | | |
| 1502 | | * | | | |
| 1503 | | * | | | |
| 1504 | | * | | | |

Сторінки 142-159 відносяться до сполук, специфічних до A_{2a} рецептора

Даний винахід також відноситься до сполук, які селективно зв'язуються з A_{2a}-аденозиновим рецептором, виліковуючи таким чином захворювання, пов'язане з A_{2a}-аденозиновим рецептором, у суб'єкта при введенні суб'єкту терапевтично ефективної кількості таких сполук. Захворювання, що піддається лікуванню, пов'язане, наприклад, із захворюванням центральної нервової системи, серцево-судинним захворюванням, нирковим захворюванням, запальним захворюванням, шлунково-кишковим захворюванням, очним захворюванням, алергічним захворюванням або захворюванням дихальних шляхів.

Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:



де NR₁R₂ являє собою заміщене або незаміщене 4-8-членне кільце;

де R₃ являє собою заміщене або незаміщене чотирьох-шестичленне кільце;

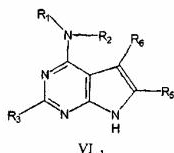
де R₅ являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, арил, арилалкіл, аміно, заміщений арил, де вказаний заміщений алкіл являє собою C(R₇)(R₈)XR₉, де X являє собою O, S або NR₁₀, де кожний з R₇ і R₈ незалежно являє собою N або алкіл, де кожний з R₉ і R₁₀ незалежно являє собою алкіл або циклоалкіл, або R₉, R₁₀ і азот разом утворюють заміщене або незаміщене кільце, що містить від 4 до 7 членів;

де R₆ являє собою H, алкіл, заміщений алкіл або циклоалкіл;

за умови, що NR₁R₂ не є 3-ацетамідопіперидино, 3-гідроксипіролідіно, 3-метоксикарбонілметилпіролідіно, 3-амінокарбонілметил або піролідіно; за умови, що NR₁R₂ являє собою 3-гідроксиметилпіперидино тільки в тому випадку, якщо R₃ являє собою 4-піридил.

Даний винахід також відноситься до способу інгібування активності A_{2a} аденозинового рецептора в клітині, який включає контактування вказаної клітини з вищезгаданими сполуками.

Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:



де NR_1R_2 являє собою заміщене або незаміщене 4-8-членне кільце;

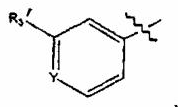
де R_3 являє собою заміщене або незаміщене чотирьох-шестичленне кільце;

де R_5 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, арил, арилалкіл, аміно, заміщений арил, де вказаний заміщений алкіл являє собою $-C(R_7)(R_8)XR_9$, де X являє собою O, S або NR_{10} , де кожний з R_7 і R_8 незалежно являє собою N або алкіл, де кожний з R_9 і R_{10} незалежно являє собою алкіл або циклоалкіл, або R_9 , R_{10} і азот разом утворюють заміщене або незаміщене кільце, що містить від 4 до 7 членів;

де R_6 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл або циклоалкіл;

за умови, що NR_1R_2 не є 3-ацетамідопіперидино, 3-гідроксипіролідіно, 3-метоксикарбонілметилпіролідіно, 3-амінокарбонілметил або піролідіно; за умови, що NR_1R_2 являє собою 3-гідроксиметилпіперидино тільки в тому випадку, якщо R_3 являє собою 4-піридил.

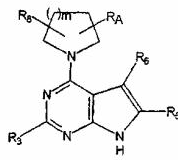
В одному варіанті здійснення сполуки R_3 являє собою заміщене або незаміщене чотирьох-шестичленне кільце, феніл, пірол, тіофен, фуран, тіазол, імідазол, піразол, 1,2,4-триазол, піридин, 2(1H)-піридон, 4(1H)-піридон, піразин, піримідин, піридазин, ізотіазол, ізоксазол, оксазол, тетразол, нафталін, тетралін, нафтиридин, бензофуран, бензотіофен, індол, 2,3-дигідроіндол, 1H-індол, індолін, бензопіразол, 1,3-бензодіоксол, бензоксазол, пурин, кумарин, хромон, хінолін, тетрагідрохінолін, ізохінолін, бензімідазол, хіназолін, піридо[2,3-b]піразин, піридо[3,4-b]піразин, піридо[3,2-c]піридазин, піридо[3,4-b]піридин, 1H-піразол[3,4-d]тримідин, птеридин, 2(1H)-хінолон, 1(2H)-ізохінолон, 1,4-бензізоксазин, бензотіазол, хіноксалін, хінолін-N-оксид, ізохінолін-N-оксид, хіноксалін-N-оксид, хіназолін-N-оксид, бензоксазин, фталазин, цинолін, або має структуру:



де Y являє собою вуглець або азот;

де R_3' являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений арил, галоген, метокси, метиламіно, метилтіо.

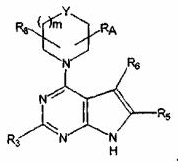
В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



де m дорівнює 1 або 2; де R_A і R_B , кожний, незалежно являє собою H, -OH, -CH₂OH, -CH₂CH₂OH, -C(=O)NH₂, гетероатом або -C(=O)NR₁₁R_{11'}; де R_{11} являє собою арил, заміщений арил, або гетероарил; де R_{11}' являє собою алкіл або XR₁₁, де X являє собою O або N, і R_{11} являє собою заміщений алкіл або арил.

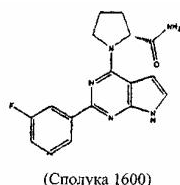
В іншому варіанті здійснення сполуки R_1R_2N являє собою (D)-2-амінокарбонілпіролідіно, (D)-2-гідроксиметилпіролідіно, (D)-2-гідроксиметил-транс-4-гідроксипіролідіно, піперазино або 3-гідроксиметилпіперидино.

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

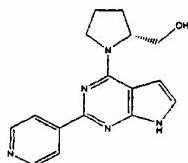


де m дорівнює 0, 1, 2 або 3; де Y являє собою O, S або NR, де R являє собою R_A або R_B ; де R_A і R_B кожний незалежно являє собою H, -OH, -CH₂OH, -CH₂CH₂OH, -C(=O)NH₂, гетероатом або -C(=O)NR₁₁R_{11'}; де R_{11} являє собою арил, заміщений арил, або гетероарил; де R_{11}' являє собою алкіл або XR₁₁, де X являє собою O або N, і R_{11} являє собою заміщений алкіл або арил.

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

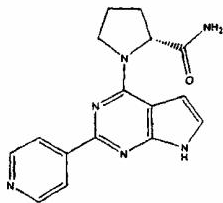


В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



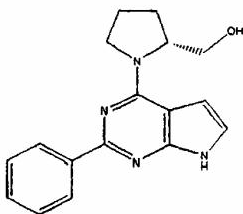
(Сполука 1601)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



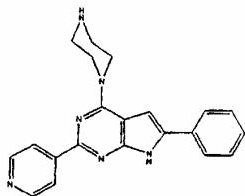
(Сполука 1602)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



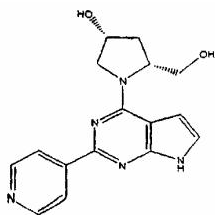
(Сполука 1603)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



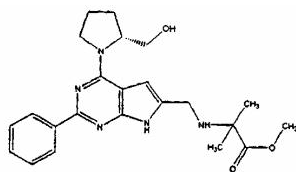
(Сполука 1604)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



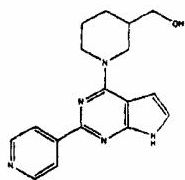
(Сполука 1605)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



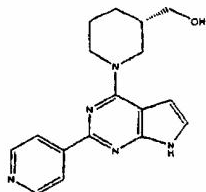
(Сполука 1606)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

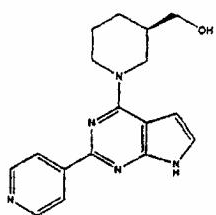


(Сполука 1607)

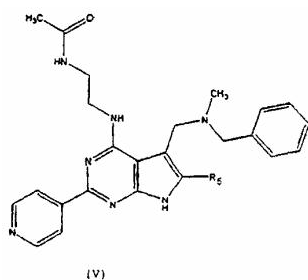
Ще в одному варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



У наступному варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



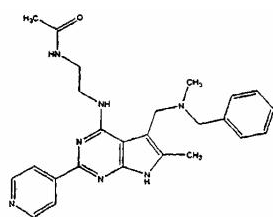
Даний винахід додатково відноситься до сполуки, що має структуру (V):



(V)

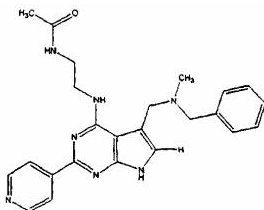
де R₅ являє собою H або метил.

У одному варіанті здійснення сполуки V, сполука має структуру:



(Сполука 1608)

В іншому варіанті здійснення сполуки V, сполука має структуру:



Даний винахід також відноситься до способу лікування захворювання, пов'язаного з A_{2a} аденозиновим рецептором, у суб'єкта, який включає введення суб'єкту терапевтично ефективної кількості будь-якої зі сполук IV або V.

В одному варіанті здійснення способу сполука виліковує вказані захворювання шляхом стимулювання аденілатциклази.

В іншому варіанті здійснення способу суб'єкт являє собою ссавця.

В іншому варіанті здійснення способу ссавець є людиною.

В іншому варіанті здійснення способу вказаний A_{2a} аденозиновий рецептор пов'язаний з хворобою Паркінсона і захворюваннями, пов'язаними з руховою активністю, розширенням судин, інгібуванням тромбоцитів, нейтрофільним генеруванням супероксиду, порушенням здатності до пізнання або старечим недоумством.

Захворювання, пов'язані з $A1$, $A2a$, $A2b$ і $A3$ аденозиновими рецепторами, описані у WO 99/06053 і WO-09822465, WO-09705138, WO-09511681, WO-09733879, JP-09291089, PCT/US98/16053 і патенті США №5516894, повний зміст яких у всій своїй повноті включений в даний опис як посилання.

Даний винахід також відноситься до водорозчинних проліків сполук IV або V, де вказані водорозчинні проліки метаболізують *in vivo* до активного лікарського засобу, який селективно інгібує A_{2a} аденозиновий рецептор.

В одному варіанті здійснення проліків вказані проліки метаболізують *in vivo* за допомогою каталізованого естеразою гідролізу.

Даний винахід також відноситься до фармацевтичної композиції, що включає проліки і фармацевтично прийнятний носій.

Даний винахід також відноситься до способу інгібування активності A_{2a} аденозинового рецептора в клітині, який включає контактування клітини зі сполукою IV або V.

В одному варіанті здійснення способу сполука є антагоністом вказаного A_{2a} аденозинового рецептора.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана фармацевтична композиція являє собою офтальмологічний препарат.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана фармацевтична композиція являє собою препарат для періокулярної, ретробульбарної або внутрішньоочної ін'єкції.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана фармацевтична композиція являє собою системний препарат.

Даний винахід також відноситься до способу лікування шлунково-кишкового захворювання у суб'єкта, що включає введення ефективної кількості сполук IV або V.

В одному варіанті здійснення способу вказане захворювання являє собою діарею.

В іншому варіанті здійснення способу суб'єкт є людиною.

В іншому варіанті здійснення способу сполука є антагоністом A_{2a} аденозинових рецепторів.

Даний винахід крім того відноситься до способу лікування захворювання дихальних шляхів у суб'єкта, який включає введення суб'єкта ефективної кількості сполуки IV або V.

В одному варіанті здійснення способу вказане захворювання являє собою астму, хронічне обструктивне захворювання легень, алергічний риніт або захворювання верхніх дихальних шляхів.

В іншому варіанті здійснення способу суб'єкт є людиною.

В іншому варіанті здійснення способу сполука є антагоністом A_{2a} аденозинових рецепторів.

Даний винахід також відноситься до способу лікування пошкодження ока у суб'єкта, який включає введення вказаному суб'єкту ефективної кількості сполуки IV або V.

В одному варіанті здійснення способу вказане пошкодження включає пошкодження сітківки або зорового головного нерва.

В іншому варіанті здійснення способу вказане пошкодження є гострим або хронічним.

В іншому варіанті здійснення способу вказане пошкодження є результатом глаукоми, набряку, ішемії, гіпоксії або травми.

В іншому варіанті здійснення способу суб'єкт є людиною.

В іншому варіанті здійснення способу сполука є антагоністом A_{2a} аденозинових рецепторів.

Даний винахід також відноситься до фармацевтичної композиції, що включає терапевтично ефективну кількість сполук IV або V і фармацевтично прийнятний носій.

В одному варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана терапевтично ефективна кількість є ефективною для лікування хвороби Паркінсона і захворювань, пов'язаних з руховою активністю, розширенням судин, інгібуванням тромбоцитів, нейтрофільним генеруванням супероксиду, порушенням здатності до пізнання або старечим недоумством.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана фармацевтична композиція являє собою офтальмологічний препарат.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана фармацевтична композиція являє собою препарат для періокулярної, ретробульбарної або внутрішньоочної ін'єкції.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана фармацевтична композиція являє собою системний препарат.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана фармацевтична композиція являє собою хірургічний зрошувальний розчин.

Даний винахід також відноситься до комбінованої терапії хвороби Паркінсона, що включає сполуку IV або V і будь-який з допамінових підсилювальних агентів.

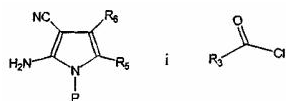
Даний винахід також відноситься до комбінованої терапії раку, що включає сполуку IV або V і будь-який з цитотоксичних агентів.

Даний винахід також відноситься до комбінованої терапії глаукоми, що включає сполуку IV або V і агоніст простагландину, мускариновий агоніст або β -2 антагоніст.

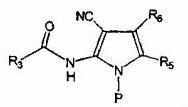
Даний винахід також відноситься до упакованої фармацевтичної композиції для лікування у суб'єкта захворювання, пов'язаного з A_{2a} аденозиновим рецептором, що включає: (a) контейнер, що містить терапевтично ефективну кількість сполук IV або V; і (b) інструкції для використання вказаної сполуки для лікування вказаного захворювання у суб'єкта.

Даний винахід також відноситься до способу одержання сполуки IV, що включає стадії

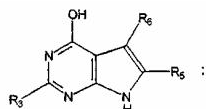
a) взаємодії



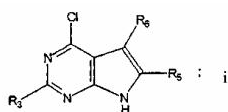
з одержанням



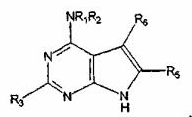
де Р являє собою захисну групу, що видаляється;
b) обробки продукту стадії a) в умовах циклізації з одержанням



с) обробки продукту стадії b) у відповідних умовах з одержанням



d) обробки хлорованого продукту стадії c) NHR_1R_2 з одержанням



де NR_1R_2 являє собою заміщене або незаміщене 4-8 членне кільце;

де R_3 являє собою заміщене або незаміщене чотирьох-шестичленне кільце;

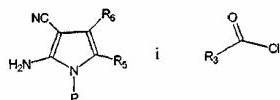
де R_5 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, арил, ариалкіл, аміно, заміщений арил, де вказаний заміщений алкіл являє собою $\text{-C(R}_7\text{)(R}_8\text{)XR}_9$, де X являє собою O, S або NR_{10} , де кожний з R_7 і R_8 незалежно являє собою N або алкіл, де кожний з R_9 і R_{10} незалежно являє собою алкіл або циклоалкіл, або R_9 , R_{10} і атом азоту разом утворюють кільцеву систему з 4-7 членів;

де R_6 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл або циклоалкіл;

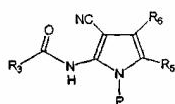
за умови, що NR_1R_2 не є 3-ацетамідопіридино, 3-гідроксипіролідино, 3-метоксикарбонілметилпіролідино, 3-амінокарбонілметил або піролідино; за умови, що NR_1R_2 являє собою 3-гідроксиметилпіридино тільки в тому випадку, якщо R_3 являє собою 4-піридил.

Даний винахід також відноситься до способу одержання сполуки V, що включає стадії

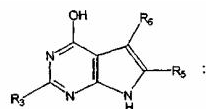
a) взаємодії



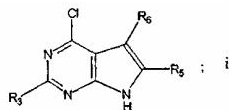
з одержанням



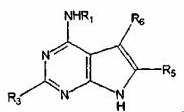
де Р являє собою захисну групу, що видаляється;
b) обробки продукту стадії a) в умовах циклізації з одержанням



с) обробки продукту стадії b) у відповідних умовах з одержанням



d) обробки хлорованого продукту стадії c) спочатку диметиламіном і формальдегідом, потім N-метилбензиламіном і, нарешті, NH_2R_1 з одержанням



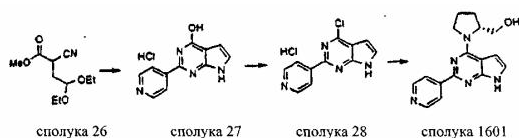
де R_1 являє собою ацетамідоетил; де R_3 являє собою 4-піридил, де R_5 являє собою N або метил; де R_6 являє собою N-метил-N-бензиламінометил.

Як використано в даному описі вираз «сполука є A_{2a} селективною» означає, що сполука має константу зв'язування з A_{2a} аденозиновим рецептором, яка принаймні в десять разів перевищує константу для A_1 , A_{2b} або A_3 аденозинових рецепторів.

Даний винахід додатково проілюстрований наступними прикладами, які жодним чином не треба розглядати як такі, що є додатковими обмеженнями. Зміст всіх посилань, які чекають рішення заявок на патенти і опублікованих заявок на патенти, процитованих в даній заявці, включаючи процитовані в розділі «Передумови створення винаходу», включений в даний опис як посилання. Потрібно розуміти, що моделі, використані в прикладах, є загальноприйнятими моделями, і демонстрування ефективності на даних моделях передбачає ефективність на людях.

Даний винахід буде краще зрозумілий із експериментальних подробиць, що йдуть далі. Однак, фахівець в даній області легко зрозуміє, що конкретні способи і результати, що обговорюються, є тільки ілюстрацією винаходу, як описано більш детально у формулі винаходу, яка йде далі.

Приклад 22: Синтез антагоністів A_{2a} аденозину, сполук 1601, 1602 і 1603.



Сполуку 26 (10,93г, 50,76ммоль) розчиняли у ДМФ (67мл). Послідовно додавали гідрохлорид 4-амінопіридину (8,0г, 50,76ммоль) і ДБУ (15,4г, 101,5ммоль) і реакційну суміш нагрівали до 85°C . Через 22 години реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і ДМФ видаляли у вакуумі. Темне масло розбавляли 2М HCl (80мл). Реакційну суміш залишали для проходження реакції. Через 2 години розчин охолоджували до 10°C і фільтрували. Тверду речовину промивали холодною водою і сушили, одержуючи 7,40г жовтої твердої речовини, сполука 27 (69%). ^1H -ЯМР (200МГц, d_6 -ДМСО) δ 6,58 (с, 1H), 7,27 (с, 1H), 8,53 (д, 2H, $J=5,6\text{Гц}$), 9,00 (д, 2H, $J=5,2\text{Гц}$), 12,35 (ушир.с, 1H). Мас-спектр (ES): 212,8 (M^++1).

Сполуку 27 (7,4ммоль, 29,8ммоль) розбавляли POCl_3 і нагрівали до 105°C . Через 18 годин реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури і POCl_3 видаляють у вакуумі. Густе темне масло розбавляють MeOH (75мл) з подальшим додаванням ефіру (120мл). Аморфну червону тверду речовину відфільтровують і промивають ефіром, одержуючи 3,82г червоної твердої речовини. Неочищена тверда речовина, сполука 28, має приблизно 80%-ну чистоту і використовується без додаткового очищення у наступній реакції. ^1H -ЯМР (200МГц, d_6 -ДМСО) δ 6,58 (с, 1H), 7,27 (с, 1H), 8,53 (д, 2H, $J=5,6\text{Гц}$), 9,00 (д, 2H, $J=5,2\text{Гц}$), 12,35 (ушир.с, 1H). Мас-спектр (ES): 212,8 (M^++1).

Сполука 1601: ДМСО (5мл) і D-пролінол (500мг, 4,94ммоль) додавали до сполуки 28 (500мг, 2,17ммоль). Реакційну суміш нагрівали до 120°C . Через 18 годин реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і розбавляли EtOAc і H_2O . Шари розділяли і водний шар екстрагували EtOAc (2х). Об'єднані органічні шари промивали H_2O (2х), насиченим розчином солі, сушили над MgSO_4 , фільтрували і концентрували, одержуючи 200мг золотисто-коричневої твердої речовини. Тверду речовину перекристалізовували з EtOAc , одержуючи 82мг золотисто-жовтої твердої речовини. ^1H -ЯМР (200МГц, d_6 -ДМСО) δ 2,05 (м, 4H), 3,43 (м, 1H), 3,70-4,00 (м, 3H), 4,50 (ушир.с, 1H), 4,92 (ушир.с, 1H), 6,62 (м, 1H), 7,22 (м, 1H), 8,22 (д, 2H, $J=6,0\text{Гц}$), 6,64 (д, 2H, $J=6,2\text{Гц}$); Мас-спектр (ES) 296,0 (M^++1), т.пл.= 210 - 220°C (розкладання).

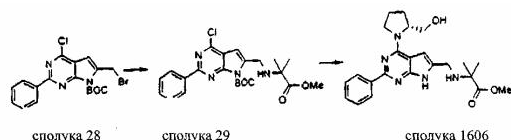
Сполука 1602: Хроматографія (діоксид кремнію, 9:1, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) давала 10мг золотисто-коричневої твердої речовини (2%). ^1H -ЯМР (200МГц, d_6 -ДМСО) δ 2,00-2,50 (м, 4H), 4,05 (м, 1H), 4,21 (м, 1H), 6,71 (д, 1H, $J=3,2\text{Гц}$), 7,18 (д, 1H, $J=3,2\text{Гц}$), 8,37 (д, 2H, $J=4,8\text{Гц}$), 8,56 (д, 2H, $J=5,0\text{Гц}$). Мас-спектр (ES): 309,1 (M^++1).

Сполука 1603: Хроматографія (діоксид кремнію, 20:1, гексани/ EtOAc) давала 135мг золотисто-коричневої твердої речовини (53%). ^1H -ЯМР (200МГц, d_6 -ДМСО) δ 2,00-2,50 (м, 4H), 4,05 (м, 1H), 4,21 (м, 1H), 6,71 (д, 1H, $J=3,2\text{Гц}$), 7,18 (д, 1H, $J=3,2\text{Гц}$), 8,37 (д, 2H, $J=4,8\text{Гц}$), 8,56 (д, 2H, $J=5,0\text{Гц}$). Мас-спектр (ES): 309,1 (M^++1).

Сполука 1605: У круглодонній колбі ємністю 50мл розчиняли 60мг HCl солі 2-(4'-піридил)-4-хлорпіримідинопіролу в 2мл безводного ДМСО. До розчину додавали сіль трифтороцтової кислоти 3-(R)-гідрокси-(D)-пролінолу (380мг) і 500мг бікарбонату натрію. Потім суміш продували током газоподібного азоту протягом 5 хвилин і нагрівали до 130°C . Через 2 години реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і ДМСО видаляли у вакуумі. Залишок розподіляли між EtOAc (15мл) і насиченим водним розчином бікарбонату натрію (15мл). Органічний шар відділяли і промивали насиченим розчином солі (15мл) і сушили над Na_2SO_4 . Після видалення розчинника неочищений продукт очищали препаративною

ТШХ (CH₂Cl₂/MeOH=95/5), одержуючи 35мг (50%). ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) 2,3-2,5 (1H), 3,4-3,8 (3H), 4,4-4,6 (2H), 6,4 (1H), 7,1 (1H), 8,2 (д, 2H), 8,7 (д, 2H), 11,0 (1H). Мас-спектр (ES): 312 (M⁺+1).

Приклад 23: Синтез антагоніста A_{2a} аденозину, сполука 1606.



Сполуку 28 (200мг) обробляли ДМФ (30мл), метиловим ефіром 2,2-диметилгліцину (73мг HCl солі в 2мл води) і 500мг бікарбонату натрію. Через 18 годин ДМФ видаляли у вакуумі. Залишок розподіляли між EtOAc (30мл) і насиченим водним розчином бікарбонату натрію (15мл). Органічний шар промивали насиченим розчином солі (15мл), сушили над сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Хроматографія (діоксид кремнію, 10:4, гексани/EtOAc) давала 150мг чистого продукту, сполука 29 (69%). ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) 1,4 (с, 6H); 3,8 (с, 3H); 3,9 (с, 2H); 6,4 (с, 1H); 7,4-7,5 (м, 3H); 8,4 (м, 2H); 9,8 (с, 1H).

Сполука 1606: Спосіб одержання такий же, як для сполуки 1605 (72%). ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) 1,3 (с, 6H), 1,7-1,9 (м, 2H); 2,05-2,30 (м, 2H); 3,6-4,1 (м, 11H); 4,80-4,95 (м, 1H); 6,4 (с, 1H); 7,4-7,6 (м, 3H); 8,3-8,4 (д, J=8,5Гц, 2H), 10 (с, 1H). Мас-спектр (ES): 424,0 (M⁺+1).

Наступні сполуки можуть бути синтезовані аналогічним чином.

Сполука 1600: (51%) Мас-спектр (ES) 326,0 (M⁺+1).

Сполука 1607: ¹H-ЯМР (200МГц, CDCl₃) 1,40-1,80 (м, 5H), 2,80-3,50 (м, 3H), 4,60-4,80 (м, 3H), 6,66 (д, 1H, J=6,2Гц), 7,26 (м, 1H), 8,21 (д, 2H, J=6,3Гц), 8,65 (д, 2H, J=5,8Гц), 11,90 (с, 1H). MS (ES): 310,1 (M⁺+1).

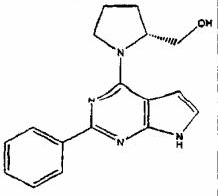
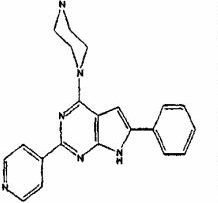
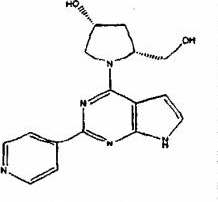
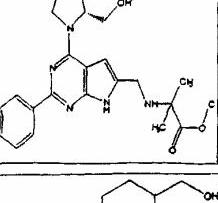
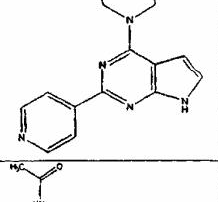
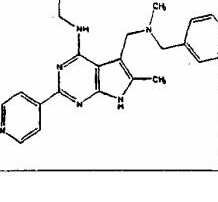
Сполука 1608: (64%) ¹H-ЯМР (200МГц, d₆-DMCO) 1,75 (с, 3H), 2,11 (с, 3H), 2,29 (с, 3H), 3,56 (м, 6H), 7,23-7,41 (м, 5H), 8,00 (ушир.с, 1H), 8,23 (д, 2H, J=6,0Гц), 8,63 (д, 2H, J=5,4Гц), 8,82 (ушир.с, 1H), 11,56 (ушир.с, 1H). Мас-спектр (ES): 444,0 (M⁺+1).

Сполука 1609: ¹H-ЯМР (200МГц, CD₃OD) 3,40 (м, 4H), 4,29 (м, 4H), 6,99 (с, 1H), 7,5-7,2 (м, 3H), 7,90 (д, 2H), 8,39 (д, 2H), 8,61 (д, 2H). MS (ES): 357,0 (M⁺+1).

Таблиця 16

Сполуки, селективні до A_{2a}-аденозинового рецептора

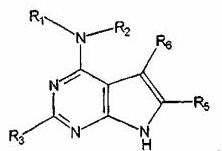
| * принаймні в 5 разів більш селективний, ніж інші три підтипи | | | | | |
|---|-----------|--|---------------------------------|---|--|
| Сполука | Структура | Відповідний K _i -A ₁ | K _i -A _{2a} | Відповідний K _i -A _{2b} | Відповідний K _i -A ₃ |
| 1600 | | | * | | |
| 1601 | | | * | | |
| 1602 | | | * | | |

| | | | | | | |
|------|---|--|---|--|--|--|
| 1603 |  | | * | | | |
| 1604 |  | | * | | | |
| 1605 |  | | * | | | |
| 1606 |  | | * | | | |
| 1607 |  | | * | | | |
| 1608 |  | | * | | | |

Сторінки 160-199 відносяться до сполук, специфічних до А₃ рецептора

Даний винахід також оснований на сполуках, які селективно зв'язуються з А₃ аденозиновим рецептором, таким чином сприяючи лікуванню захворювання, пов'язаного з А₃ аденозиновим рецептором у суб'єкта шляхом введення суб'єкту терапевтично ефективної кількості таких сполук. Захворювання, що піддається лікуванню, відноситься, наприклад, до астми, гіперчутливості, риніту, сінної лихоманки, сироваткової хвороби, алергічного васкуліту, atopічного дерматиту, дерматиту, псоріазу, екземи, ідіопатичного фіброзу легень, еозинофільного холециститу, хронічного захворювання дихальних шляхів, гіпереозинофільних синдромів, еозинофільного гастроентериту, набряку, кропивниці, еозинофільного захворювання міокарда, періодичного ангіоневротичного набряку з еозинофілією, запального захворювання кишечника, виразкового коліту, алергічного грануломатозу, карциноматозу, еозинофільної гранульоми, спадкового гістіоцитозу, гіпертензії, дегрануляції тучних клітин, пухлини, серцевої гіпоксії, церебральної ішемії, діурезу, ниркової недостатності, неврологічного захворювання, психічного порушення, порушення здатності до пізнання, ішемії міокарда, бронхостенозу, артриту, аутоімунного захворювання, хвороби Крона, хвороби Граве, діабету, розсіяного склерозу, анемії, псоріазу, порушень здатності відтворення потомства, системного червоного вовчка, реперфузійного пошкодження, діаметру артеріол мозку, вивільнення алергічних медіаторів, склеродерми, інсульту, загальної ішемії, порушення центральної нервової системи, серцево-судинного захворювання, ниркового захворювання, запального захворювання, шлунково-кишкового захворювання, очного захворювання, алергічного захворювання, захворювання дихальних шляхів або імунологічного захворювання.

Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:



де R_1 являє собою H, і R_2 являє собою циклопропілметиламінокарбонілетил, цис-3-гідроксициклопентил, ацетамідобутил, метиламінокарбоніламінобутил, етиламінокарбоніламінопропіл, метиламінокарбоніламінопропіл, 2-ацетиламіно-3-метилбутил, N,N-діетиламінокарбоніламіноетил, тіоацетамідоетил, 3-аміноацетилоксициклопентил, 3-гідроксициклопентил, 2-піролілкарбоніламіноетил, 2-імідазолідиноетил, 1-амінокарбоніл-2-метилпропіл, 1-амінокарбоніл-2-фенілетил, 3-гідроксіазетидино, 2-імідазолілетил, ацетамідоетил, 1-(R)-феніл-2-гідроксіетил, N-метиламінокарбонілпіридил-2-метил, або R_1 , R_2 і азот разом являють собою 3-ацетамідопіперидино, 3-гідроксіпіролідіно, 3-метилоксикарбонілметилпіролідіно, 3-амінокарбонілметилпіролідіно або 3-гідроксиметилпіперидино,

де R_3 являє собою заміщене або незаміщене чотирьох-шести членне кільце, пірол, тіофен, фуран, тіазол, імідазол, піразол, 1,2,4-триазол, піридин, 2(1H)-піридон, 4(1H)-піридон, піразин, піримідин, піридазин, ізотіазол, ізоксазол, оксазол, тетразол, нафталін, тетралін, нафтиридин, бензофуран, бензотіофен, індол, 2,3-дигідроіндол, 1H-індол, індолін, бензопіразол, 1,3-бензодіоксол, бензоксазол, пурин, кумарин, хромон, хінолін, тетрагідрохінолін, ізохінолін, бензімідазол, хіназолін, піридо[2,3-b]піразин, піридо[3,4-b]піразин, піридо[3,2-e]піридазин, піридо[3,4-b]піридин, 1H-піразол[3,4-d]піримідин, птеридин, 2(1H)-хінолон, 1(2H)-ізохінолон, 1,4-бензізоксазин, бензотіазол, фталазин або цинолін,

де R_5 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, арил або заміщений арил,

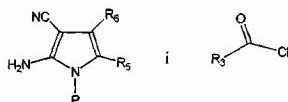
де R_6 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл або циклоалкіл.

Даний винахід також відноситься до способу інгібування активності A_3 аденозинового рецептора в клітині, який включає контактування клітини з вищезгаданими сполуками.

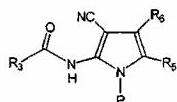
Типові схеми синтезу для одержання проміжних сполук дезазапурина за винаходом представлені у загальних рисах нижче на схемі I.

Даний винахід також відноситься до способу одержання сполуки IV, що включає стадії

а) взаємодії

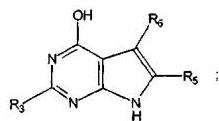


з одержанням

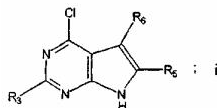


де P являє собою захисну групу, що видаляється;

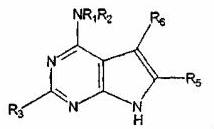
б) обробки продукту стадії а) в умовах циклізації з одержанням



с) обробки продукту зі стадії б) у відповідних умовах з одержанням



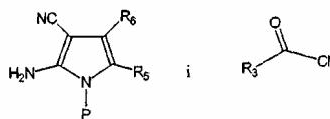
с) обробки хлорованого продукту стадії с) NHR_1R_2 з одержанням



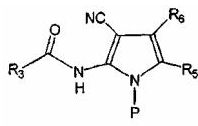
де R_1 являє собою H, і R_2 являє собою циклопропілметиламінокарбонілетил, цис-3-гідроксициклопентил, ацетамідобутил, метиламінокарбоніламінобутил, етиламінокарбоніламінопропіл, метиламінокарбоніламінопропіл, 2-ацетиламіно-3-метилбутил, N,N-діетиламінокарбоніламіноетил, тіоацетамідоетил, 3-аміноацетилоксициклопентил, 3-гідроксициклопентил, 2-піролілкарбоніламіноетил, 2-імідазолідиноетил, 1-амінокарбоніл-2-метилпропіл, 1-амінокарбоніл-2-фенілетил, 3-гідроксіазетидино, 2-

імідазолілетил, ацетамідоетил, 1-(R)-феніл-2-гідроксіетил, N-метиламінокарбонілпіридил-2-метил, або R₁ R₂ і азот разом являють собою 3-ацетамідопіперидино, 3-гідроксипіролідіно, 3-метилокскарбонілметилпіролідіно, 3-амінокарбонілметилпіролідіно або 3-гідроксиметилпіперидино, де R₃ являє собою заміщене або незаміщене чотирьох-шести членне кільце; де R₅ являє собою H, алкіл, заміщений алкіл або циклоалкіл; де R₆ являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, арил або заміщений арил. Даний винахід також відноситься до способу одержання сполуки V, що включає стадії

а) взаємодії

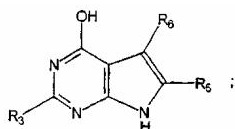


з одержанням

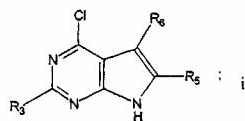


де Р являє собою захисну групу, що видаляється;

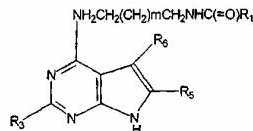
б) обробки продукту стадії а) в умовах циклізації з одержанням



с) обробки продукту зі стадії б) у відповідних умовах з одержанням



с) обробки хлорованого продукту стадії с) NH₂CH₂(CH₂)_mCH₂NHC(=O)R₁ з одержанням



де m дорівнює 0, 1 або 2;

де R₁ являє собою циклопропілметил, метил, метиламіно або амінометил;

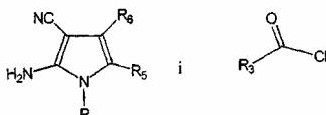
де R₃ являє собою арил, заміщений арил, гетероарил;

де R₅ являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, арил, арилалкіл, аміно, заміщений арил, де вказаний заміщений алкіл являє собою -C(R₇)(R₈)NR₉R₁₀, де кожний з R₇ і R₈ являє собою N або алкіл, де кожний з R₉ і R₁₀ являє собою алкіл або циклоалкіл, або R₉, R₁₀ і атом азоту разом утворюють кільцеву систему з 4-7 членів.

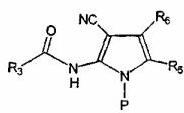
де R₆ являє собою N, алкіл, заміщений алкіл або циклоалкіл.

Даний винахід додатково відноситься до способу одержання сполуки VI, що включає

а) взаємодії

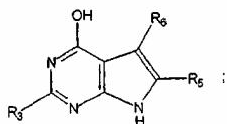


з одержанням

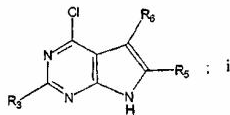


де Р являє собою захисну групу, що видаляється;

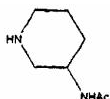
b) обробки продукту стадії а) в умовах циклізації з одержанням



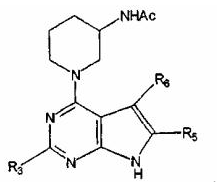
с) обробки продукту зі стадії b) у відповідних умовах з одержанням



d) обробки хлорованого продукту стадії с)



з одержанням

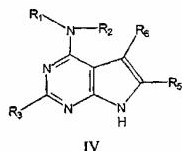


де R_3 являє собою незаміщений арил,

де R_6 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл або циклоалкіл;

де R_5 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, арил, арилалкіл, аміно, заміщений арил, де вказаний заміщений алкіл являє собою $-C(R_7)(R_8)NR_9R_{10}$, де кожний з R_7 і R_8 являє собою N або алкіл, де кожний з R_9 і R_{10} являє собою алкіл або циклоалкіл, або R_9 , R_{10} і атом азоту разом утворюють кільцеву систему з 4-7 членів.

Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:



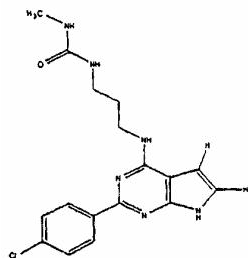
де R_1 являє собою H, і R_2 являє собою циклопропілметиламінокарбонілетил, цис-3-гідроксициклопентил, ацетамідобутил, метиламінокарбоніламінобутил, етиламінокарбоніламінопропіл, метиламінокарбоніламінопропіл, 2-ацетиламіно-3-метилбутил, N,N-діетиламінокарбоніламіноетил, тіоацетамідоетил, 3-аміноацетилоксициклопентил, 3-гідроксициклопентил, 2-піролілкарбоніламіноетил, 2-імідазолідиноетил, 1-амінокарбоніл-2-метилпропіл, 1-амінокарбоніл-2-фенілетил, 3-гідроксіазетидино, 2-імідазолілетил, ацетамідоетил, 1-(R)-феніл-2-гідроксіетил, N-метиламінокарбонілпіридил-2-метил, або R_1 R_2 і атом азоту разом являють собою 3-ацетамідопіперидино, 3-гідроксіпіролідино, 3-метилоксикарбонілметилпіролідино, 3-амінокарбонілметилпіролідино або 3-гідроксиметилпіперидино,

де R_3 являє собою заміщений або незаміщений бензол, пірол, тіофен, фуран, тіазол, імідазол, піразол, 1,2,4-тріазол, піридин, 2(1H)-піридон, 4(1H)-піридон, піразин, піримідин, піридазин, ізотіазол, ізоксазол, оксазол, тетразол, нафталін, тетралін, нафтиридин, бензофуран, бензотіофен, індол, 2,3-дигідроіндол, 1H-індол, індолін, бензопіразол, 1,3-бензодіоксол, бензоксазол, пурин, кумарин, хромон, хінолін, тетрагідрохінолін, ізохінолін, бензімідазол, хіназолін, піридо[2,3-b]піразин, піридо[3,4-b]піразин, піридо[3,2-c]піридазин, піридо[3,4-b]піридин, 1H-піразол[3,4-d]тримідин, птеридин, 2(1H)-хінолон, 1(2H)-ізохінолон, 1,4-бензізоксазин, бензотіазол, хіноксалін, хінолін-N-оксид, ізохінолін-N-оксид, хіноксалін-N-оксид, хіназолін-N-оксид, бензоксазин, фталазин або цинолін,

де R_5 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл, арил або заміщений арил;

де R_6 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл або циклоалкіл.

В одному варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

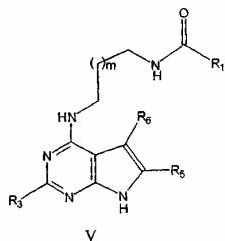


В іншому варіанті здійснення сполуки R_3 являє собою феніл.

В іншому варіанті здійснення сполуки R_6 являє собою водень або метил.

В іншому варіанті здійснення сполуки R_5 являє собою водень, метил, феніл, 3-хлорфенілоксиметил або транс-2-феніламінометилпіролідинометил.

Даний винахід далі відноситься до сполуки, що має структуру:



де m дорівнює 0, 1 або 2;

де R_1 являє собою циклопропілметил, метил, метиламіне або амінометил;

де R_3 являє собою арил, заміщений арил або гетероарил;

де R_5 являє собою Н, алкіл, заміщений алкіл, арил, арилалкіл, аміно, заміщений арил, де вказаний заміщений алкіл являє собою $-C(R_7)(R_8)NR_9R_{10}$, де кожний з R_7 і R_8 являє собою Н або алкіл, де кожний з R_9 і R_{10} являє собою алкіл або циклоалкіл, або R_9 , R_{10} і азот разом утворюють кільцеву систему, що містить від 4 до 7 членів;

де R_6 являє собою Н, алкіл, заміщений алкіл або циклоалкіл.

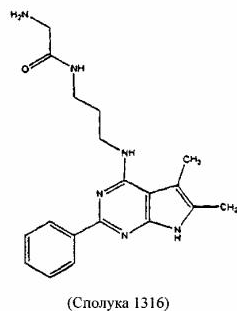
В одному варіанті здійснення сполуки V , m дорівнює 0, і R_3 являє собою феніл.

В іншому варіанті здійснення сполуки V , m дорівнює 1, і R_3 являє собою феніл.

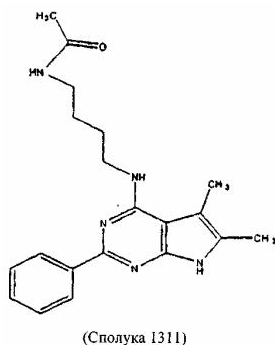
В іншому варіанті здійснення сполуки V , m дорівнює 2, і R_3 являє собою феніл.

В іншому варіанті здійснення сполуки V , R_5 і R_6 є метилами.

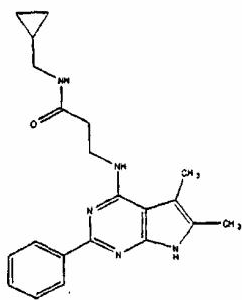
В іншому варіанті здійснення сполуки V , сполука має структуру:



В іншому варіанті здійснення сполуки V , сполука має структуру:

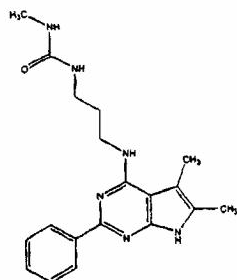


В іншому варіанті здійснення сполуки V , сполука має структуру:



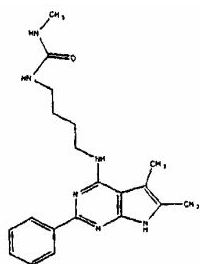
(Сполука 1202)

В іншому варіанті здійснення сполуки V, сполука має структуру:



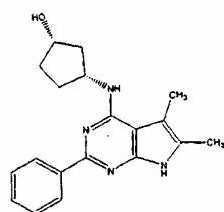
(Сполука 1310)

В іншому варіанті здійснення сполуки V, сполука має структуру:



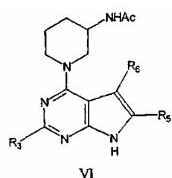
(Сполука 1312)

Винахід далі відноситься до сполуки, що має структуру:



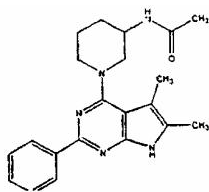
(Сполука 609)

Винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:



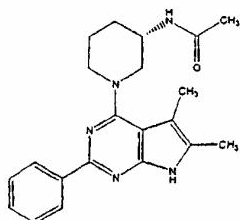
де R_3 являє собою незаміщений арил;
 де R_6 являє собою H, алкіл, заміщений алкіл або циклоалкіл;
 де R_5 являє собою N, алкіл, заміщений алкіл, арил, арилалкіл, аміно, заміщений арил, де вказаний заміщений алкіл являє собою $-C(R_7)(R_8)NR_9R_{10}$, де кожний з R_7 і R_8 являє собою N або алкіл, де кожний з R_9 і R_{10} являє собою алкіл або циклоалкіл, або R_9 , R_{10} і азот разом утворюють кільцеву систему, що містить від 4 до 7 членів.

В одному варіанті здійснення сполуки VI, сполука має структуру:

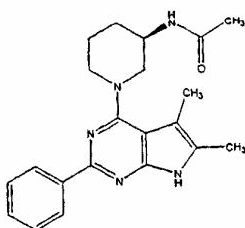


(Сполука 1309)

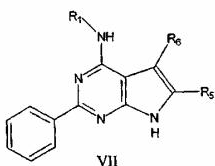
У одному варіанті здійснення сполуки 1309, сполука має структуру:



В іншому варіанті здійснення сполуки 1309, сполука має структуру:



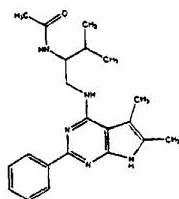
Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:



де R_1 являє собою 3-гідроксициклопентилетиламінокарбоніламіно, N,N-діетиламінокарбоніламіноетил, тіоацетамідоетил, 3-аміноацетилоксициклопентил, 3-гідроксициклопентил, 2-піролілкарбоніламіноетил, 2-імідазолідионетил, 1-амінокарбоніл-2-метилпропіл, 1-амінокарбоніл-2-фенілетил, 3-гідроксіазетидино, 2-імідазолілетил, ацетамідоетил, 1-(R)-феніл-2-гідроксидетил або N-метиламінокарбонілпіридил-2-метил;

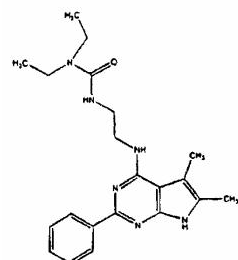
де R_5 і R_6 незалежно являють собою H, заміщений або незаміщений алкіл або арил.

В одному варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



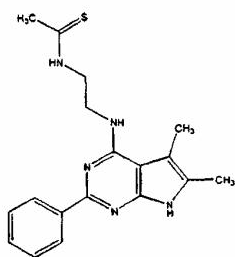
(Сполука 1700)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



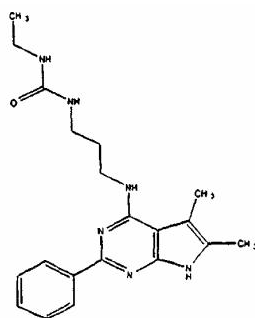
(Сполука 1701)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



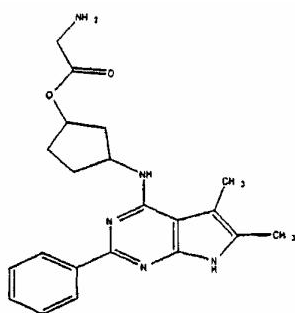
(Сполука 1702)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



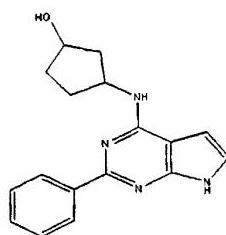
(Сполука 1704)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



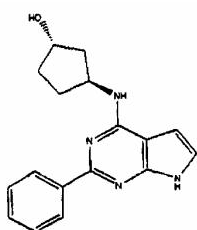
(Сполука 1705)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

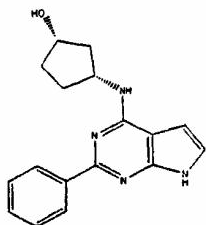


(Сполука 1706)

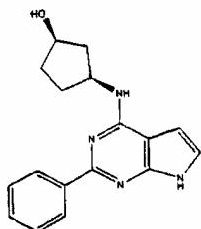
В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



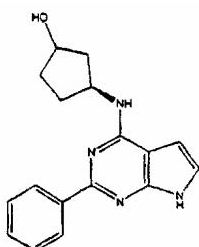
В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



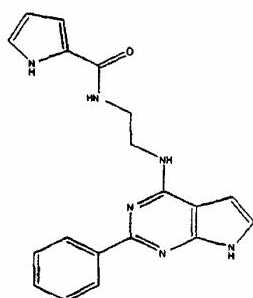
В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

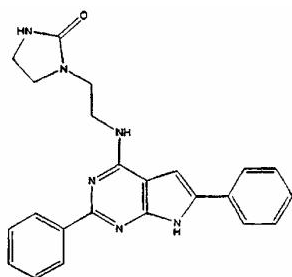


В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



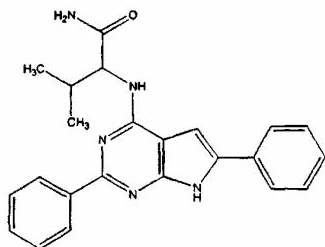
(Сполука 1707)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



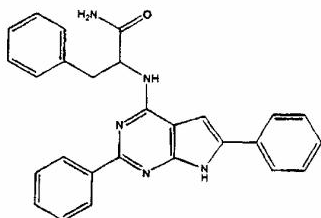
(Сполука 1708)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



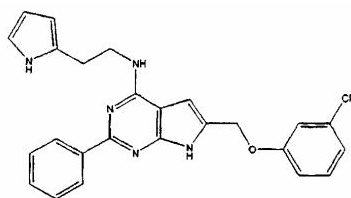
(Сполука 1709)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



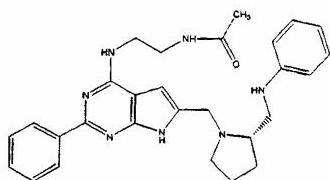
(Сполука 1710)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



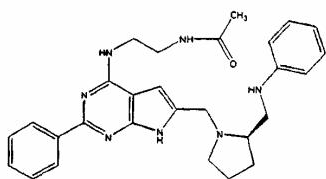
(Сполука 1712)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

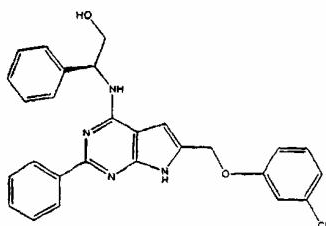


(Сполука 1713)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

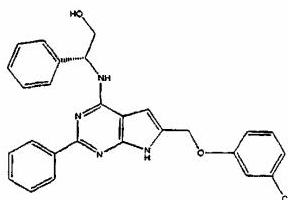


В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

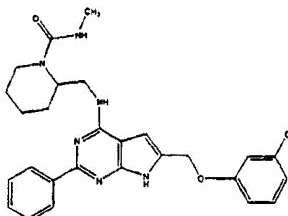


(Сполука 1714)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

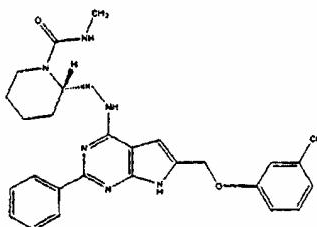


В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

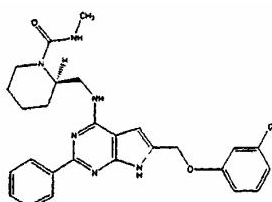


(Сполука 1715)

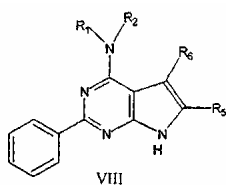
В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



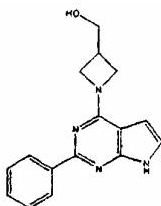
Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:



де R_1 R_2 і атом азоту разом являють собою 3-гідроксипіролідіно, 3-метилоксикарбонілметилпіролідіно, 3-амінокарбонілметилпіролідіно або 3-гідроксиметилпіперидино;

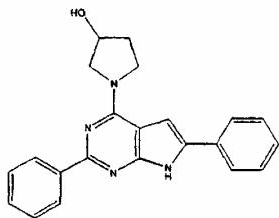
де R_5 і R_6 незалежно являють собою H, заміщений або незаміщений алкіл або арил.

В одному варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



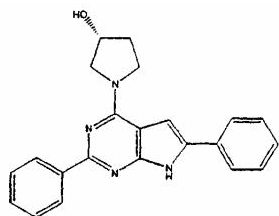
(Сполука 1711)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

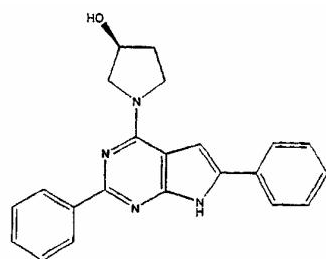


(Сполука 1703)

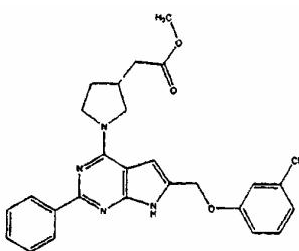
В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

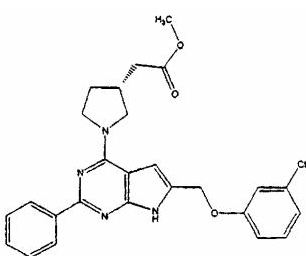


В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

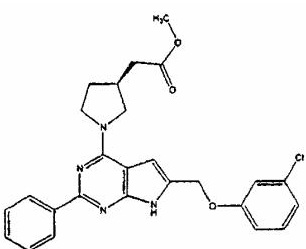


(Сполука 1716)

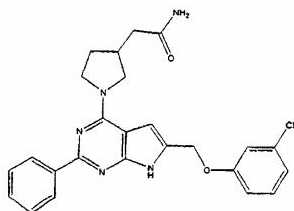
В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

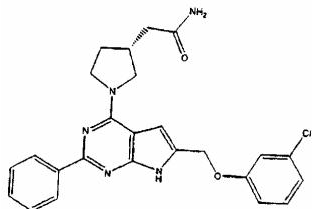


В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

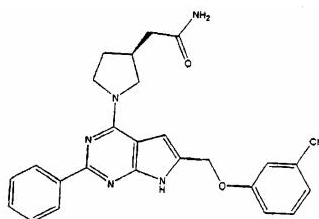


(Сполука 1717)

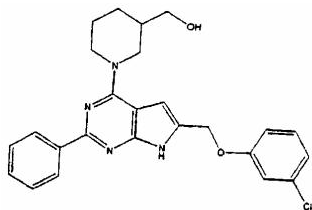
В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

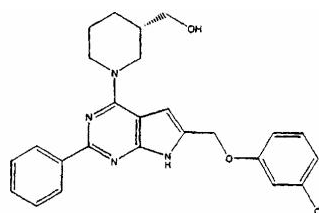


В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:

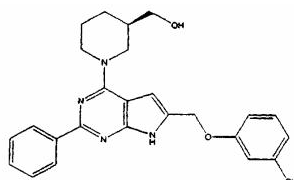


(Сполука 1718)

В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



В іншому варіанті здійснення сполуки, сполука має структуру:



Даний винахід також відноситься до способу лікування захворювання, пов'язаного з A3 аденозиновим рецептором у суб'єкта, який включає введення суб'єкту терапевтично ефективної кількості будь-якої зі сполук IV, V, VII або VIII.

В одному варіанті здійснення способу суб'єкт являє собою ссавця.

В іншому варіанті здійснення способу ссавець є людиною.

В іншому варіанті здійснення способу вказаний A3 аденозиновий рецептор пов'язаний із захворюванням центральної нервової системи, серцево-судинним захворюванням, астмою, гіперчутливістю, ринітом, сінною лихоманкою, сироватковою хворобою, алергічним васкулітом, атонічним

дерматитом, дерматитом, псоріазом, екземою, ідіопатичним фіброзом легень, еозинофільним холециститом, хронічним захворюванням дихальних шляхів, гіпереозинофільним синдромом, еозинофільним гастроентеритом, набряком, кропивницею, еозинофільним захворюванням міокарда, періодичним ангіоневротичним набряком з еозинофілією, запальним захворюванням кишечника, виразковим колітом, алергічним грануломатозом, карциноматозом, еозинофільною грануломою, спадковим гістіоцитозом, гіпертензією, дегрануляцією тучних клітин, пухлиною, серцевою гіпоксією, церебральною ішемією, діурезом, нирковою недостатністю, неврологічним захворюванням, психічним порушенням, порушенням пізнавальної здатності, ішемією міокарда, бронхостенозом, артритом, аутоімунним захворюванням, хворобою Крона, хворобою Граве, діабетом, розсіяним склерозом, анемією, псоріазом, порушеннями здатності відтворення потомства, системним червоним вовчаком, реперфузійним пошкодженням, діаметром артерій мозку, вивільненням алергічних медіаторів, склеродермою, інсультом, загальною ішемією, порушенням центральної нервової системи, серцево-судинним захворюванням, нирковим захворюванням, запальним захворюванням, шлунково-кишковим захворюванням, очним захворюванням, алергічним захворюванням, захворюванням дихальних шляхів або імунологічним захворюванням.

Захворювання, пов'язані з A1, A2a, A2b і A3 аденозиновими рецепторами описані у WO 99/06053 і WO-09822465, WO-09705138, WO-09511681, WO-09733879, JP-09291089, PCT/US98/16053 і патенті США №5516894, повний зміст яких у всій своїй повноті включений в даний опис як посилання.

Даний винахід також відноситься до водорозчинних проліків будь-якої зі сполук IV, V, VI, VII або VIII; де вказані водорозчинні проліки метаболізують *in vivo* до активного лікарського засобу, який селективно інгібує A3 аденозиновий рецептор.

В одному варіанті здійснення проліків вказані проліки метаболізують *in vivo* за допомогою каталізованого естеразою гідролізу.

Даний винахід також відноситься до фармацевтичної композиції, що включає проліки і фармацевтично прийнятний носій.

Даний винахід також відноситься до способу інгібування активності A3 аденозинового рецептора в клітині, який включає контактування вказаної клітини з будь-якою зі сполук IV, V, VI, VII або VIII.

В одному варіанті здійснення способу сполука є антагоністом вказаного A3 аденозинового рецептора.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана фармацевтична композиція являє собою офтальмологічний препарат.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана фармацевтична композиція являє собою препарат для періокулярної, ретробульбарної або внутрішньоочної ін'єкції.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана фармацевтична композиція являє собою системний препарат.

Даний винахід також відноситься до способу лікування шлунково-кишкового захворювання у суб'єкта, що включає введення ефективної кількості будь-якої зі сполук IV, V, VI, VII або VIII.

В одному варіанті здійснення способу вказане захворювання являє собою діарею.

В іншому варіанті здійснення способу суб'єкт є людиною.

В іншому варіанті здійснення способу сполука є антагоністом A3 аденозинових рецепторів.

Даний винахід крім того відноситься до способу лікування захворювання дихальних шляхів у суб'єкта, який включає введення суб'єкта ефективної кількості будь-якої зі сполук IV, V, VI, VII або VIII.

В одному варіанті здійснення способу вказане захворювання являє собою астму, хронічне обструктивне захворювання легень, алергічний риніт або захворювання верхніх дихальних шляхів.

В іншому варіанті здійснення способу суб'єкт є людиною.

В іншому варіанті здійснення способу сполука є антагоністом A3 аденозинових рецепторів.

Даний винахід також відноситься до способу лікування пошкодження ока у суб'єкта, який включає введення вказаному суб'єкту ефективної кількості будь-якої зі сполук IV, V, VI, VII або VIII.

В одному варіанті здійснення способу вказане пошкодження включає пошкодження сітківки або зорового головного нерва.

В іншому варіанті здійснення способу вказане пошкодження є гострим або хронічним.

В іншому варіанті здійснення способу вказане пошкодження є результатом глаукоми, набряку, ішемії, гіпоксії або травми.

В іншому варіанті здійснення способу суб'єкт є людиною.

В іншому варіанті здійснення способу сполука є антагоністом A3 аденозинових рецепторів.

Даний винахід також відноситься до фармацевтичної композиції, що включає терапевтично ефективну кількість будь-якої зі сполук IV, V, VI, VII або VIII і фармацевтично прийнятний носій.

В одному варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана терапевтично ефективна кількість є ефективною для лікування захворювання дихальних шляхів або шлунково-кишкового захворювання.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказане шлунково-кишкове захворювання являє собою діарею.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказане захворювання дихальних шляхів являє собою астму, алергічний риніт або хронічне обструктивне захворювання легень.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана фармацевтична композиція являє собою офтальмологічний препарат.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана фармацевтична композиція являє собою препарат для періокулярної, ретробульбарної або внутрішньоочної ін'єкції.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана фармацевтична композиція являє собою системний препарат.

В іншому варіанті здійснення фармацевтичної композиції вказана фармацевтична композиція являє собою хірургічний зрошувальний розчин.

Даний винахід також відноситься до упакованої фармацевтичної композиції для лікування захворювання, пов'язаного з A3 аденозиновим рецептором, у суб'єкта, що включає: (a) контейнер, який містить терапевтично ефективну кількість будь-якої зі сполук IV, V, VI, VII або VIII; і (b) інструкції для

використання вказаної сполуки для лікування вказаного захворювання у суб'єкта.

Сполуки, представлені формулами IV, V, VI, VII або VIII, можуть бути синтезовані згідно зі схемами I-IX.

Як використано в даному описі, вираз «сполука є A_3 селективною» означає, що сполука має константу зв'язування з A_3 аденозиновим рецептором, яка принаймні в десять разів перевищує константу для A_2 або A_{2b} аденозинових рецепторів.

Даний винахід додатково проілюстрований наступними прикладами, які жодним чином не треба розглядати як такі, що є додатковими обмеженнями. Зміст всіх посилань, що чекають рішення заявок на патенти і опублікованих заявок на патенти, процитованих в даній заявці, включаючи процитовані у розділі «Передумови створення винаходу», включений в даний опис як посилання. Потрібно розуміти, що моделі, використані в прикладах, є загальноприйнятими моделями, і демонстрація ефективності на даних моделях передбачає ефективність на людях.

Фахівець в даній області буде знати, що метаболізм описаних тут сполук у суб'єкта продукує певні біологічно активні метаболіти, які можуть служити як лікарські засоби.

Даний винахід буде краще зрозумілий з експериментальних подробиць, які йдуть далі. Однак, фахівець в даній області легко зрозуміє, що конкретні способи і результати, що обговорюються, є тільки ілюстрацією винаходу, як описано більш детально у формулі винаходу, яка йде далі.

Приклад 24: Експериментальні A_3 аденозинові антагоністи

Сполука 1700 (таблиця 17, нижче): Мас-спектр (ES) 366,1 ($M^+ + 1$).

Сполука 1710 (таблиця 17, нижче): Мас-спектр (ES) 381,1 ($M^+ + 1$).

Сполука 1316 (таблиця 17, нижче): Мас-спектр (ES) 353,2 ($M^+ + 1$).

Сполука 1703 (таблиця 17, нижче): Мас-спектр (ES) 357,1 ($M^+ + 1$).

Сполука 1719 (таблиця 17, нижче): 1H -ЯМР (200МГц, d_6 -DMCO) (1,75 (м, 2H), 3,11 (м, 2H), 3,35 (с, 3H), 3,59 (м, 2H), 5,72 (м, 1H), 5,96 (м, 1H), 6,55 (с, 1H), 7,15 (с, 1H), 7,49 (м, 2H), 8,32 (м, 2H).)

Сполука 1704 (таблиця 17, нижче): Мас-спектр (ES) 367,0 ($M^+ + 1$).

Сполука 1706 (таблиця 17, нижче): 1H -ЯМР (200МГц, $CDCl_3$) δ 1,22 (м, 2H), 1,60-2,40 (м, 4H), 4,53 (м, 1H), 4,94 (м, 1H), 5,70 (д, 1H, $J=8,2$ Гц), 6,35 (д, 1H, $J=2,8$ Гц), 6,97 (д, 1H, $J=2,0$ Гц), 7,50 (м, 3H), 8,40 (м, 2H), 10,83 (ушир.с, 1H).

Сполука 1707 (таблиця 17, нижче): Мас-спектр (ES) 347,0 ($M^+ + 1$).

Сполука 1708 (таблиця 17, нижче): Мас-спектр (ES) 399,0 ($M^+ + 1$).

Сполука 1709 (таблиця 17, нижче): Мас-спектр (ES) 385,9 ($M^+ + 1$).

Сполука 1710 (таблиця 17, нижче): Мас-спектр (ES) 434,0 ($M^+ + 1$).

Сполука 1711 (таблиця 17, нижче): 1H -ЯМР (200МГц, CD_3OD) δ 3,95 (д, 2H, $J=5,8$ Гц), 4,23-4,31 (м, 2H), 4,53 (т, 2H, $J=8,8$ Гц), 6,30 (д, 1H, $J=3,0$ Гц), 6,98 (д, 1H, $J=3,0$ Гц), 7,45-7,48 (м, 3H), 7,83-8,42 (м, 2H), 9,70 (ушир.с, 1H). Мас-спектр (ES) 281, 1 ($M^+ + 1$).

Сполука 1712 (таблиця 17, нижче): 1H -ЯМР (200МГц, CD_3OD) δ 3,02 (м, 2H), 3,92 (м, 2H), 5,09 (2,2H), 6,53 (с, 1H), 6,90-7,04 (ушир.с, 1H), 6,92 (м, 2H), 7,02 (м, 1H), 7,21 (дд, 1H, $J=8,2$ Гц), 7,40 (м, 3H), 7,50-7,80 (ушир.с, 1H), 8,33 (м, 2H). Мас-спектр (ES) 445,1 ($M^+ + 1$).

Сполука 1713 (таблиця 17, нижче): 1H -ЯМР (200МГц, $CDCl_3$) δ 1,65-1,80 (м, 7H), 1,88-2,00 (м, 1H), 2,10-2,40 (м, 1H), 2,70-3,05 (м, 3H), 3,09-3,14 (м, 2H), 3, 16-3,38 (м, 1H), 3,45 (д, 1H, $J=14$ Гц), 3,53-3,60 (м, 2H), 3,84-3,92 (м, 2H), 3,97 (д, 1H, $J=14$ Гц), 5,55 (т, 1H, $J=5,8$ Гц), 6,17 (с, 1H), 6,55-6,59 (м, 2H), 6,64-6,71 (м, 1H), 7,11-7,19 (м, 2H), 7,43-7,46 (м, 3H), 8,38-8,42 (м, 2H). Мас-спектр (ES) 484,0 ($M^+ + 1$).

Сполука 1714 (таблиця 17, нижче): Мас-спектр (ES) 471,0 ($M^+ + 1$).

Сполука 1715 (таблиця 17, нижче): Мас-спектр (ES) 505,0 ($M^+ + 1$).

Сполука 1716 (таблиця 17, нижче): 1H -ЯМР (200МГц, CD_3OD) δ 1,65 (м, 1H), 2,18 (м, 1H), 2,49 (ушир.д, 2H, $J=6,2$ Гц), 2,64 (м, 1H), 3,38 (м, 1H), 3,69 (с, 3H), 3,72 (м, 1H), 3,93 (м, 1H), 4,10 (м, 1H), 5,06 (2,2H), 6,58 (с, 1H), 6,92 (м, 2H), 7,02 (м, 1H), 7,23 (дд, 1H, $J=8,1$ Гц), 7,39 (м, 3H), 8,32 (м, 2H).

Сполука 1717 (таблиця 17, нижче): 1H -ЯМР (200МГц, CD_3OD) δ 1,69 (м, 1H), 2,26 (м, 1H), 2,42 (д, 2H, $J=7,4$ Гц), 2,72 (м, 1H), 3,53 (м, 1H), 3,83 (м, 1H), 4,02 (м, 1H), 4,14 (дд, 1H, $J=10,6, 7,0$ Гц), 5,14 (2,2H), 6,69 (с, 1H), 6,96 (м, 2H), 7,06 (м, 1H), 7,25 (дд, 1H, $J=8,0$ Гц), 7,39 (м, 3H), 8,35 (м, 2H). Мас-спектр (ES) 462,2 ($M^+ + 1$).

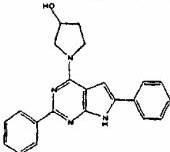
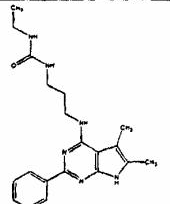
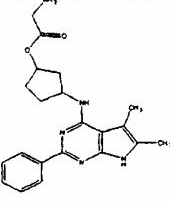
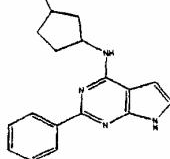
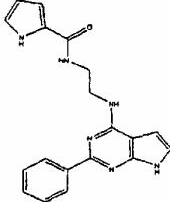
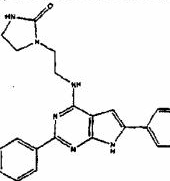
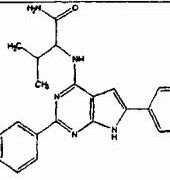
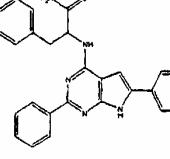
Сполука 1718 (таблиця 17, нижче): 1H -ЯМР (200МГц, CD_3OD) δ 1,40-2,00 (м, 5H), 3,52 (д, 2H, 7,6Гц), 3,80-4,00 (м, 1H), 4,00-4,20 (м, 3H), 4,50 (м, 2H), 6,36-6,50 (м, 2H), 6,54 (с, 1H), 6,84-6,92 (м, 1H), 7,05 (т, 1H, $J=8,2$ Гц), 7,30-7,45 (м, 3H), 8,24 (д, 2H, $J=9,8$ Гц). Мас-спектр (ES) 449,0 ($M^+ + 1$).

Таблиця 17

Сполуки, селективні до A_3 -аденозинового рецептора

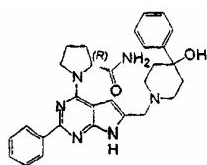
* принаймні в 10 разів більш селективний, ніж інші три підтипи

| Сполука | Структура | K _r -A ₁ | K _r -A _{2a} | K _r -A _{2b} | K _r -A ₃ |
|---------|-----------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| 1202 | | | | | * |
| 1700 | | | | | * |
| 1309 | | | | | * |
| 1701 | | | | | * |
| 1311 | | | | | * |
| 1312 | | | | | * |
| 1310 | | | | | * |
| 1316 | | | | | * |
| 1702 | | | | | * |

| | | | | | |
|------|---|--|--|--|---|
| 1703 |  | | | | * |
| 1704 |  | | | | * |
| 1705 |  | | | | * |
| 1706 |  | | | | * |
| 1707 |  | | | | * |
| 1708 |  | | | | * |
| 1709 |  | | | | * |
| 1710 |  | | | | * |

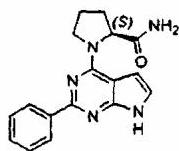
| | | | | | |
|------|--|--|--|--|---|
| 1711 | | | | | * |
| 1712 | | | | | * |
| 1713 | | | | | * |
| 1714 | | | | | * |
| 1715 | | | | | * |
| 1716 | | | | | * |
| 1717 | | | | | * |
| 1718 | | | | | * |
| 1719 | | | | | * |

Даний винахід відноситься до сполуки, що має структуру:



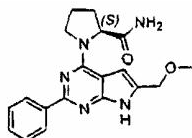
1505

Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:



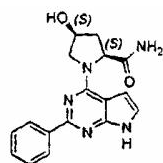
1506

Даний винахід крім того відноситься до сполуки, що має структуру:



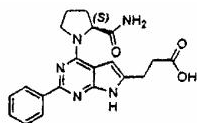
1507

Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:



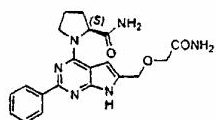
1508

Даний винахід крім того відноситься до сполуки, що має структуру:



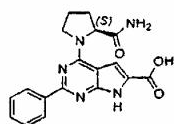
1509

Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:



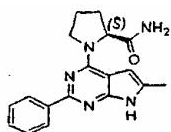
1510

Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:



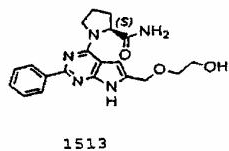
1511

Даний винахід крім того відноситься до сполуки, що має структуру:

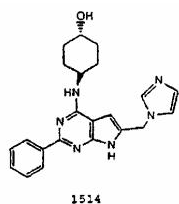


1512

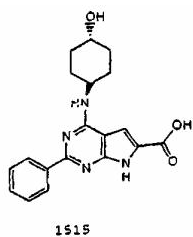
Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:



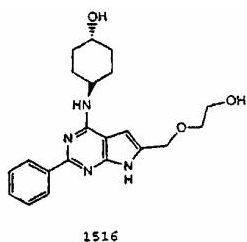
Даний винахід крім того відноситься до сполуки, що має структуру:



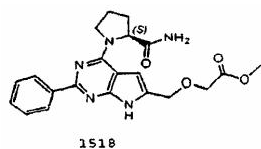
Даний винахід крім того відноситься до сполуки, що має структуру:



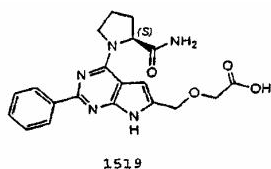
Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:



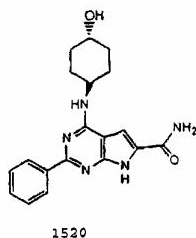
Даний винахід крім того відноситься до сполуки, що має структуру:



Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:



Даний винахід крім того відноситься до сполуки, що має структуру:



У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до способу лікування захворювання, пов'язаного з Аі аденозиновим рецептором у суб'єкта, який включає введення суб'єкту терапевтично ефективної кількості сполук 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 або 1520.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до вищезгаданого способу, де суб'єкт являє собою ссавця.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до вищезгаданого способу, де ссавець є людиною.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до вищезгаданого способу, де вказаний A_1 аденозиновий рецептор пов'язаний з порушенням здатності до пізнання, нирковою недостатністю, серцевою аритмією, епітелієм дихальних шляхів, вивільненням трансмітера, седативною дією, звуженням кровоносних судин, брадикардією, негативною серцевою іотропією і дромотропією, бронхостенозом, нейтрофільним хемотаксисом, рефлюксом або виразковим захворюванням.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до водорозчинних проліків сполуки 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 або 1520, де водорозчинні проліки метаболізують *in vivo*, даючи активний лікарський засіб, який селективно інгібує A_1 аденозиновий рецептор.

У наступному варіанті здійснення винаходу вказані проліки метаболізують *in vivo* за допомогою каталізованого естеразою гідролізу.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до фармацевтичної композиції, що включає вищезгадані проліки і фармацевтично прийнятний носій.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до способу інгібування активності A_1 аденозинового рецептора в клітині, який включає контактування клітини зі сполуками 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 або 1520.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до вищезгаданого способу інгібування активності A_1 аденозинового рецептора в клітині, де сполука є антагоністом A_1 аденозинового рецептора.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до вищезгаданого способу інгібування активності A_1 аденозинового рецептора в клітині, де клітина є клітиною людини.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до вищезгаданого способу інгібування активності A_1 аденозинового рецептора в клітині людини, де сполука є антагоністом A_1 аденозинового рецептора.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до способу лікування у суб'єкта захворювання, пов'язаного з A_1 аденозиновим рецептором, де вказане захворювання являє собою астму, хронічне обструктивне захворювання легень, алергічний риніт або захворювання верхніх дихальних шляхів.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до способу лікування у суб'єкта захворювання, пов'язаного з A_1 аденозиновим рецептором, де вказане захворювання являє собою астму, хронічне обструктивне захворювання легень, алергічний риніт або захворювання верхніх дихальних шляхів, і де суб'єкт є людиною.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до способу лікування вищезгаданого захворювання, де вказана сполука є антагоністом A_1 аденозинових рецепторів.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до комбінованої терапії астми, що включає сполуки 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 або 1520 і стероїд, β_2 агоніст, глюкокортикоїд, антагоніст люкотриєну або антихолінергічний агоніст.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до фармацевтичної композиції, що включає терапевтично ефективну кількість сполуки 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 або 1520 і фармацевтично прийнятний носій.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до способу лікування захворювання дихальних шляхів з використанням сполуки 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 або 1520, де вказане захворювання являє собою астму, алергічний риніт або хронічне обструктивне захворювання легень.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до вищезгаданої фармацевтичної композиції(й), де вказана фармацевтична композиція являє собою препарат для періокулярної, ретробульбарної або внутрішньоочної ін'єкції.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до вищезгаданої фармацевтичної композиції(й), де вказана фармацевтична композиція являє собою системний препарат.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до вищезгаданої фармацевтичної композиції(й), де вказана фармацевтична композиція являє собою хірургічний зрошувальний розчин.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до упакованої фармацевтичної композиції для лікування захворювання, пов'язаного з A_1 аденозиновим рецептором, у суб'єкта, що включає:

(а) контейнер, який містить терапевтично ефективну кількість сполук 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 або 1520, і

(б) інструкції для використання вказаної сполуки для лікування вказаного захворювання у суб'єкта.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до фармацевтично прийнятної солі сполуки 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 або 1520.

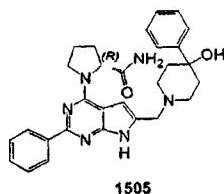
У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до вищезгаданої фармацевтично прийнятної солі, де фармацевтично прийнятна сіль сполуки 1509, 1511, 1518 або 1519 містить катіон, вибраний з групи, що складається з натрію, кальцію і амонію.

Ще в одному наступному варіанті здійснення винахід відноситься до способу лікування захворювання, пов'язаного з A_1 аденозиновим рецептором у суб'єкта, де A_1 аденозиновий рецептор пов'язаний із застійною серцевою недостатністю.

Ілюстративний приклад

Приклад 21: Синтез амідів 1-[6-(4-гідрокси-4-фенілпіперидин-1-ілметил)-2-феніл-7Н-піроло[2,3d]піримідин-4-іл]піролідин-2-карбонової кислоти (1505)

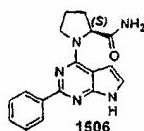
Сполуку 1505 синтезували способом, аналогічним способу прикладу 17, з використанням схеми синтезу IX і L-пролінамідів і 4-фенілпіперидин-4-олу, одержуючи:



¹H-ЯМР (d₆-ДМСО) δ 1,53 (с, 1H), 1,60 (с, 1H), 1,84-2,30 (м, 6H), 2,66 (м, 2H), 3,60 (с, 2H), 3,88 (м, 1H), 4,02 (м, 1H), 4,66 (д, 1H, J=6,8Гц), 4,73 (с, 1H), 6,44 (с, 1H), 6,94 (с, 1H), 7,12-7,50 (м, 10H), 8,35 (м, 2H), 11,6 (ушир.с, 1H); Мас-спектр (ES): 305,1 (M⁺+1); т. пл. =234-235°С.

Приклад 22. Синтез [N-(2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-(L)-пролінаміду] (1506)

Сполуку 1506 синтезували з використанням схеми синтезу VII і L-пролінамід, одержуючи:

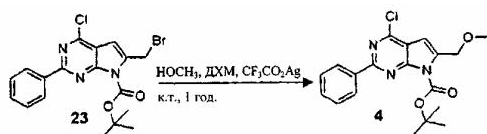


¹H-ЯМР (d₆-ДМСО) δ 2,05 (м, 4H), 3,85 (м, 1H), 4,05 (м, 1H), 4,70 (д, 1H, J=8,0Гц), 6,58 (ушир.с, 1H), 6,95 (ушир.с, 1H), 7,15 (д, 1H, J=3,4Гц), 7,40 (м, 3H), 7,50 (ушир.с, 1H), 8,40 (м, 2H), 11,6 (ушир.с, 1H); Мас-спектр (ES): 308,3 (M⁺+1). Т.пл. =236-238°С.

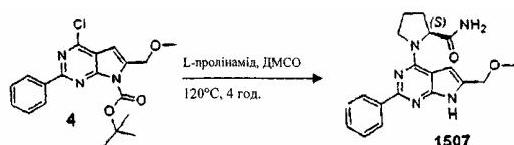
Приклад 23:

Синтез [N-(2-феніл-6-метоксиметил-7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-(L)-пролінаміду] (1507)

Сполуку 1507 одержували з використанням сполуки 23 як попередника за схемою синтезу IX, одержуючи:



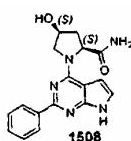
Бромід 23 (4,23г, 10ммоль) розчиняли в безводному метанолі (60мл) і ДХМ (120мл) і обробляли AgO₂CCF₃ в атмосфері N₂ при кімнатній температурі протягом 1 години. Тверду речовину видаляли фільтруванням і промивали ДХМ (2x20мл). Фільтрат концентрували у вакуумі. Залишок повторно розчиняли в ДХМ (80мл). Одержаний розчин потім промивали насиченим розчином NaHCO₃ і насиченим розчином солі, сушили над MgSO₄, фільтрували і концентрували, одержуючи 3,71г (4, 99%) не зовсім білої твердої речовини. ¹H-ЯМР (CDCl₃) δ 1,75 (с, 9H), 3,51 (с, 3H), 4,83 (с, 2H), 6,70 (с, 1H), 7,47 (м, 3H), 8,52 (м, 2H).



Арилхлорид 4 (2,448г, 6,55ммоль), ДМСО (15мл), L-пролінамід (4,0г, 35,0ммоль) і NaHCO₃ (2,9г) об'єднували і нагрівали до 120°С в атмосфері азоту. Через 4 години реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і розбавляли водою (60мл). Одержану суспензію екстрагували ДХМ (10х). Об'єднані органічні шари промивали насиченим розчином NaHCO₃ і насиченим розчином солі, сушили над MgSO₄, фільтрували і концентрували, одержуючи 2,48г коричневої твердої речовини. Чистий продукт (1,86г, 81%) одержували після флеш-хроматографії у вигляді білої твердої речовини. Білі кристали одержані з суміші ТГФ/гексан. Т. пл. =213-215°С. ¹H-ЯМР (CDCl₃) δ 2,15 (м, 3H), 2,52 (м, 1H), 3,26 (с, 3H), 3,92 (м, 1H), 4,10 (м, 1H), 4,42 (с, 2H), 5,08 (д, 1H, J=8,2Гц), 5,49 (ушир.с, 1H), 6,48 (с, 1H), 7,08 (ушир.с, 1H), 7,42 (м, 3H), 8,38 (м, 2H), 9,78 (ушир.с, 1H); Мас-спектр (ES): 352,2 (M⁺+1).

Приклад 24: Синтез амід 4-гідрокси-1-(2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)піролідин-2-карбонової кислоти (1508)

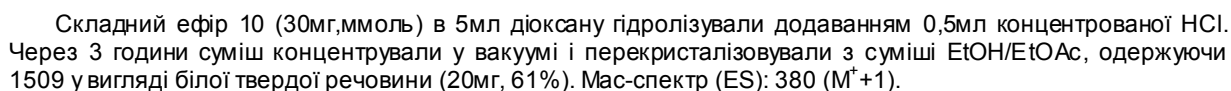
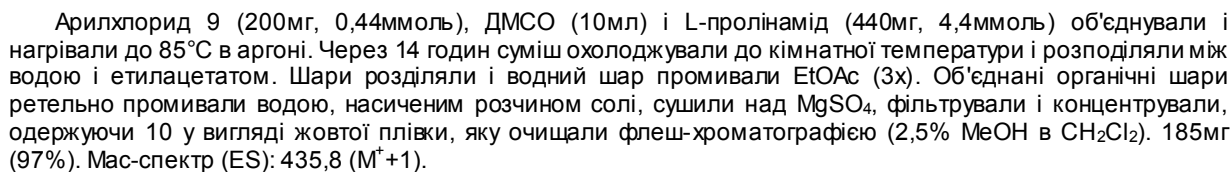
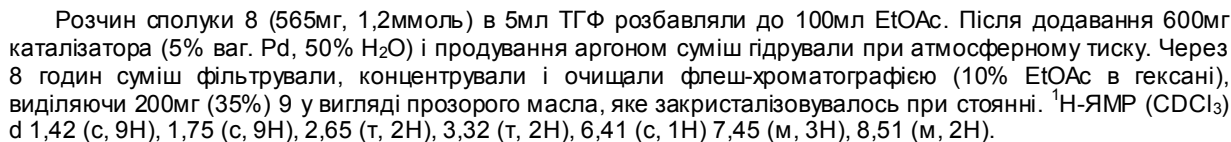
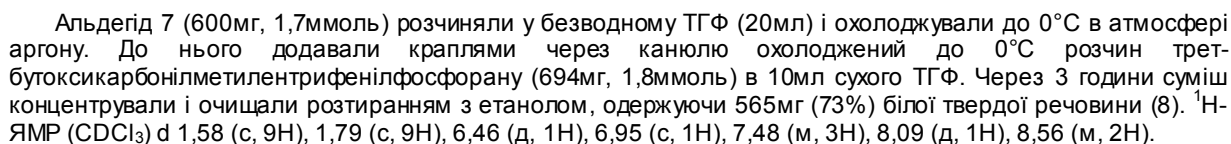
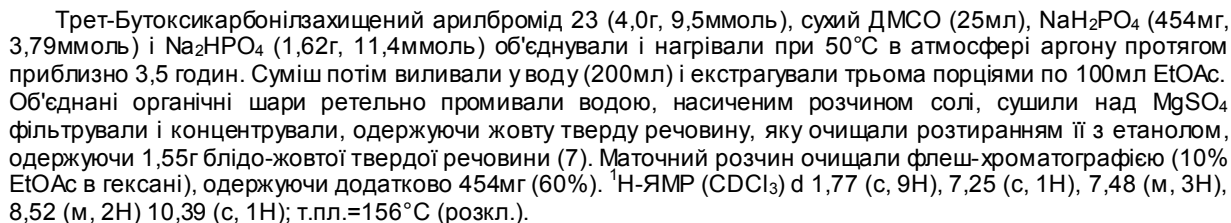
Сполуку 1508 одержували за синтетичною схемою VII з використанням цис-гідроксипролінамід, одержуючи:



¹H-ЯМР (d₆-ДМСО) δ 1,90 (м, 1H), 3,85 (д, 1H, J=9,2Гц), 4,08 (м, 1H), 4,37 (с, 1H), 4,67 (дд, 1H, J=8,8, 4,0Гц), 5,30 (с, 1H), 6,55 (с, 1H), 7,15 (с, 2H), 7,37 (м, 3H), 7,64 (с, 1H), 8,37 (м, 2H), 11,65 (ушир.с, 1H); Мас-спектр (ES): 324,2 (M⁺+1); т.пл.=268-271°С.

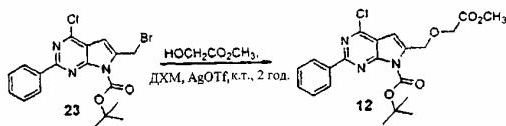
Приклад 25: Синтез 3-[4-((S)-2-карбамоїл-піролідин-1-іл)-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин-6-

Сполуки 1509 одержували з використанням як попередник сполуки 23 за схемою синтезу IX, одержуючи:



Приклад 26: Синтез [N-(2-феніл-6-амінокарбонілметоксиметил-7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-(L)-пролінаміду] (1510)

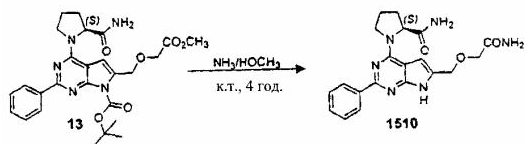
Сполуку 1510 одержували з використанням сполуки 23 як попередника за схемою синтезу IX, одержуючи:



Бромід 23 (1,27г, 3ммоль) і молекулярні сита (5г) перемішували у безводному метилгліколяті (5,8г, 60ммоль) і ДХМ (40мл). Розчин обробляли AgOTf в атмосфері N₂ і залишали перемішуватись протягом 3 годин. Тверду речовину видаляли фільтруванням і промивали ДХМ (2мл). Фільтрат концентрували у вакуумі. Залишок повторно розчиняли в ДХМ (80мл). Одержаний розчин потім промивали водою, насиченим розчином NaHCO₃ і насиченим розчином солі, сушили над MgSO₄, фільтрували і концентрували, одержуючи 1,35г (99%) не зовсім білої твердої речовини (12). ¹H-ЯМР (CDCl₃) δ 1,75 (с, 9H), 3,80 (с, 3H), 5,0 (с, 2H), 6,78 (с, 1H), 7,47 (м, 3H), 8,52 (м, 2H).



Арилхлорид 12 (177мг, 0,41ммоль), ДМСО (10мл), L-пролінамід (466мг, 4ммоль) і NaHCO₃ (500мг) об'єднували і нагрівали до 120°C в атмосфері аргону. Через 4 години реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і розбавляли водою (60мл). Одержану суспензію екстрагували ДХМ (5х30мл). Об'єднані органічні шари промивали насиченим розчином NaHCO₃ і насиченим розчином солі, сушили над MgSO₄, фільтрували і концентрували, одержуючи коричневу тверду речовину. Чистий продукт (154мг, 92%) одержували після флеш-хроматографії у вигляді білої твердої речовини (13). ¹H-ЯМР (CDCl₃) δ 2,15 (м, 3H), 2,52 (м, 1H), 3,55 (с, 3H), 4,58 (с, 2H), 5,08 (с, 1H), 5,85 (ушир.с, 1H), 6,48 (с, 1H), 7,08 (ушир.с, 1H), 7,42 (м, 3H), 8,40 (м, 2H), 10,58 (ушир.с, 1H); Мас-спектр (ES): 410,1 (M⁺+1).

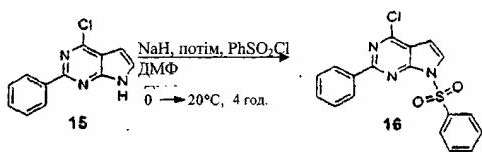


Метильовий складний ефір 13 (124мг, 0,3ммоль) розчиняли в HOCH₃ (15мл). Аміак барботували через розчин протягом 0,5 години. Реакційну суміш потім перемішували ще протягом 3 годин при кімнатній температурі. Після видалення розчинника одержували 111мг білої твердої речовини (1510, 93%). ¹H-ЯМР (CDCl₃) δ 1,82 (м, 3H), 2,20 (м, 1H), 2,80 (м, 1H), 3,10 (м, 1H), 3,63 (дд, 2H, J₁=13,8Гц, J₂=19,4Гц), 3,87 (м, 1H), 4,07 (м, 1H), 4,97 (м, 1H), 5,96 (м, 2H), 6,35 (с, 1H), 6,86 (ушир.с, 1H), 7,11 (ушир.с, 1H), 7,37 (м, 3H), 8,28 (м, 2H), 11,46 (ушир.с, 1H); Мас-спектр (ES): 394,8 (M⁺+1).

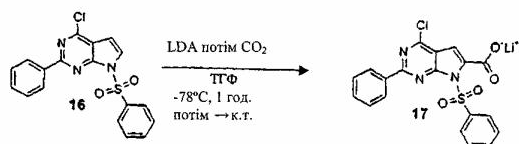
Приклад 27:

Синтез [4-(2-карбамоїлпіролідін-1-іл)-2-феніл-7H-піроло[2,3-d]піримідин-6-карбонової кислоти] (1511)

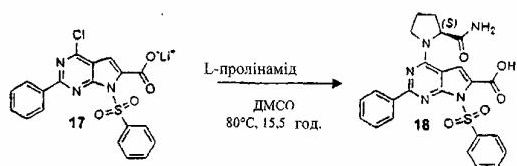
Сполуку 1511 одержували з використанням сполуки 15 як попередника за синтетичною схемою VII, одержуючи:



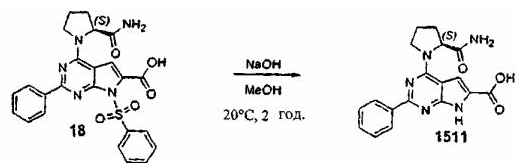
До суспензії гідриду натрію (780мг 60%-ної суспензії в маслі, 19,5ммоль) у безводному ДМФ (20мл), що охолоджується на бані лід/вода, в потоці азоту додавали розчин піролопіримідину 15 (2,00г, 7,52ммоль) у ДМФ (10мл) протягом 5 хвилин. Через 15 хвилин додавали бензолсульфонілхлорид (1,2мл, 9,40ммоль), потім видаляли охолоджуючу баню. Через 4 години реакційну суміш виливали в суміш льоду і насиченого розчину NaHCO₃, тверду речовину, що випала в осад, відфільтровували і розтирали з ацетоном (3) і метанолом (2), одержуючи 2,37г бежевої твердої речовини. Дана тверда речовина містить приблизно 10мол.% ДМФ (на цій основі вихід становив 83%) і може бути використана на наступній стадії; чистий зразок можна одержати хроматографічним очищенням на силікагелі з використанням ацетону як елюента. ¹H-ЯМР (CDCl₃) δ 6,70 (д, J=4,2Гц, 1H), 7,47-7,68 (м, 6H), 7,76 (д, J=4,2Гц, 1H), 8,24-8,32 (м, 2H), 8,48-8,56 (м, 2H); 14 (твердий): ν=3146см⁻¹, 1585, 1539, 1506, 1450, 1417, 1386, 1370, 1186, 1176, 1154, 1111, 1015, 919, 726, 683, 616, 607; Мас-спектр (ES): 372/370 (MH⁺); т.пл.=226-227°C.



До розчину N-сульфонілзаміщеної сполуки 16 (337мг, 0,911ммоль) у сухому ТГФ (34мл), охолодженому сумішшю сухий лід/ацетон, додавали ЇБАТГФ (1,0мл, 1,5 М розчин в циклогексані, 1,5ммоль). Через 45 хвилин діоксид вуглецю барботували в розчин протягом 5 хвилин, потім видаляли охолоджуючу баню. Коли розчин досягав температури навколишнього середовища, розчинники упарювали, одержуючи 398мг солі 17, що містить приблизно 0,5еквів. $(iPr)_2NCO_2Li$, у вигляді жовтої твердої речовини. Сіль використали без очищення на наступній стадії. 1H -ЯМР (d_6 -ДМСО) δ 6,44 (с, 1H), 7,50-7,75 (м, 6H), 8,33-8,40 (м, 2H), 8,53 (дд, J=8,0, 1,6Гц, 2H).



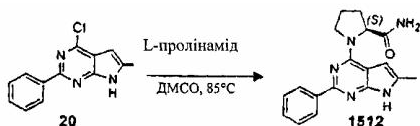
Розчин літєвої солі 17 (50мг) і L-пролінамід (122мг, 1,07ммоль) в ДМСО (1,5мл) нагрівали в потоці азоту при 80°C протягом 15,5 годин. До охолодженого розчину додавали 4%-ну водну оцтову кислоту (10мл) і суміш екстрагували EtOAc (5x10мл). Об'єднані органічні шари промивали 4%-ною водною оцтовою кислотою (10мл), водою (10мл) і насиченим розчином солі (10мл) і сушили над $MgSO_4$. Фільтрування і концентрування давали 40мг 18 у вигляді жовтуватої твердої речовини, яку використали без очищення на наступній стадії. 1H -ЯМР (CD_3OD) δ 1,95-2,36 (м, 4H), 3,85-3,95 (м, 1H), 3,95-4,17 (м, 1H), 4,72 (ушир.с, 1H), 7,14 (с, 1H), 7,35-7,45 (м, 3H), 7,45-7,70 (м, 3H), 8,33-8,50 (м, 4H).



Розчин гідроксиду натрію в метанолі (1,5мл, 5М, 7,5ммоль) додавали до розчину піролопіримідину 18 (40мг, 0,081ммоль) в метанолі (2мл). Через 2 години рН доводили до 5, велику частину метанолу упарювали, суміш екстрагували EtOAc (5x10мл), об'єднані органічні шари промивали насиченим розчином солі і сушили над $MgSO_4$. Фільтрування і концентрування давали 24мг блідо-жовтої твердої речовини, які розтирали з сумішшю толуол/EtOAc/MeOH, одержуючи 15,6мг (55%) кислоти 1511 у вигляді злегка жовтуватої твердої речовини. 1H -ЯМР (CD_3OD) δ 2,05-2,20 (м, 4H), 3,95-4,10 (м, 1H), 4,15-4,25 (м, 1H), 4,85 (ушир.с, 1H), 7,14 (с, 1H), 7,35-7,42 (м, 3H), 8,38-8,45 (м, 2H); 14 (твердий): $\nu=3192cm^{-1}$, 2964, 2923, 2877, 1682, 1614, 1567, 1531, 1454, 1374, 1352, 1295, 1262, 1190, 974, 754, 700; Мас-спектр (ES): 352 ($M^+ + 1$); т.пл = 220°C (розкл.).

Приклад 28: Синтез аміду (1-(6-метил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-(S)-піролідин-2-карбонової кислоти) (1512)

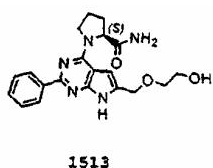
Сполуку 1512 синтезували з використанням наступних стадій:



Арилхлорид 20 (3г, 10,7ммоль), ДМСО (50мл) і (S)-пролінамід об'єднували і нагрівали при 85°C в атмосфері аргону. Після перемішування протягом ночі (14 годин) суміш охолоджували до кімнатної температури і виливали в 800мл води. Цю суміш екстрагували три рази порціями по 200мл EtOAc. Об'єднані органічні шари ретельно промивали водою (3x300мл), насиченим розчином солі, сушили над $MgSO_4$, фільтрували і концентрували, одержуючи темно-коричневу тверду речовину. Тверду речовину перекристалізовували двічі з EtOAc, одержуючи 1,95г (57%) золотисто-руді твердої речовини (1512). 1H -ЯМР (d_6 -ДМСО) δ 1,8-2,2 (м, 4H), 2,3 (с, 3H), 3,8 (м, 1H), 4,0 (м, 1H), 4,6 (д, 1H) 6,2 (с, 1H), 6,9 (с, 1H), 7,2 (м, 3H), 7,3 (с, 1H), 8,4 (м, 2H), 11,5 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 322 ($M^+ + 1$).

Приклад 29: Синтез аміду 1-[6-(2-гідроксіетоксиметил)-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл]піролідин-2-карбонової кислоти (1513)

Сполуку 1513 синтезували способом, аналогічним способу прикладу 17, відповідно до синтетичної схеми IX з використанням L-пролінаміді і етаном-1,2-діолу, одержуючи:

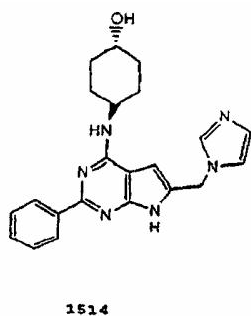


Мас-спектр (ES) 382 ($M^+ + 1$)

Приклад 30: Синтез 4-(6-імідазол-1-ілметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іламіно)циклогексанолу (1514)

4-(6-імідазол-1-ілметил-2-феніл-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-

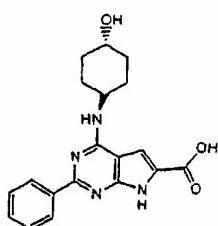
Сполуки 1514 синтезували способом, аналогічним способу прикладу 17, відповідно до синтетичної схеми IX з використанням N-6-аміноциклогексанолу і імідазолу, одержуючи:



Мас-спектр (ES) 389 ($M^+ + 1$)

Приклад 31: Синтез 4-(4-гідроксициклогексиламіно)-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-6-карбонової кислоти (1515)

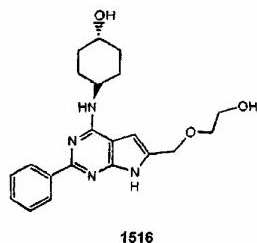
Сполуку 1515 синтезували способом, аналогічним способу прикладу 27, відповідно до синтетичної схеми IX з використанням N-6-аміноциклогексанолу, одержуючи:



Мас-спектр (ES) 353 ($M^+ + 1$)

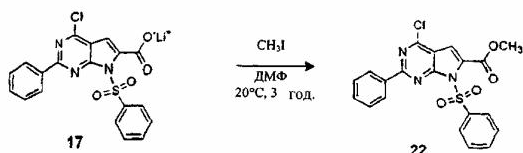
Приклад 32: Синтез 4-[6-(2-гідроксіетоксиметил)-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іламіно]циклогексанолу (1516)

Сполуку 1516 синтезували способом, аналогічним способу одержання сполуки 1513, відповідно до синтетичної схеми IX з використанням N-6-аміноциклогексанолу, одержуючи:

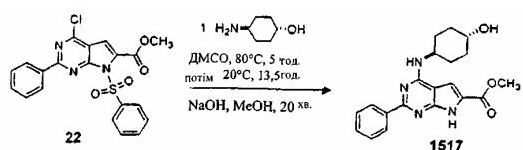


Мас-спектр (ES) 383 ($M^+ + 1$)

Приклад 33: Синтез метилового ефіру 4-(4-гідроксициклогексиламіно)-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-6-карбонової кислоти (1517)



Розчин літєвої солі 17 (0,13ммоль) у безводному ДМФ (4мл) перемішують з йодистим метилом (0,1мл, 1,6ммоль) при 20°С в атмосфері аргону протягом 3 годин. ДМФ упарюють і додають водний розчин хлориду амонію (15мл). Суміш екстрагують ЕЮ Ас (3х15мл), об'єднані органічні шари промивають водою (2х10мл) і насиченим розчином солі (10мл) і сушать над $MgSO_4$. Фільтрування і концентрування дають 21мг (38%) метилового складного ефіру 22.

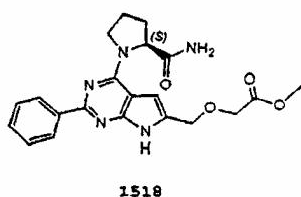


Розчин метилового складного ефіру 22 (24,5мг, 0,057ммоль) і 4-транс-аміноциклогексанолу (66мг, 0,57ммоль) в ДМСО (1,5мл) нагрівають в атмосфері азоту при 80°С протягом 5 годин, потім нагрівання

припиняють і перемішування при 20°C продовжують протягом 13,5 годин. До охолодженого розчину додають 4%-ну водну оцтову кислоту (10мл) і суміш екстрагують EtOAc (3x10мл). Об'єднані органічні шари промивають 4%-ною водною оцтовою кислоту (10мл), водою (10мл), 2н NaOH (10мл), водою (10мл), і насиченим розчином солі (10мл) і сушать над MgSO₄. До розчину неочищеної речовини, одержаної після фільтрування і концентрування (¹H-ЯМР вказує на приблизно 50%-не видалення бензолсульфонільної групи) в ТГФ (2мл), додають розчин NaOH в MeOH (0,5мл 5М розчину, 2,5ммоль) при температурі навколишнього середовища. Через 20 хвилин додають воду і насичений розчин NaHCO₃ (по 5мл кожні) і суміш екстрагують EtOAc (4x15мл). Об'єднані органічні шари промивають 2н NaOH (10мл), водою (10мл) і насиченим розчином солі (10мл) і сушать над MgSO₄. Хроматографія неочищеної речовини, одержаної після фільтрування і концентрування, на силікагелі при елююванні сумішшю гексани/EtOAc 1:1 1:2 дає 8,6мг (41%) 1517 у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 225-227°C. ¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 1,38-1,62 (м, 4H), 1,95-2,10 (м, 2H), 2,10-2,25 (м, 2H), 3,55-3,70 (м, 1H), 3,91 (с, 3H), 4,20-4,35 (м, 1H), 7,32 (с, 1H), 7,35-7,47 (м, 3H), 8,35-8,42 (м, 2H); 14 (твердий): ν=3352см⁻¹, 3064, 2935, 2860, 1701, 1605, 1588, 1574, 1534, 1447, 1386, 1333, 1263, 1206, 1164, 1074, 938, 756, 705; Мас-спектр (ES): 367 (MH⁺).

Приклад 34: Синтез метилового ефіру [4-(2-карбамоїлпіролідін-1-іл)-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-6-ілметокси]оцтової кислоти (1518)

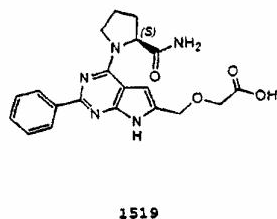
Сполуку 1518 синтезували способом, аналогічним способу прикладу 26, з використанням як попередника сполуки 12, одержуючи:



Мас-спектр (ES) 410 (M⁺+1)

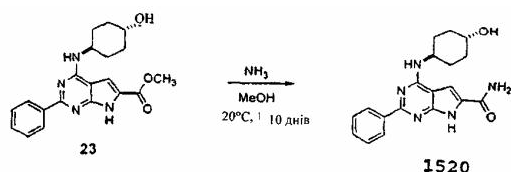
Приклад 35: Синтез [4-(2-карбамоїлпіролідін-1-іл)-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-6-ілметокси]оцтової кислоти (1519)

Сполуку 1519 синтезували способом, аналогічним спосіб одержання сполуки 1518, де складноефірну метильну групу гідролізували за допомогою основи, одержуючи:



Мас-спектр (ES) 396 (M⁺+1)

Приклад 36: Синтез аміду 4-(4-гідроксициклогексиламіно)-2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-6-карбонової кислоти (1520)



Газоподібний аміак конденсують в розчин піролопіримідину 23 (7,8мг, 0,021ммоль) в метанолі (6мл), що охолоджується сумішшю сухий лід/ацетон, доти, поки не досягається загальний об'єм 12мл. Після перемішування протягом 10 днів при 20°C розчинники упарюють і залишок очищують препаративною ТШХ на силікагелі, елюючи сумішшю 5% MeOH в CH₂Cl₂. Одержану таким чином речовину розтирають з простим ефіром, одержуючи 6,5мг (88%) аміду 1520 у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 225-227°C (розкл.). ¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 1,40-1,60 (м, 4H), 2,00-2,15 (м, 2H), 2,15-2,25 (м, 2H), 3,55-3,70 (м, 1H), 4,20-4,35 (м, 1H), 1,16 (с, 1H), 7,35-7,47 (м, 3H), 8,34-8,40 (м, 2H); 14 (твердий): ν=3358см⁻¹, 3064, 3025, 2964, 2924, 2853, 1652, 1593, 1539, 1493, 1452, 1374, 1326, 1251, 1197, 1113, 1074, 1028, 751, 699; Мас-спектр (ES): 352 (MH⁺).

Активність сполук

Насичення і конкурентне радіолігандне зв'язування підтипу 1 аденозинового (A1) рецептора проводили для сполук 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 і 1520, як описано тут і нарівні з іншим на стор. 123 даного опису. Всі вищезазначені сполуки рівні або перевершують афінність зв'язування з A₁ рецептором посилальних сполук 1318 або 1319, як описано тут і нарівні з іншим в таблиці 13, на стор. 136 даного опису.

Передбачається, що розчинність у воді вищезгаданих сполук, перерахованих в таблиці 18, буде кращою, ніж посилальних сполук 1318 або 1319 внаслідок їх значень cLogP, які були розраховані з використанням комп'ютерної програми CS ChemDraw, ChemDraw Ultra, ver.6.0 ©1999, розробленої

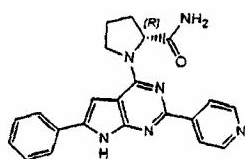
CambridgeSoft Corporation, 100 Cambridge park Drive, Cambridge, MA 021140.

Перераховані в таблиці 18 сполуки, специфічні до A₁ рецептора, мали більш низькі значення cLogP, між приблизно 1,5 і приблизно 3,4, в порівнянні з посиляльними сполуками 1318 або 1319, що мають значення cLogP близько 3,8. Не можна було прогнозувати, що більш полярні A₁ рецепторні сполуки, перераховані в таблиці 18 і які мають більш низькі значення cLogP, ніж посиляльні сполуки 1318 або 1319, все ще будуть зберігати ефективність і селективність зв'язування A₁ рецептора у порівнянні з цими посиляльними сполуками.

Таблиця 18

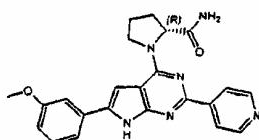
| Сполука | cLogP |
|---------|-------|
| 1505 | 4,1 |
| 1506 | 3,0 |
| 1507 | 2,88 |
| 1508 | 2,1 |
| 1509 | 2,9 |
| 1510 | 1,5 |
| 1511 | 2,7 |
| 1512 | 3,37 |
| 1513 | 2,4 |
| 1514 | 2,8 |
| 1515 | 3,1 |
| 1516 | 2,8 |
| 1517 | 3,4 |
| 1518 | 2,4 |
| 1519 | 2,2 |
| 1520 | 2,4 |

Сторінки 221-224 відносяться до додаткових сполук, специфічних до A_{2a} рецептора.
Даний винахід відноситься до сполуки, що має структуру:



1609

Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:



1610

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до способу лікування захворювання у суб'єкта, пов'язаного з A_{2a} аденозиновим рецептором, що включає введення суб'єкту терапевтично ефективної кількості сполук 1609 або 1610.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до вищезгаданого способу, де суб'єкт являє собою ссавця.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до вищезгаданого способу, де ссавець є людиною.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до способу лікування захворювання, пов'язаного з A_{2a} аденозиновим рецептором у суб'єкта, де A_{2a} аденозиновий рецептор пов'язаний з руховою активністю, розширенням судин, інгібуванням тромбоцитів, нейтрофільним генеруванням супероксиду, порушеннями здатності до пізнання, старечим недоумством або хворобою Паркінсона.

Винахід відноситься до вищезгаданого способу, де сполука сприяє лікуванню захворювання за допомогою стимулювання аденілатциклази.

Винахід також відноситься до водорозчинних проліків сполуки 1609 або 1610, де водорозчинні проліки метаболізують *in vivo*, даючи активний лікарський засіб, який селективно інгібує A_{2a} аденозиновий рецептор.

Винахід також відноситься до водорозчинних проліків сполуки 1609 або 1610, де проліки метаболізують *in vivo* за допомогою каталізованого естеразою гідролізу.

Винахід також відноситься до фармацевтичної композиції, що включає водорозчинні проліки сполуки 1609 або 1610 і фармацевтично прийнятний носій.

Винахід також відноситься до способу інгібування активності A_{2a} аденозинового рецептора в клітині,

який включає контактування клітини зі сполуками 1609 або 1610.

Винахід також відноситься до способу інгібування активності A_{2a} аденозинового рецептора в клітині, який включає контактування клітини зі сполуками 1609 або 1610, де сполука є антагоністом вказаного A_{2a} аденозинового рецептора.

Винахід також відноситься до вищезгаданого способу, де клітина є клітиною людини.

Винахід також відноситься до вищезгаданого способу, де клітина є клітиною людини, і сполука є антагоністом A_{2a} аденозинових рецепторів.

Винахід також відноситься до фармацевтичної композиції, що включає терапевтично ефективну кількість сполуки 1609 або 1610 і фармацевтично прийнятному носії.

Винахід також відноситься до вищезгаданої фармацевтичної композиції, де терапевтично ефективна кількість є ефективною для лікування хвороби Паркінсона і захворювання, пов'язаного з руховою активністю, розширенням судин, інгібуванням тромбоцитів, нейтрофільним генеруванням супероксиду, порушеннями здатності до пізнання або старечим недоумством.

Винахід також відноситься до вищезгаданої фармацевтичної композиції, де фармацевтична композиція є офтальмологічним препаратом.

Винахід також відноситься до вищезгаданої фармацевтичної композиції, де фармацевтична композиція являє собою препарат для періокулярної, ретробульбарної або внутрішньоочної ін'єкції.

Винахід також відноситься до вищезгаданої фармацевтичної композиції, де фармацевтична композиція є системним препаратом.

Винахід також відноситься до вищезгаданої фармацевтичної композиції, де фармацевтична композиція являє собою хірургічний зрошувальний розчин.

Винахід також відноситься до комбінованої терапії хвороби Паркінсона, що включає сполуки 1609 або 1610 і будь-який з допамінових посилюючих агентів.

Винахід також відноситься до комбінованої терапії раку, що включає сполуки 1609 або 1610 і будь-який з цитотоксичних агентів.

Винахід також відноситься до комбінованої терапії глаукоми, що включає сполуки 1609 або 1610 і агоніст простагландину, мускариновий агоніст або β -2 антагоніст.

Винахід також відноситься до упакованої фармацевтичної композиції для лікування у суб'єкта захворювання, пов'язаного з A_2 аденозиновим рецептором, що включає:

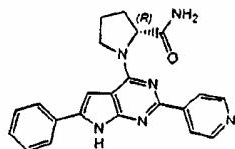
(а) контейнер, який містить терапевтично ефективну кількість сполук 1609 або 1610, і

(b) інструкції для використання вказаної сполуки для лікування вказаного захворювання у суб'єкта.

Ілюстративний приклад

Приклад 41: Синтез амідру 1-(6-феніл-2-піридин-4-іл-7Н-піроло[2,3-*d*]пиримідин-4-іл)піролідин-2-карбонової кислоти (1609).

Сполуку 1609 синтезували взаємодією L-пролінамідру з відповідною хлоридною проміжною сполукою, описаною на схемі II на стор. 67, з одержанням:



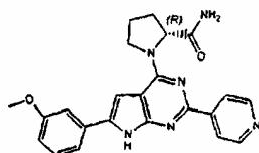
1609

^1H -ЯМР (d_6 -ДМСО) δ 1,95-2,15 (м, 4H), 4,00 (ушир.с, 1H), 4,15 (ушир.с, 1H), 4,72 (ушир.с, 1H), 6,90 (ушир.с, 1H), 7,19 (ушир.с, 1H), 7,30 (т, 1H, $J=7,0\text{Гц}$), 7,44 (т, 2H, $J=7,0\text{Гц}$), 7,59 (с, 1H), 7,92 (ушир.с, 2H), 8,26 (д, 2H, $J=6,2\text{Гц}$), 8,65 (д, 2H, $J=6,2\text{Гц}$); Мас-спектр (ES): 384,9 (M^++1); т.шт $=280-316^\circ\text{C}$ (розкл.).

Приклад 42:

Синтез амідру 1-[6-(3-метоксифеніл)-2-піридин-4-іл-7Н-піроло[2,3-*d*]пиримідин-4-іл]піролідин-2-карбонової кислоти (1610).

Сполуку 1610 синтезували взаємодією L-пролінамідру з відповідною хлоридною проміжною сполукою, описаною на схемі II на стор. 67, з одержанням:



1610

^1H -ЯМР (d_6 -ДМСО) δ 2,07 (м, 4H), 3,85 (с, 3H), 4,02 (м, 1H), 4,17 (м, 1H), 4,75 (м, 1H), 6,89 (м, 1H), 7,00 (с, 1H), 7,23 (с, 1H), 7,35 (т, 1H, $J=8,2\text{Гц}$), 7,53 (с, 2H), 7,60 (с, 1H), 8,28 (д, 2H, $J=5,8\text{Гц}$), 8,67 (д, 2H, $J=5,8\text{Гц}$), 12,37 (с, 1H); Мас-спектр (ES): 415,0 (M^++1).

Активність сполук

Конкурентне радіолігандне зв'язування підтипу 2а аденозинового (A_{2a}) рецептора проводили для сполук 1609 і 1610, як описано тут і, нарівні з іншим, на стор.123 даного опису. Встановлено, що сполуки 1609 і 1610 володіють афінністю і селективністю зв'язування з A_2 рецептором.

Сторінки 225-229 відносяться до додаткових сполук, специфічних до A_3 рецептора.

Даний винахід також відноситься до сполуки, що має структуру:

ендопептидази, нітровазодилаторів (наприклад, нітрогліцерин, гідралазин, нітропрусид натрію), модуляторів енотелінового рецептора (наприклад, ET-1 або непептидні міметики, сарафотоксин-Soc), етакринової кислоти, інших аналогів феноксіоцтової кислоти (наприклад, індакринон, тикринафен), руйнівачів актину (наприклад, латрункулін), блокторів кальцієвих каналів (наприклад, верапаміл, ніфедипін, бровінкамін, нівалдипін) і нейтрозахисних агентів.

Комбінована терапія глаукоми, що включає сполуку 1720 і одну або декілька сполук, вибраних з групи, що складається з антагоністів бета-адреноцептора, агоністів альфа-2-адреноцептора, інгібіторів карбонової ангідрази, холінергічних агоністів і агоністів простагландинового рецептора.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до фармацевтичної композиції, що включає терапевтично ефективну кількість сполуки 1720 і фармацевтично прийнятого носія.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до упакованої фармацевтичної композиції для лікування захворювання, пов'язаного з A₃ аденозиновим рецептором у суб'єкта, що включає:

(а) контейнер, який містить терапевтично ефективну кількість сполуки 1720; і

(б) інструкції для використання вказаної сполуки для лікування вказаного захворювання у суб'єкта.

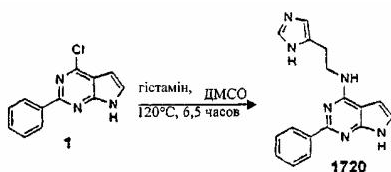
У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до способу одержання композиції, яка включає сполуку 1720, даний спосіб включає змішування сполуки 1720 з відповідним носієм.

У наступному варіанті здійснення винахід відноситься до фармацевтично прийнятної солі сполуки 1720, де фармацевтично прийнятна сіль містить аніон, вибраний з групи, що складається з малеату, фумарату, тартрату, ацетату, фосфату і мезилату.

Ілюстративний приклад.

Приклад 43: Синтез [2-(3Н-імідазол-4-іл)етил]-(2-феніл-7Н-піроло[2,3-*d*]піримидин-4-іл)аміну (1720)

Сполуку 1720 синтезували з використанням як попередника сполуки 1 за синтетичною схемою VII, одержуючи:



Арилхлорид 1 (400мг, 1,5ммоль), ДМСО (10мл) і гістамін (1,67г, 15,0ммоль) об'єднують і нагрівають до 120°C у потоці азоту. Через 6,5 годин реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури і розподіляють між EtOAc і водою. Шари розділяють і водний шар екстрагують EtOAc (3х). Об'єднані органічні шари промивають насиченим розчином солі (2х), сушать над MgSO₄, фільтрують і концентрують, одержуючи 494мг коричневої твердої речовини. Тверду речовину промивають холодним MeOH і перекристалізують з MeOH, одержуючи 197мг (43%) не зовсім білої твердої речовини (1720). ¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 3,05 (т, 2Н, J=7,0Гц), 3,94 (т, 2Н, J=7,0Гц), 6,50 (д, 1Н, J=3,5Гц), 6,88 (ушир.с, 1Н), 7,04 (д, 1Н, J=3,5Гц), 7,42 (м, 3Н), 7,57 (с, 1Н), 8,34 (м, 2Н); Мас-спектр (ES): 305,1 (M⁺+1); т.пл.=234-235°C.

Активність сполук

Конкурентне радіолігандне зв'язування аденозин-3 (A₃) рецептора проводили для сполуки 1720, як описано тут і, нарівні з іншим, на сторінках 123-124 даного опису. Встановлено, що сполука 1720 володіє афінністю зв'язування A₃ рецептора, що в 10 разів перевищує таку для посилювальної сполуки 1308, як описано в даному описі і, крім іншого, в таблиці 13 на сторінці 136 опису.

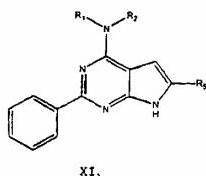
Включення як посилання.

Всі патенти, опубліковані заявки на патенти та інші наведені тут посилання спеціально включені в даний опис як посилання.

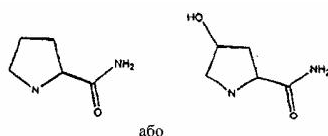
Еквіваленти

Фахівці в даній області розпізнають або зможуть пересвідчитись, використовуючи не більш ніж рутинні експерименти, в існуванні багатьох еквівалентів конкретних варіантів здійснення винаходу, спеціально описаних тут. Мається на увазі, що такі еквіваленти охоплюються об'ємом наступної формули винаходу.

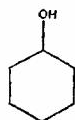
Даний винахід крім того відноситься до сполук, що мають формулу:



де R₁NR₂ разом утворюють кільце, що має структуру:



або R₁ являє собою Н, і R₂ являє собою



R_5 являє собою N або заміщений або незаміщений алкіл або алкіларил.