

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **30.11.2001**
(32) Datum podání prioritní přihlášky: **01.12.2000 01.12.2000**
01.12.2000
(31) Číslo prioritní přihlášky: **2000/728316 2000/728607**
2000/728616
(33) Země priority: **US US US**
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu:
(Věstník č: 5/2004)
(86) PCT číslo: **PCT/US2001/045280**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 2002/057267**

(21) Číslo dokumentu:

2003-1831

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁷ :
C 07 D 487/04
A 61 K 31/519
A 61 P 5/46
A 61 P 11/06

(71) Přihlašovatel:
OSI PHARMACEUTICALS, INC., Melville, NY, US

(72) Původce:
Castelhano Arlindo L., New City, NY, US
McKibben Bryan, White Plains, NY, US
Witter David J., Putnam Valley, NY, US

(74) Zástupce:
Čermák Karel jr., JUDr. Ph.D., Národní 32, Praha 1,
11000

(54) Název přihlášky vynálezu:
Sloučeniny specifické vůči receptoru adenosinu
A1, A2 a A3 a jejich použití

(57) Anotace:
Řešení se týká sloučenin, které specificky inhibují receptory adenosinu A₁, A_{2A} a A₃, a použití těchto sloučenin pro léčení nemocí spojených s receptory adenosinu A₁, A_{2A} a A₃ u subjektů, zahrnující podávání terapeuticky účinného množství sloučenin subjektu.

CZ 2003 - 1831 A3

01-1220-03-Če

PV 2003-1831

Sloučeniny specifické vůči receptoru adenosinu A_1 , A_{2A} a A_3 a jejich použití

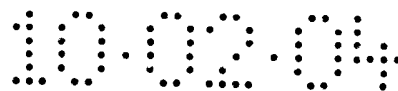
Oblast techniky:

V této přihlášce jsou odkazy na sloučeniny, které se specificky vážou na i) receptory adenosinu A_1 , ii) receptory adenosinu A_{2A} , a iii) receptory adenosinu A_3 .

Dosavadní stav techniky:

Adenosin je všudypřítomný modulátor řady fyziologických aktivit, zvláště v kardiovaskulárních a nervových systémech. Účinky adenosinu se zdají být zprostředkovány specifickými receptorovými proteiny buněčného povrchu. Adenosin moduluje diversní fyziologické funkce včetně vyvolání uklidnění, vasodilatace, suprese srdeční rychlosti a kontraktility, inhibice shlukovatelnosti destiček, stimulace glukoneogenese a inhibice lipolysy. Spolu s vlivem na adenylat-cyklasu se ukázalo, že adenosin otevírá draselné kanálky, snižuje průtok kalciovými kanálky a inhibuje nebo stimuluje fosfoinositidový návrat přes mechanismy zprostředkované receptorem (viz například C.E. Muller a B.Stein „Adenosine Receptor Antagonists: Structures and Potential Therapeutic Applications“, *Current Pharmaceutical Design*, 2:501 (1996) a C. E. Muller „ A_1 -Adenosine Receptor Antagonists“, *Exp. Opin, Ther. Patents* 7 (5):419 (1997)).

Receptory adenosinu patří do nadrodiny purinových receptorů, které jsou v současné době podrozděleny na P_1 (adenosin) a P_2 (ATP, ADP, a další nukleotidy) receptory. Doposud byly klonovány čtyři receptorové subtypy pro nukleosid adenosin z různých druhů, včetně lidí. Dva subtypy receptorů (A_1 a A_2) vykazují afinitu k adenosinu v nanomolárním rozmezí, zatímco další dva známé subtypy A_{2b} a A_3 jsou nízko afinitními receptory, s afinitou pro adenosin v nízkém mikromolárním rozmezí. Aktivace receptoru A_1 a A_2



adenosinu může vést k inhibici aktivity adenylat-cyklasy, zatímco aktivace A_{2a} a A_{2b} vykazuje stimulaci adenylat-cyklasy.

Několik A_1 antagonistů bylo vyvinuto pro léčení kognitivní choroby, renálního poškození a srdeční arytmie. Předpokládalo se, že A_2 antagonisté mohou být výhodnými pro pacienty trpící Morbus Parkinsonovou nemocí (Parkinsonova choroba). Zvláště z hlediska možnosti lokálního podávání mohou být antagonisty receptoru adenosinu hodnotné pro léčení alergického zánětu a astmatu. Dostupné informace (například Nyce & Metzger „DNA Antisense Therapy for Asthma in an Animal Model“ *Nature* (1997) 385: 721-5) indikuje, že v tomto patofyziologickém kontextu mohou A_1 antagonisté blokovat kontrakci hladkého svalu ležícím pod dýchacím epitheliem, zatímco antagonisté A_{2b} nebo A_3 receptoru mohou blokovat degranulaci žírných buněk, ulehčováním uvolňování histaminu a jiných mediátorů zánětů. A_{2b} receptory byly objeveny v gastrointestinálním traktu, zejména ve střevě a intestinálním epitheliu. Předpokládá se, že A_{2b} receptory zprostředkují cAMP odezvu (Strohmeier a kol., *J. Bio. Chem.* (1995) 270 : 2387-94).

Rovněž bylo prokázáno, že receptory adenosinu existují v sítnicích (retinách) různých druhů savců, včetně hovězího dobytka, vepřového, opic, krys, morčat, myší, králíků a člověka (viz Blazynski a kol., *Discrete Distributions of Adenosine Receptors in Mammalian Retina, Journal of Neurochemistry*, svazek 54, stránky 648-655 (1990); Woods a kol., *Characterization of Adenosine A_1 -Receptor Binding Sites in Bovine Retinal Membranes, Experimental Eye Research*, svazek 53, str. 325-331 (1991); a Braas a kol., *Endogenous adenosine and adenosine receptors localized to ganglion cells of the retina, Proceedings of the National Academy of Science*, svazek 84, strany 3906-3910 (1987)). Nedávno zveřejnili Williamsovi pozorování transportních míst adenosinu v kultivované buněčné linii lidské retiny (Williams a kol., *Nucleoside Transport Sites in a Cultured Human Retinal Cell Line Established by SV-40 T Antigen Gene, Current Eye Research*, svazek 13, strany 109-118 (1994)).

Sloučeniny, které regulují příjem absorpce adenosinu byly dříve uvažovány jako potenciální terapeutické látky pro léčení poškození sítnicového a optického nervu v hlavě. V patentu US 5 780 450 od Shade, diskutoval Shade použití inhibitorů příjmu adenosinu pro léčení očních chorob. Shade nepopisuje použití specifických inhibitorů A_3 receptoru. Celkový obsah patentu US 5 780 450 je tímto sem začleněn odkazem.

Další antagonisty receptoru adenosinu jsou potřeba jako farmaceutické prostředky a jsou v uvažovaném zájmu jako léčiva pro výše uvedené choroby a/nebo stavy.

Podstata vynálezu:

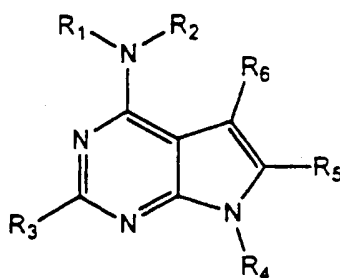
Předložený vynález je založen na sloučeninách, které se selektivně vážou na receptor adenosinu A_1 , a tím léčení nemoci spojené s receptorem adenosinu A_1 , u subjektu, podáváním terapeuticky účinného množství takové sloučeniny subjektu. Nemoci, které se mají léčit, jsou spojené s kognitivní nemocí, selháním ledvin, srdeční arytmií, respiračním epitelem, uvolněním přenašeče, uklidněním, vasokonstrikcí, bradykardií, negativní srdeční inotropií a dromotropií, branchokonstrikcí, neutrofilní chemotaxií, stavem refluxu nebo vředovitým stavem.

Předložený vynález je založen, alespoň částečně, na objevu, že některé N-6 substituované 7-deazapuriny, popsané *infra*, mohou být použity pro ošetřování N-6 substituovaný 7-deazapurinem responsivního stavu. Příklady takových stavů zahrnují ty, v nichž je aktivita receptorů adenosinu zvýšena, jako je bronchitida, gastrointestinální poruchy nebo astma. Tyto stavy lze charakterizovat tím, že aktivace receptoru adenosinu může vést k inhibici nebo stimulaci aktivity adenylat-cykasy. Prostředky a postupy podle vynálezu zahrnují enantiomerně nebo diastereomerně čisté N-6 substituované 7-deazapuriny. Výhodné N-6 substituované 7-deazapuriny zahrnují ty, které mají např. acetamid, karboxamid, substituovaný cyklohexyl, cyklohexanol, nebo močovinovou část připojené na N-6 dusík přes alkylenový řetězec.

Předložený vynález se týká metod modulace receptoru(ů) adenosinu u savců podáváním savci terapeuticky účinného množství N-6 substituovaného 7-deazapurinu, tak, že dochází k modulaci aktivity adenosinového receptoru. Vhodné adenosinové receptory zahrnují rodiny A₁, A₂ nebo A₃. Ve výhodném provedení je N-6 substituovaný 7-deazapurin antagonist adenosinového receptoru.

Vynález se dále týká způsobu léčení N-6 substituovaný 7-deazapurinových chorob, jako je astma, bronchitida, alergická rýma, chronická obstrukční plicní choroba, choroby sítnice, gastrointestinální poruchy, a nemoci očí u savců, podáváním savcům terapeuticky účinného množství N-6 substituovaný 7-deazapurinu, takovém, že dojde u savce k léčení nemoci.

Vhodné N-6 substituovaný 7-deazapuriny zahrnují ty, které jsou představené obecným vzorcem I:



(I)

a jejich farmaceuticky přijatelné soli.

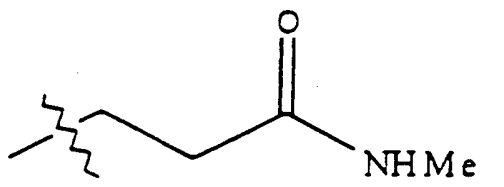
R₁ a R₂ jsou každý nezávisle vodíkový atom nebo substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, aryl nebo alkylarylová část nebo dohromady tvoří substituovaný nebo nesubstituovaný heterocyklický kruh.

R₃ je substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, aryl nebo alkylarylová část; R₄ je vodíkový atom nebo substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, aryl nebo alkylarylová část.

R_5 a R_6 jsou každý nezávisle halogenový atom, jako chlor, fluor nebo brom, vodíkový atom nebo substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, aryl nebo alkylarylová část, nebo R_5 je karboxyl, estery karboxylu nebo karboxamidy; nebo R_4 a R_5 nebo R_5 a R_6 dohromady tvoří substituovaný nebo nesubstituovaný heterocyklický nebo karbocyklický kruh.

V některých provedeních může být R_1 a R_2 , každý nezávisle, substituovaná nebo nesubstituovaná cykloalkylová nebo heteroarylalkylová část. V jiných provedeních R_3 je vodíkový atom nebo substituovaná nebo nesubstituovaná heteroarylová část. V ještě dalších provedeních, R_4 , R_5 a R_6 může být každý nezávisle heteroarylová část.

Ve výhodném provedení R_1 je vodíkový atom, R_2 je cyklohexanol, např. trans-cyklohexanon, R_3 je fenyl, R_4 je vodíkový atom, R_5 je methylová skupina a R_6 je methylová skupina, V ještě dalším výhodném provedení R_1 je vodíkový atom, R_2 je



R_3 je fenyl, R_4 je vodíkový atom a R_5 a R_6 jsou methylové skupiny.

Vynález dále popisuje farmaceutické prostředky pro léčení responsivních stavů vůči N-6 substituovaný 7-deazapurinu u savců, jako je astma, bronchitida, alergická rýma, chronická obstrukční plicní nemoc, choroby sítnice, gastrointestinální poruchy a oční choroby. Farmaceutická kompozice zahrnuje terapeuticky účinné množství N-6 substituovaný 7-deazapurinu a farmaceuticky přijatelný nosič.

Předložený vynález se také týká balených farmaceutických prostředků pro léčení responsivních stavů vůči N-6 substituovaný 7-deazapurinu u savců. Balený farmaceutický prostředek zahrnuje zásobník obsahující terapeuticky účinné množství alespoň jednoho N-6 substituovaný 7-deazapurinu a instrukce pro použití N-6 substituovaný 7-deazapurinu pro léčení responsivních stavů vůči N-6 substituovaný 7-deazapurinu u savců.

Vynález se dále týká sloučenin vzorce I, kde

R_1 je vodík;

R_2 je substituovaný nebo nesubstituovaný cykloalkyl, substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, nebo R_1 a R_2 dohromady tvoří substituovaný nebo nesubstituovaný heterocyklický kruh;

R_3 je nesubstituovaný nebo substituovaný aryl;

R_4 je vodík; a

R_5 a R_6 jsou každý nezávisle vodík nebo alkyl, a jejich farmaceuticky přijatelných solí.

Deazapuriny podle tohoto provedení jsou výhodně selektivní antagonisty A_x receptoru. Tyto sloučeniny mohou být vhodné pro řadu léčebných využití, jako je například léčení astmatu, selhání ledvin spojených se srdečním selháním a glaukom. V konkrétním výhodném provedení je deazapurin ve vodě rozpustné proléčivo, které je schopné býti metabolizováno in vivo na aktivní léčivo například hydrolýzou katalyzovanou esterasou.

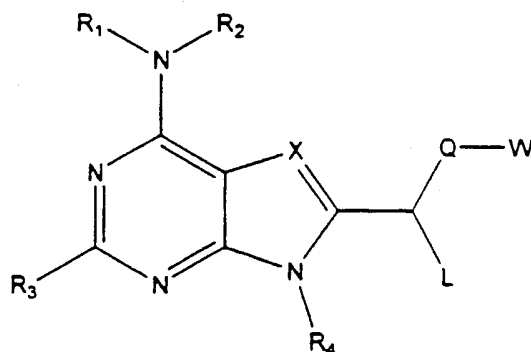
V ještě dalším provedení je vynález veden na způsob inhibice aktivity adenosinového receptoru (např. A_3) v buňce, uvedením do kontaktu buňky s N-6 substituovaný 7-deazapurinem (např. výhodně antagonistou adenosinového receptoru).

V ještě dalším provedení se vynález týká způsobu léčení poškození očí u savců (např. lidí) podáváním savci účinného množství N-6 substituovaného 7-deazapurinu vzorce I. Přednostně N-6 substituovaný 7-deazapurin je antagonist A_3 adenosinových receptorů v buňkách savců. Poškození se týká retiny nebo optického nervu a může být akutní nebo chronické. Důsledkem

poškození může být například glaukom, edem, ischémie, hypoxie nebo trauma.

Vynález se také týká farmaceutického prostředku obsahujícího N-6 substituovanou sloučeninu vzorce I. Přednostně je farmaceutický přípravek oftalmická formulace (např. periokulární, retrobulbární nebo intraokulární injekční formulace, systémická formulace, nebo chirurgický výplachový roztok).

V ještě dalším provedení se vynález týká sloučeniny mající vzorec II:



(II)

kde X je N nebo CR₆;

R₁ a R₂ jsou každý nezávisle vodík, nebo substituovaný nebo nesubstituovaný alkoxy, aminoalkyl, alkyl, aryl nebo alkylaryl, nebo dohromady tvoří substituovaný nebo nesubstituovaný heterocyklický kruh, s podmínkou, že oba R₁ a R₂ nejsou vodík;

R₃ je substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, arylalkyl nebo aryl;

R₄ je vodík nebo substituovaný nebo nesubstituovaný C₁₋₆ alkyl;

L je vodík, substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, nebo R₄ a L dohromady tvoří substituovaný nebo nesubstituovaný heterocyklický nebo karbocyklický kruh;

R₆ je vodík, substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, nebo halogen;

Q je CH₂, O, S nebo NR₇, kde R₇ je vodík nebo substituovaný nebo nesubstituovaný C₁₋₆ alkyl; a

W je substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, arylalkyl, biaryl, heteroaryl, substituovaný karbonyl, substituovaný thiokarbonyl nebo substituovaný sulfonyl;

s tím, že jestliže R_3 je pyrrolidin, potom R_4 není methyl. Vynález se také týká farmaceuticky přijatelných solí a proléčiv ze sloučenin podle vynálezu.

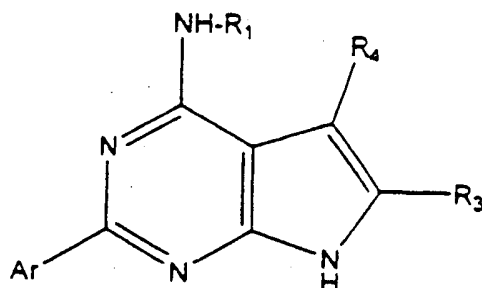
Ve výhodném provedení X je CR_6 , a Q je CH_2 , O, S nebo NH ve vzorci II, přičemž R_6 je definováno výše.

V ještě jiném výhodném provedení vzorce II, X je N.

Vynález se dále týká způsobu inhibice aktivity adenosinového receptoru (např. A_{2b} adenosinového receptoru) v buňce uvedením do kontaktu buňky se sloučeninou podle vynálezu. Přednostně je sloučenina antagonistou receptoru.

Vynález se také týká způsobu léčení gastrointestinálních poruch (např. průjmu) nebo poruch respiračních (jako je alergická rýma, chronická obstrukční plicní nemoc) u živočichů, podáváním živočichovi účinného množství sloučeniny vzorce II (např. antagonisty A_{2b}). Přednostně je živočichem člověk.

Tento vynález se také týká sloučeniny mající vzorec (IV):

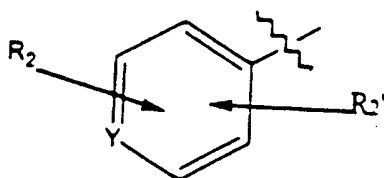


IV

kde R_1 je trans-4-hydroxycyklohexyl, 2-methylamino karbonylamino cyklohexyl, 2-methylamino karbonylamino cyklohexyl, acetamido ethyl, nebo methylamino karbonylamino ethyl;

kde Ar je substituovaný nebo nesubstituovaný čtyř až šesti členný kruh.

V jednom provedení sloučeniny Ar je fenyl, pyrrol, thiofen, furan, thiazol, imidazol, pyrazol, 1,2,4-triazol, pyridin, 2(1H)-pyridon, 4(1H)-pyridon, pyrazin, pyrimidin, pyridazin, isothiazol, isoxazol, oxazol, tetrazol, naftalen, tetralin, naftyridin, benzofuran, benzothiofen, indol, 2,3-dihydroindol, 1H-indol, indolin, benzopyrazol, 1,3-benzodioxol,, benzoxazol, purin, kumarin, chromon, chinolin, tetrahydrochinolin, isochinolin, benzimidazol, chinazolin, pyrido[2,3-b]pyrazin, pyrido[3,4-b]pyrazin, pyrido[3,2-c]pyridazin, purido[3,4-b]-pyridin, 1H-pyrazol[3,4-d]pyrimidin, pteridin, 2(1H)-chinolon, 1(2H)-isochinolon, 1,4-benzisoxazin, benzothiazol, chinoxalin, chinolin-N-oxid, isochinolin-N-oxid, chinoxalin-N-oxid, chinazolin-N-oxid, benzoxazin, ftalazin, cinolin, nebo mající strukturu:



kde Y je uhlík nebo dusík;

kde R_2 a R_2' jsou nezávisle H, substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, substituovaný nebo nesubstituovaný aryl, halogen, methoxy, methylamino, nebo methylthio;

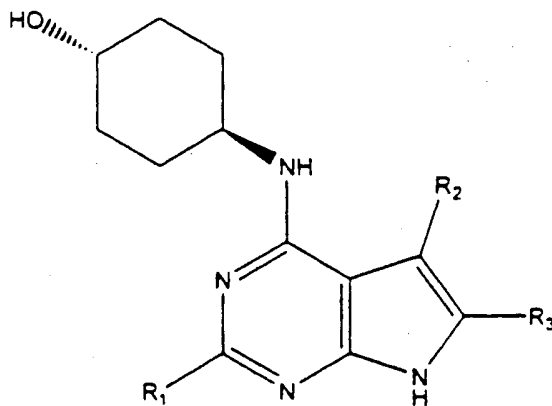
kde R_3 je H, alkyl, substituovaný alkyl, aryl, arylalkyl, amino, substituovaný aryl, kde uvedený substituovaný alkyl je $-C(R_7)(R_8)XR_5$, kde X je O, S nebo NR_6 , přičemž R_7 a R_8 jsou každý nezávisle H nebo alkyl, kde R_5 a R_6 jsou každý nezávisle alkyl nebo cykloalkyl, nebo R_5 , R_6 a dusík dohromady tvoří substituovaný nebo nesubstituovaný kruh s počtem mezi 4 a 7 členy;

kde R_4 je H, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl,

nebo farmaceuticky přijatelná sůl, nebo derivát proléčiva, nebo biologicky aktivní metabolit;

s tou podmínkou, že kde R_1 je acetylaminoethyl, Ar není 4-pyridyl.

Tento vynález se také týká sloučeniny mající strukturu (V):



V

kde R_1 je aryl, substituovaný aryl nebo heteroaryl;

kde R_2 je H, alkyl, substituovaný alkyl, nebo cykloalkyl;

kde R_3 je H, alkyl, substituovaný alkyl, aryl, arylalkyl, amino, substituovaný aryl, přičemž uvedený substituovaný alkyl je $-C(R_6)(R_7)NR_4R_5$, přičemž R_6 a R_7 jsou každý H nebo alkyl, kde R_4 a R_5 jsou každý alkyl nebo cykloalkyl, nebo R_4 , R_5 a dusík dohromady tvoří kruhový systém s počtem mezi 4 a 7 členy.

Tento vynález se také týká způsobu inhibice aktivity A_1 adenosinového receptoru v buňce, který zahrnuje kontaktování uvedené buňky s výše zmíněnými sloučeninami.

Podrobný popis vynálezu

Znaky a další detaily vynálezu budou nyní konkrétněji popsány a zdůrazněny v patentových nárocích. Je zřejmé, že konkrétní provedení

vynálezu jsou ukázána pro ilustraci a nejsou omezením vynálezu. Základní znaky tohoto vynálezu mohou být použity v různých provedeních bez vybočení z rozsahu ochrany.

Předložený vynález se týká metody léčení stavu odezvy na N-6 substituovaný 7-deazapurin u savců. Metody zahrnují podávání terapeuticky účinného množství N-6 substituovaného 7-deazapurinu, popsaného *infra*, savci, takže u savce dojde k léčení stavu citlivého na N-6 substituovaný 7-deazapurin.

Výraz „na N-6 substituovaný 7-deazapurin citlivý stav“ zahrnuje, dle předpokladu, chorobný stav nebo stav charakterizovaný jeho citlivostí (vnímavostí) na léčení s N-6 substituovaným 7-deazapurinem podle vynálezu, jak je popsán *infra*, tedy léčení zahrnuje výrazné minimalizování alespoň jednoho symptomu nebo účinku stavu, dosaženého N-6 substituovaným 7-deazapurinem podle vynálezu. Typicky jsou tyto stavy spojeny se zvýšením adenosinu u hostitele, takovým, že hostitel často vykazuje fyziologické symptomy, které zahrnují, ale neomezují se na ně, uvolňování toxinů, zánět, koma, zadržování vody, nabírání hmotnosti nebo ztrátu hmotnosti, pankreatitidu, rozedmu, revmatickou artritidu, osteoartritidu, vícečetné poškození orgánů, syndrom dětské a dospělé respirační úzkosti, alergickou rýmu, chronickou obstrukční plicní nemoc, oční choroby, onemocnění zažívacího traktu, propagaci kožního nádoru, imunonedostatečnost a astma. (Viz například C.E. Muller a B. Stein „Adenosine Receptor Antagonists: Structures and Potential Therapeutic Applications,“ *Current Pharmaceutical Design*, 2:501 (1996) a C.E. Muller „A₁-Adenosine Receptor Antagonists,“ *Exp. Opin. Ther. Patents* 7(5):419 (1997) a Feoktisove, R. Polosa, S. T. Holgate a I. Biaggioni „Adenosine A_{2B} receptors: a novel therapeutic target in asthma?“, *TiPS* 19; 148 (1998)). Účinky jsou často spojeny s takovými symptomy, jako zahrnují, ale neomezují se na ně, horečku, krátký dech, nevolnost, průjem, slabost, bolest hlavy a dokonce smrt. V jednom provedení zahrnuje stav citlivý na N-6 substituovaný 7-deazapurin takové stavy, které jsou zprostředkovány stimulací receptorů adenosinu jako A₁, A_{2a}, A_{2b}, A₃,

atd., takže je upravena koncentrace vápníku v buňkách a /nebo aktivace PLC (fosfolipasa C). Ve výhodném provedení je stav citlivý na N-6 substituovaný 7-deazapurin spojený s adenosinovým(i) receptorem(receptory), tedy N-6 substituovaný 7-deazapurin působí jako antagonist. Příklady vhodných citlivých stavů, které mohou být léčeny sloučeninami podle vynálezu, jako subtypy adenosinu receptoru, které zajišťují biologický účinek, zahrnují centrální nervovou soustavu (CNS), kardiovaskulární účinky, renální účinky, respirační nemoci, imunologické účinky, gastro-intestinální účinky a metabolické účinky. Relativní množství adenosinu u subjektu může být spojeno s účinkem uvedeným dále, což je, že zvýšené hladiny adenosinu mohou spouštět účinek, jako je nežádoucí fyziologická odezva, např. astmatický záchvat.

Účinky na CNS zahrnují snížené uvolňování transmitteru (A_1), sedaci (A_1), sníženou pohybovou aktivitu (A_{2a}), antikonvulzivní aktivitu, stimulaci chemoreceptoru (A_2) a hyperalgesii. Léčebná použití nalezených sloučenin zahrnují léčení demence, Alzheimerovy nemoci a zlepšení paměti.

Kardiovaskulární účinky zahrnují vasodilataci (A_{2a}), (A_{2b}) a (A_3), vasokonstrikci (A_1), bradykardii (A_1), inhibici destiček (A_{2a}), negativní srdeční inotropii a dromotropii (A_1), arytmií, tachykardii a angiogenesi. Léčebná použití inventivních sloučenin zahrnují například prevenci ischemií indukovaného poškození srdce a srdečního tonusu, ochranu tkáně myokardu a obnovu srdeční funkce.

Účinky na ledviny („renální účinky“) zahrnují snížené GFR (A_1), kontrakci mesangiálních buněk (A_1), antidiuresii (A_1) a inhibici uvolňování reninu (A_1). Vhodná léčebná použití inventivních sloučenin zahrnují použití inventivních sloučenin jako diuretik, natriuretik, draslíkových ukladačů, pro



ochranu ledvin / prevenci akutního ledvinového poškození, jako antihypertonikum, jako látky proti otokům a látky proti zánětům ledvin.

Respirační účinky zahrnují bronchodilataci (A_2), bronchokonstrikci (A_1), chronickou obstrukční plicní nemoc, alergickou rýmu, sekreci hlenu a respirační depresi (A_2). Vhodná léčebná použití sloučení podle vynálezu zahrnují antiastmatické aplikace, léčení plicních nemocí po transplantaci a respiračních poruch.

Imunologické účinky zahrnují imunosupresi (A_2), neutrofilní chemotaxi (A_1), neutrofilní generaci peroxidu (A_{2a}) a degranulaci žírných buněk (A_{2b} a A_3). Léčebná použití antagonistů zahrnují alergické a nealergické záněty, jako uvolňování histaminu a jiných mediátorů zánětů.

Gastrointestinální účinky zahrnují inhibici sekrece kyselin (A_1), terapeutická použití mohou zahrnovat refluxní a vředové stavy. Gastrointestinální účinky také zahrnují nemoci tlustého střeva, tenkého střeva a průjemová onemocnění, jako je průjemové onemocnění spojené se zánětem střev (A_{2b}).

Choroby očí zahrnují poškození sítnice a optického nervu při poranění hlavy a trauma spojené s poruchami (A_3). Ve výhodném provedení je oční chorobou glaukom.

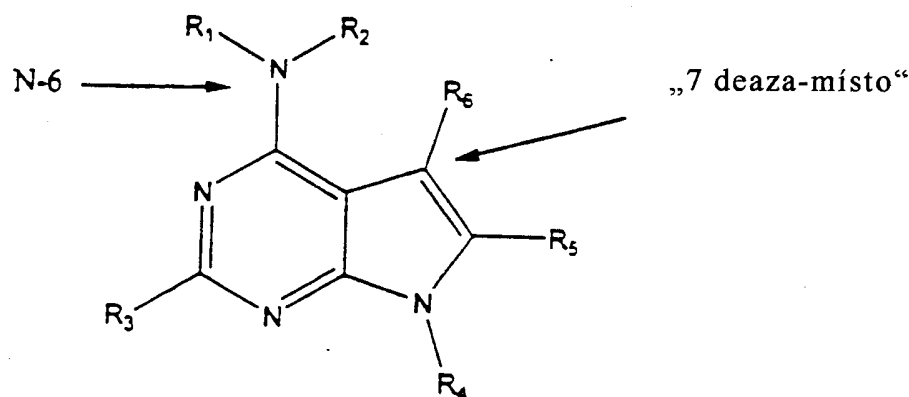
Další léčebná použití sloučenin podle vynálezu zahrnují léčení obezity (lypolitických vlastností), hypertenze, léčení deprese, sedativní, anxiolitická, jako antiepileptika a jako laxativa, např. ovlivňující pohyblivost (motilitu) bez vyvolání průjmu.

Termín „chorobný stav“ zde, dle předpokladu, zahrnuje stavy vyvolané nebo spojené s nežádoucími hladinami adenosinu, aktivitou adenylyl cyklasy, zvýšenou fyziologickou aktivitou spojenou s abnormální stimulací adenosinových receptorů a/nebo zvýšením cAMP. V jednom provedení je chorobným stavem například astma, chronická obstrukční plicní nemoc, alergická rýma, bronchitida, ledvinové choroby, gastrointestinální nemoci nebo oční choroby. Další příklady zahrnují chronickou bronchitidu a

cystickou fibrosu. Vhodné příklady zánětlivých onemocnění zahrnují ne-lymfocytickou leukémii, myokardialní ischemii, angínu, infarkt, cerebrovaskulární ischemii, přerušované kulhání, kritickou ischemii končetin, venosní hypertensi, křečové žíly, bérkové vředy a arteriosklerosu. Porušené reperfusionní stavy zahrnují, například, jakákoliv postchirurgická traumata, jako je rekonstrukční chirurgie, trombolysa nebo angioplasie.

Označení „léčení stavů reagujících na N-6 substituovaný 7-deazapurin“ nebo „léčení stavů citlivých na N-6 substituovaný 7-deazapurin“ zahrnuje dle předpokladu změny chorobného stavu nebo stavů, jak jsou popsány výše, takových, že fyziologické symptomy u savců mohou být významně zmírněny nebo minimalizovány. Termín rovněž zahrnuje regulaci, prevenci nebo inhibici fyziologických symptomů nebo účinků spojených s odchylným množstvím adenosinu. V jednom výhodném provedení je regulace chorobného stavu nebo stavů taková, že chorobný stav nebo podmínky jsou vymýceny. V jiném výhodném provedení je regulace selektivní, takže nežádoucí hladiny aktivity adenosinového receptoru jsou kontrolovány, zatímco jiné fyziologické systémy a parametry jsou neovlivněny.

Termín „N-6 substituovaný 7-deazapurin“ je ve stavu techniky znám a předpokládá se, že zahrnuje sloučeniny mající vzorec I:



(I)

„N-substituovaný 7-deazapurin“ zahrnuje jeho farmaceuticky přijatelné soli, a v jednom provedení také zahrnuje konkrétní N-6 substituované puriny zde popsané.

V konkrétních provedeních není N-6 substituovaný 7-deazapurin substituovaným N-6 benzylem nebo N-6 fenylethylem. V jiném provedení, R_4 není benzyl nebo fenylethyl substituovaný. Ve výhodných provedeních, R_1 a R_2 nejsou oba vodíkové atomy. V ještě dalším výhodném provedení R_3 není vodíkový atom.

Termín „terapeuticky účinné množství“ N-6 substituovaný 7-deazapurinu, popsané *infra*, je takové množství léčebné sloučeniny nezbytné nebo postačující k uskutečnění jeho uvažované funkce u savců, např. k léčení stavu citlivého na N-6 substituovaný 7-deazapurin, nebo chorobného stavu savce. Účinné množství léčivé sloučeniny se může měnit podle faktorů, jako je množství již přítomného příčinného faktoru v savci, věk, pohlaví, hmotnost savce, a schopnosti terapeutické sloučeniny podle předloženého vynálezu ovlivnit u savce stav citlivý na N-6 substituovaný 7-deazapurin.

Odborník znalý stavu techniky bude schopný studovat výše uvedené faktory a učinit rozhodnutí týkající se účinného množství terapeutické sloučeniny bez potřeby experimentování. Testy *in vitro* a *in vivo* mohou být rovněž provedeny ke stanovení „účinných množství“ terapeutických sloučenin popsanych *infra*. Odborník znalý stavu techniky může zvolit vhodné množství terapeutické sloučeniny pro použití ve výše zmiňovaných testech nebo pro léčebné použití.

Terapeuticky účinné množství přednostně zmírňuje alespoň jeden příznak nebo účinek spojený se stavem citlivým na N-6 substituovaný 7-deazapurin nebo podmínku, tím, že je léčen alespoň z asi 20 % (výhodněji alespoň asi 40 %, dokonce ještě výhodněji alespoň asi 60 %, a ještě více výhodněji alespoň asi 80 %) vzhledem k neošetřovaným subjektům. Testy mohou být odborníkem z dané oblasti techniky určeny ke stanovení úbytku těchto symptomů a/nebo vlivů. Jakékoliv testy známé ze stavu techniky určené pro stanovení těchto parametrů se předpokládají za zahrnuté do tohoto



vynálezu. Například pokud je astma léčeným stavem, potom objem vzduchu vydaný z plic subjektu může být změřen před a po ošetření pro změření zvětšení objemu použitím ze stavu techniky známých metod. Obdobně pokud je léčeným stavem zánět, potom plocha, která je zanícena, může být změřena před a po ošetření pro změření zmenšování zanícené plochy použitím ze stavu techniky známých metod.

Termín „buňka“ zahrnuje obé, prokaryotické i eukaryotické buňky.

Termín „živočich“ zahrnuje jakýkoliv organismus s adenosinovými receptory nebo jakýkoliv organismus náchylný ke stavu citlivému na N-6 substituovaný 7-deazapurin. Příklady živočichů zahrnují kvasinky, savce, plazy a ptáky. Rovněž zahrnuje transgenní živočichy.

Termín „savec“ je ve stavu techniky uznáván a zahrnuje živočicha, přednostněji teplokrevného živočicha, nejvýhodněji hovězí dobytek, ovce, vepře, koně, psy, kočky, krysy, myši a lidi. Savci náchylní k N-6 substituovaný 7-deazapurin-citlivému stavu, zánětu, rozedmě, astmatu, okolnostem týkajícím se centrální nervové soustavy nebo akutnímu respiračnímu úzkostnému syndromu jsou příkladně zahrnuti jako část tohoto vynálezu.

Z jiného hlediska se předložený vynález týká způsobu modulace adenosinového receptoru (ů) u savců podáváním savci terapeuticky účinného množství N-6 substituovaný 7-deazapurinu, tak, že dojde u savce k modulaci adenosinového receptoru. Vhodné adenosinové receptory zahrnují rodiny A₁, A₂, nebo A₃. Ve výhodném provedení N-6 substituovaný 7-deazapurinem je antagonist adenosinového receptoru.

Termínem „modulace adenosinového receptoru“ se rozumí, že zahrnuje takové případy, kde je sloučenina ve vzájemné interakci s adenosinovým receptorem(y), a způsobuje zvýšenou, sníženou nebo abnormální fyziologickou aktivitu spojenou s adenosinovým receptorem nebo následné kaskádové efekty, které rezultují z modulace adenosinového receptoru. Fyziologické aktivity spojené s adenosinovými receptory zahrnují vyvolání sedace, vasodilatace, suprese srdeční rychlosti a kontrakility, inhibici

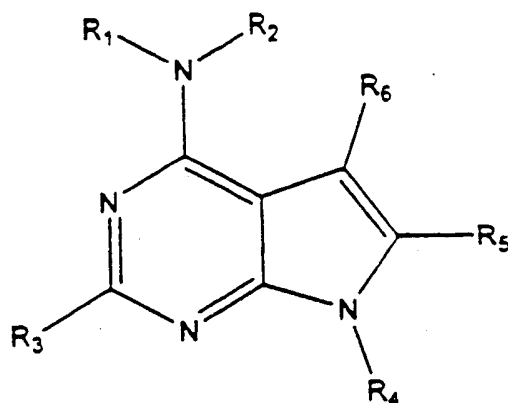
shlukovatelnosti destiček, stimulaci glukoneogenese, inhibici lipolysy, otevření draslíkových kanálků, snížení průtoku vápníkovými kanálky atd.

Termíny „modulovat“, „modulování“ a „modulace“ se rozumí, že zahrnují prevenci, vymýcení nebo inhibici výsledného zvýšení nežádoucí fyziologické aktivity spojené s abnormální stimulací adenosinového receptoru, např. v kontextu s léčebnými postupy podle vynálezu. V jiném provedení zahrnuje termín „modulovat“ antagonistické účinky, jako zmírnění aktivity nebo produkce mediátorů alergie a alergického zánětu, které jsou důsledkem nadměrné stimulace adenosinového receptoru(ů). Například terapeutické deazapuriny podle vynálezu mohou spolupůsobit s adenosinovým receptorem, aby například inhibovaly aktivitu adenylat cyklasy.

Termín „stav charakterizovaný nadměrnou/nenormální aktivitou adenosinového receptoru“ se míní, že zahrnuje takové nemoci nebo stavy, které jsou spojené s nenormální stimulací adenosinového receptoru v tom, že stimulace receptoru vyvolává biochemický nebo fyziologický řetěz událostí, který je přímo nebo nepřímo spojen s nemocí, poruchou nebo stavem. Tato stimulace adenosinového receptoru nesmí být jediným kauzativním činitelem nemoci, poruchy nebo stavu, ale pouze je zodpovědným za vyvolání některých symptomů typicky spojených s nemocí, poruchou nebo stavem, který je léčen. Nadměrná stimulace receptoru může být jediným faktorem nebo alespoň jeden další činitel může být zahrnut do léčeného stavu. Příklady stavů zahrnují ty chorobné stavy uvedené *supra*, zahrnující zánět, gastrointestinální choroby a takové příznaky prokazované přítomností zvýšené aktivity adenosinového receptoru. Výhodné příklady zahrnují příznaky spojené s astmatem, alergickou rýmou, chronickou obstrukční plicní nemocí, otoky, bronchitidou, gastrointestinálními chorobami a glaukomem.

Termín „léčení nebo léčba stavu charakterizovaného nadměrnou aktivitou adenosinového receptoru“ se předpokládá, že zahrnuje ulehčení nebo omezení alespoň jednoho příznaku typicky spojeného se stavem. Léčení také zahrnuje ulehčení nebo omezení více než jednoho příznaku, Přednostně ošetření léčí, například podstatně eliminuje, příznaky spojené se stavem.

Předložený vynález se týká sloučenin, N-6 substituovaných 7-deazapurinů, majících vzorec I:



(I)

kde

R_1 a R_2 jsou každý nezávisle vodíkový atom nebo substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, aryl nebo alkylarylová část, nebo dohromady tvoří substituovaný nebo nesubstituovaný heterocyklický kruh;

R_3 je vodíkový atom nebo substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, aryl nebo alkylarylová část;

R_4 je vodíkový atom nebo substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, aryl nebo alkylarylová část.

R_5 a R_6 jsou každý nezávisle atom halogenu, např. chloru, fluoru nebo bromu, a vodíkový atom nebo substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, aryl nebo alkylarylová část nebo R_4 a R_5 nebo R_5 a R_6 dohromady tvoří substituovaný nebo nesubstituovaný heterocyklický nebo karbocyklický kruh.

Rovněž jsou zahrnuty farmaceuticky přijatelné soli N-6 substituovaných 7-deazapurinů.

V konkrétních provedeních, R_1 a R_2 mohou být každý nezávisle substituovaný nebo nesubstituovaný cykloalkyl nebo heteroarylalkylová část.

V jiných provedeních R_3 je vodíkový atom nebo substituovaná nebo nesubstituovaná heteroarylová část. V ještě dalších provedeních R_4 , R_5 a R_6 mohou být každý nezávisle heteroarylová část.

V jednom provedení R_1 je vodíkový atom, R_2 je substituovaný nebo nesubstituovaný cyklohexan, cyklopentyl, cyklobutyl nebo cyklopropanová část, R_3 je substituovaná nebo nesubstituovaná fenylová část, R_4 je vodíkový atom a R_5 a R_6 jsou oba methylové skupiny.

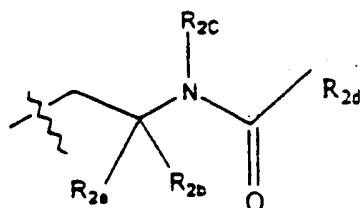
V jiném provedení R_2 je cyklohexanol, cyklohexandiol, cyklohexylsulfonamid, cyklohexanamid, cyklohexylester, cyklohexen, cyklopentanol nebo cyklopentandiol a R_3 je fenylová část.

V ještě dalším provedení R_1 je vodíkový atom, R_2 je cyklohexanol, R_3 je substituovaný nebo nesubstituovaný fenyl, pyridin, furan, cyklopentan nebo thiofenová část, R_4 je vodíkový atom, substituovaný alkyl, aryl nebo arylalkylová část, a R_5 a R_6 jsou každý nezávisle vodíkový atom, nebo substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, aryl nebo alkylarylová část.

V ještě dalším provedení R_1 je vodíkový atom, R_2 je substituovaný nebo nesubstituovaný alkylamin, arylamin, nebo alkylarylamin, substituovaný nebo nesubstituovaný alkylamid, arylamid nebo alkylarylamid, substituovaný nebo nesubstituovaný alkylsulfonamid, arylsulfonamid nebo alkylarylsulfonamid, substituovaná nebo nesubstituovaná alkylmočovina, arylmočovina nebo alkylarylmočovina, substituovaný nebo nesubstituovaný alkylkarbamát, arylkarbamát nebo alkylarylkarbamát, substituovaná nebo nesubstituovaná alkylkarboxylová kyselina, arylkarboxylová kyselina nebo alkylarylkarboxylová kyselina, R_3 je substituovaná nebo nesubstituovaná fenylová část, R_4 je vodíkový atom a R_5 a R_6 jsou methylové skupiny.

V ještě dalším provedení R_2 je guanidin, modifikovaný guanidin, kyanoguanidin, thiomčovina, thioamid nebo amidin,

V jiném provedení může být R_2

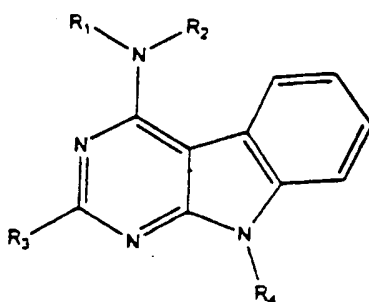


kde $R_{2a} - R_{2c}$ jsou každý nezávisle vodíkový atom nebo nasycený nebo nenasycený alkyl, aryl nebo alkylarylová část a R_{2d} je vodíkový atom nebo nasycený nebo nenasycený alkyl, aryl nebo alkylarylová část, $NR_{2e}R_{2f}$ nebo OR_{2g} , kde $R_{2e} - R_{2g}$ jsou každý nezávisle vodíkový atom nebo nasycený nebo nenasycený alkyl, aryl nebo alkylarylové části. Alternativně R_{2a} a R_{2b} společně mohou tvořit karbocyklický nebo heterocyklický kruh mající velikost kruhu mezi asi 3 a 6 členy, např. cyklopropyl, cyklopentyl, cyklohexylové skupiny.

Z jednoho hlediska vynálezu oba R_5 a R_6 nejsou methylové skupiny, přednostně jedna z R_5 a R_6 je alkylová skupina např. methylová skupina a druhá je vodíkový atom.

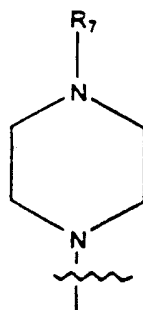
Z jiného hlediska vynálezu, kde R_4 je 1-fenylethyl a R_1 je vodíkový atom, potom R_3 není fenyl, 2-chlorfenyl, 3-chlorfenyl, 4-chlorfenyl, 3,4-dichlorfenyl, 3-methoxyfenyl nebo 4-methoxyfenyl nebo když R_4 a R_1 jsou 1-fenylethyl, potom R_3 není vodíkový atom, nebo když R_4 je vodíkový atom a R_3 je fenyl, potom R_1 není fenylethyl.

Z jiného hlediska vynálezu, když R_5 a R_6 dohromady tvoří karbocyklický kruh, např.:



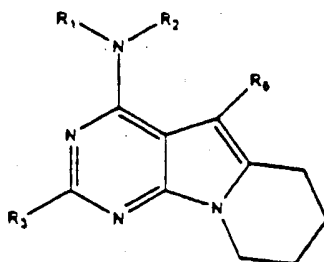
nebo pyrimido[4,5-6]indol, potom R_3 není fenyl když R_4 je 1-(4-methylfenyl)ethyl, fenylisopropyl, fenyl nebo 1-fenylethyl nebo když R_3 není vodíkový atom když R_4 je 1-fenylethyl. Karbocyklický kruh tvořený z R_5 a R_6 může být buď aromatický nebo alifatický a může mít mezi 4 a 12 atomy uhlíku, např. naftyl, fenylcyklohexyl, atd., přednostně mezi 5 a 7 atomy uhlíku, např. cyklopentyl nebo cyklohexyl. Alternativně R_5 a R_6 dohromady mohou tvořit heterocyklický kruh, jako jsou ty popsány níže. Typické heterocyklické kruhy zahrnují mezi 4 a 12 atomy uhlíku, přednostně mezi 5 a 7 atomy uhlíku a mohou být aromatické nebo alifatické. Heterocyklický kruh může být dále substituován, včetně substituce na jednom nebo více uhlíkových atomů kruhové struktury jedním nebo více heteroatomy.

Z ještě dalšího hlediska vynálezu tvoří R_1 a R_2 heterocyklický kruh. Reprezentativní příklady zahrnují, ale neomezují se na ně, ty heterocyklické kruhy uvedené dále, jako jsou morfolino, piperazin a podobné, např. 4-hydroxypiperidiny, 4-aminopiperidiny. Kde R_1 a R_2 dohromady tvoří piperazinovou skupinu



přičemž R_7 může být vodíkový atom nebo substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, aryl nebo alkylarylová část.

V ještě dalším provedení vynálezu R_4 a R_5 dohromady tvoří heterocyklický kruh, např.



přičemž heterocyklický kruh může být buď aromatický nebo alifatický a může tvořit kruh mající mezi 4 a 12 atomy uhlíku, např. naftyl, fenylcyklohexyl, atd. a může být buď aromatický nebo alifatický, např. cyklohexyl, cyklopentyl.

Heterocyklický kruh může být dále substituován, včetně substituce uhlíkových atomů kruhové struktury jedním nebo více heteroatomy. Alternativně R_4 a R_5 mohou tvořit dohromady heterocyklický kruh, jako jsou ty popsané dále.

V některých provedeních N-6 substituovaný 7-deazapurin není N-6 benzyl nebo N-6 fenylethyl substituovaný. V jiných provedeních R_4 není benzyl nebo fenylethyl substituovaný. Ve výhodných provedeních R_1 a R_2 nejsou oba vodíkové atomy. V ještě dalších výhodných provedeních R_3 není vodík.

Sloučeniny podle vynálezu mohou zahrnovat ve vodě rozpustná proléčiva, která jsou popsána ve WO 1999/033815, mezinárodní přihlášce PCT/US1998/004595, podané 9.března 1998 a zveřejněné 6.července 1999. Úplný obsah WO 1999/033815 je sem výslovně začleněn odkazem. Ve vodě rozpustná proléčiva jsou metabolizována *in vivo* na aktivní léčivo, např. hydrolýzou katalyzovanou esterasou. Příklady potenciálních proléčiv zahrnují deazapuriny s například R_2 jako cykloalkylem substituovaným s $-\text{OC(O)}(\text{Z})\text{NH}_2$, kde Z je vedlejší řetězec přirozeně nebo jinak se vyskytující aminokyseliny, nebo její analog, α , β , χ nebo ω aminokyselin, nebo dipeptidu. Výhodné aminokyselinové vedlejší řetězce zahrnují řetězce glycinu, alaninu, valinu, leucinu, isoleucinu, lysinu, α -methylalaninu,

aminocyklopropankarboxylové kyseliny, azetidin-2-karboxylové kyseliny, β -alaninu, χ -aminomáselné kyseliny, alanin-alaninu nebo glycin-alaninu.

V dalším provedení označuje vynález deazapuriny vzorce (I), kde R_1 je vodík; R_2 je substituovaný nebo nesubstituovaný cykloalkyl, substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, nebo R_1 a R_2 dohromady tvoří substituovaný nebo nesubstituovaný heterocyklický kruh; R_3 je substituovaný nebo nesubstituovaný aryl; R_4 je vodík; a R_5 a R_6 jsou každý nezávisle vodík nebo alkyl, a jejich farmaceuticky přijatelné soli. Deazapuriny podle tohoto provedení mohou být potenciálně selektivní antagonisty A_3 receptoru.

V jednom provedení R_2 je substituovaný (např. hydroxy- substituovaný) nebo nesubstituovaný cykloalkyl. Ve výhodném provedení R_1 a R_4 jsou vodík, R_3 je nesubstituovaný nebo substituovaný fenyl, a R_5 a R_6 jsou každý alkyl. Přednostně R_2 je mono-hydroxycyklopentyl nebo mono-hydroxycyklohexyl, R_2 také může být substituovaný s $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})\text{E}$, kde E je substituovaný nebo nesubstituovaný $\text{C}_1\text{-C}_4$ alkyl (např. alkylamin, jako ethylamin).

R_1 a R_2 mohou dohromady tvořit substituovaný nebo nesubstituovaný heterocyklický kruh, který může být substituovaný aminovou nebo acetamidovou skupinou.

Z ještě dalšího hlediska R_2 může být $-\text{A}-\text{NHC}(=\text{O})\text{B}$, kde A je nesubstituovaný $\text{C}_1\text{-C}_4$ alkyl (jako ethyl, propyl, butyl) a B je substituovaný nebo nesubstituovaný $\text{C}_1\text{-C}_4$ alkyl (jako methyl, aminoalkyl, např. aminomethyl nebo aminoethyl, alkylamino jako methylamino, ethylamino), přednostně, když R_1 a R_4 jsou vodík, R_3 je nesubstituovaný nebo substituovaný fenyl, a R_5 a R_6 jsou každý alkyl. B může být substituovaný nebo nesubstituovaný cykloalkyl, např. cyklopropyl nebo 1-amino-cyklopropyl.

V jiném provedení R_3 může být substituovaný nebo nesubstituovaný fenyl, přednostně když R_5 a R_6 jsou každý alkyl. Přednostně R_3 může mít

jeden nebo více substituentů (např. o-, m- nebo p- chlorfenyl, o-, m- nebo p- fluorfenyl).

Výhodně může být R_3 substituovaný nebo nesubstituovaný heteroaryl, přednostně když R_5 a R_6 jsou každý alkyl. Příklady heteroarylových skupin zahrnují pyridyl, pyrimidyl, pyridaziny, pyrazinyl, pyrrol, triazol, thiazol, oxazol, oxadiazol, furan, methylenedioxyfenyl a thiofenyl. Přednostně R_3 je 2-pyridyl, 3-pyridyl, 4-pyridyl, 2-pyrimidyl nebo 3-pyrimidyl.

Přednostně v jednom provedení R_5 a R_6 je každý vodík. V jiném R_5 a R_6 jsou každý methyl.

Ve zvláště výhodném provedení jsou deazapuriny podle vynálezu ve vodě rozpustná léčiva, která mohou být metabolizována *in vivo* na aktivní léčivo, např. hydrolýzou katalyzovanou esterasou. Přednostně obsahuje léčivo R_2 skupinu, kterou je cykloalkyl substituovaný s $-OC(O)(Z)NH_2$, kde Z je vedlejší řetězec přirozeně nebo jinak se vyskytující aminokyseliny, nebo její analog, α , β , γ nebo ω aminokyseliny, nebo dipeptidu. Příklady výhodných vedlejších řetězců zahrnují vedlejší řetězce glycinu, alaninu, valinu, leucinu, isoleucinu, lysinu, α -methylalaninu, aminocyklopropankarboxylové kyseliny, azetidin-2-karboxylové kyseliny, β -alaninu, γ -aminomáselné kyseliny, alanin-alaninu nebo glycin-alaninu.

Ve zvláště výhodném provedení Z je vedlejší řetězec glycinu, R_2 je cyklohexyl, R_3 je fenyl, a R_5 a R_6 jsou methyl.

V jiném provedení je deazapurinem 4-(*cis*-3-hydroxycyklopentyl)-amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

V jiném provedení je deazapurinem 4-(*cis*-3-(2-aminoacetoxy)cyklopentyl)-amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin, sůl kyseliny trifluoroctové.

V jiném provedení je deazapurinem 4-(3-acetamido)piperidinyl-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

V jiném provedení je deazapurinem 4-(2-N'-methylureapropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

V jiném provedení je deazapurinem 4-(2-acetamidobutyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

V jiném provedení je deazapurinem 4-(2-N'-methylureabutyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

V jiném provedení je deazapurinem 4-(2-aminocyklopropylacetamidoethyl)amino-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

V jiném provedení je deazapurinem 4-(*trans*-4-hydroxycyklohexyl)amino-2-(3-chlorfenyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

V jiném provedení je deazapurinem 4-(*trans*-4-hydroxycyklohexyl)amino-2-(3-fluorfenyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

V jiném provedení je deazapurinem 4-(*trans*-4-hydroxycyklohexyl)amino-2-(4-pyridyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

V ještě dalším provedení se vynález týká metody inhibice aktivity adenosinového receptoru (např. A₁, A_{2a}, A_{2b} nebo výhodně A₃) v buňce, uvedením do kontaktu buňky s N-6 substituovaným 7-deazapurinem (např. přednostně antagonistou adenosinového receptoru).

V dalším provedení se vynález týká způsobu léčení poškození očí u savců (např. člověka) podáváním savci účinného množství N-6 substituovaného 7-deazapurinu. Přednostně N-6 substituovaný 7-deazapurin je antagonistou A₃ adenosinových receptorů v buňkách savce. Poškození se týká sítnice nebo optického nervu hlavy a může být akutní nebo chronické.

Poškození může být výsledkem například glaukomu, edemu, ischémie, hypoxie nebo traumatu.

Ve výhodném provedení se vynález týká deazapurinu majícího vzorec II, *supra*, kde X je N nebo CR₆; R₁ a R₂ jsou každý nezávisle vodík, nebo substituovaný nebo nesubstituovaný alkoxy, aminoalkyl, alkyl, aryl, nebo alkylaryl nebo dohromady tvoří substituovaný nebo nesubstituovaný heterocyklický kruh, s tím, že oba R₁ a R₂ nejsou vodík; R₃ je substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, arylalkyl nebo aryl; R₄ je vodík nebo substituovaný nebo nesubstituovaný C₁-C₆alkyl; L je vodík, substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, nebo R₄ a L dohromady tvoří substituovaný nebo nesubstituovaný heterocyklický nebo karbocyklický kruh; R₆ je vodík, substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, nebo halogen; Q je CH₂, O, S nebo NR₇, přičemž R₇ je vodík nebo substituovaný nebo nesubstituovaný C₁-C₆alkyl; a W je substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, cykloalkyl, alkynyl, aryl, arylalkyl, biaryl, heteroaryl, substituovaný karbonyl, substituovaný thiokarbonyl, nebo substituovaný sulfonyl, s tím, že pokud R₃ je pyrrolidino, potom R₄ není methyl.

V jednom provedení ve sloučeninách vzorce II, X je CR₆ a Q je CH₂, O, S nebo NH. V jiném provedení X je N.

V ještě dalším provedení sloučenin vzorce II, W je substituovaný nebo nesubstituovaný aryl, 5- nebo 6-členný heteroaryl nebo biaryl. W může být substituovaný jedním nebo více substituenty. Příklady substituentů zahrnují: halogen, hydroxy, alkoxy, amino, aminoalkyl, aminokarboxamid, CN, CF₃, CO₂R₈, CONHR₈, CONR₈R₉, SOR₈, SO₂R₈ a SO₂NR₈R₉, přičemž R₈ a R₉ jsou každý nezávisle vodík nebo substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl nebo arylalkyl. Přednostně W může být substituovaný nebo nesubstituovaný fenyl, např. methyendioxyfenyl. W také může být substituovaný nebo nesubstituovaný 5-členný heteroarylový kruh, jako pyrrol, pyrazol, oxazol, imidazol, triazol, tetrazol. Furan, thiofen, thiazol a oxadiazol. Přednostně W může být 6-členný heteroarylový kruh, např. pyrodyl, pyrimidyl, pyridaziny, pyrazinal a thiofenyl. Ve výhodném

provedení W je 2-pyridyl, 3-pyridyl, 4-pyridyl, 2-pyrimidyl, 4-pyrimidyl nebo 5-pyrimidyl.

V jednom výhodném provedení sloučenin vzorce II, Q je NH a W je 3-pyrazolový kruh, který je nesubstituovaný nebo N-substituovaný substituovaným nebo nesubstituovaným alkylem, cykloalkylem, arylem nebo arylalkylem.

V jiném provedení sloučenin vzorce II, Q je kyslík, a W je 2-thiazolový kruh, který je substituovaný nebo nesubstituovaný substituovaným nebo nesubstituovaným alkylem, cykloalkylem, arylem nebo arylalkylem.

V jiném provedení sloučenin vzorce II, W je substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, cykloalkyl např. cyklopentyl nebo arylalkyl. Příklady substituentů zahrnují halogen, hydroxy, substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, arylalkyl nebo NHR_{10} , kde R_{10} je vodík, nebo substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl nebo arylalkyl.

V ještě dalším provedení se vynález týká deazapurinu vzorce II, kde W je $-(\text{CH}_2)_a-\text{C}(=\text{O})\text{Y}$ nebo $-(\text{CH}_2)_a-\text{C}(=\text{S})\text{Y}$, a je celé číslo od 0 do 3, Y je aryl, alkyl, arylalkyl, cykloalkyl, heteroaryl, alkynyl, $\text{NHR}_{11}\text{R}_{12}$, nebo, s podmínkou, že Q je NH, OR_{13} , kde R_{11} , R_{12} a R_{13} jsou každý nezávisle vodík nebo substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, aryl, arylalkyl nebo cykloalkyl. Přednostně Y je 5- nebo 6-členný heteroarylový kruh.

Dále W může být $-(\text{CH}_2)_b-\text{S}(=\text{O})_3\text{Y}$, kde j je 1 nebo 2, b je 0, 1, 2 nebo 3, Y je aryl, alkyl, arylalkyl, cykloalkyl, alkynyl, heteroaryl, $\text{NHR}_{14}\text{R}_{15}$, s tím, že když b je 1, Q je CH_2 , a kde R_{14} , R_{15} a R_{16} jsou každý nezávisle vodík, nebo substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, aryl, arylalkyl nebo cykloalkyl.

V jiném provedení R_3 je zvolen ze skupiny sestávající ze substituovaného nebo nesubstituovaného fenylu, pyridylu, pyrimidylu, pyridazinyly, pyrazinalu, pyrrolylu, triazolyly, thioazolyly, oxazolyly,

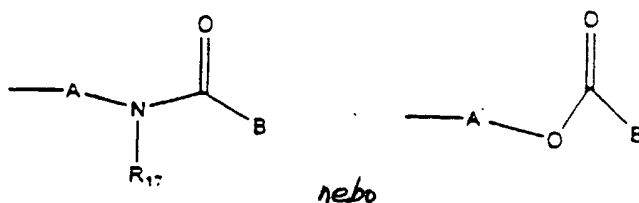
oxadiazolyly, pyrazolyly, furanyly, methylendioxyfenyly a thiofenyly. Když R_3 je fenyl, může být substituovaný například hydroxylem, alkoxy (jako methoxy), alkylem (jako toylem) a halogenem (jako o-, m-, nebo p- fluor-fenylem, nebo o-, m- nebo p- chlorfenylem). Výhodně R_3 může být 2-, 3-, nebo 4- pyridyl nebo 2- nebo 3- pyrimidyl.

Vynález se také týká deazapurinu, kde R_6 je vodík nebo C_1 - C_3 alkyl. Přednostně R_6 je vodík.

Vynález také zahrnuje deazapuriny, kde R_1 je vodík a R_2 je substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl nebo alkoxy, substituovaný nebo nesubstituovaný alkylamin, arylamin nebo alkylarylamin, substituovaný nebo nesubstituovaný aminoalkyl, aminoaryl nebo aminoalkylaryl, substituovaný nebo nesubstituovaný alkylamid, arylamid nebo alkylarylamid, substituovaný nebo nesubstituovaný alkylsulfonamid, arylsulfonamid nebo alkylarylsulfonamid, substituovaná nebo nesubstituovaná alkylmočovina, arylmočovina nebo alkylarylmočovina, substituovaný nebo nesubstituovaný alkylkarbamát, arylkarbamát nebo alkylarylkarbamát, nebo substituovaná nebo nesubstituovaná alkylkarboxylová kyselina, arylkarboxylová kyselina nebo alkylarylkarboxylová kyselina.

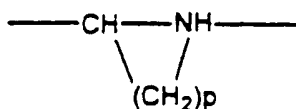
Výhodně R_2 je substituovaný nebo nesubstituovaný cykloalkyl, jako mono- nebo dihydroxy-substituovaný cyklohexyl nebo cyklopentyl (přednostně monohydroxy-substituovaný cyklohexyl nebo monohydroxy-substituovaný cyklopentyl).

Výhodně R_2 může mít následující vzorec:



kde A je C₁-C₆ alkyl, C₃-C₇ cykloalkyl, řetězec s jedním až sedmi atomy, nebo kruh se třemi až sedmi atomy, volitelně substituované s C₁-C₆ alkylem, halogeny, hydroxylem, karboxylem, thiolem nebo aminoskupinami; přičemž

B je methyl, N(Me)₂, N(Et)₂, NHMe, NHEt, (CH₂)_rNH₃⁺, NH(CH₂)_rCH₃, (CH₂)_rNH₂, (CH₂)_rCHCH₂NH₂, (CH₂)_rNHMe, (CH₂)_rOH, CH₂CN, (CH₂)_mCO₂H, CHR₁₈R₁₉, nebo CHMeOH, přičemž r je celé číslo od 0 do 2, m je 1 nebo 2, R₁₈ je alkyl, R₁₉ je NH₃⁺ nebo CO₂H nebo R₁₈ a R₁₉ dohromady jsou :



kde p je 2 nebo 3; a

R₁₇ je C₁-C₆ alkyl, C₃-C₇ cykloalkyl, řetězec s jedním až sedmi atomy, nebo kruh se třemi až sedmi atomy, volitelně substituované s C₁-C₆ alkylem, halogeny, hydroxylem, thiolem nebo aminoskupinami.

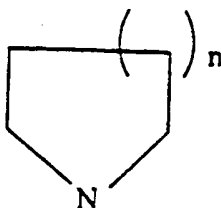
Výhodně A je substituovaný nebo nesubstituovaný C₁-C₆ alkyl. B může být substituovaný nebo nesubstituovaný C₁-C₆ alkyl.

Ve výhodném provedení R₂ je vzorce -A-NHC(=O)B. Ve zvláště výhodném provedení A je -CH₂CH₂- a B je methyl.

Sloučeniny podle vynálezu mohou zahrnovat ve vodě rozpustná proléčiva, která jsou metabolizována *in vivo* na aktivní léčivo, např. hydrolýzou katalyzovanou esterasou. Příklady potenciálních proléčiv zahrnují deazapuriny s například R₂ jako cykloalkylem substituovaným s -OC(O)(Z)NH₂, kde Z je vedlejší řetězec přirozeně nebo jinak se vyskytující aminokyseliny, nebo její analog, α, β, γ nebo ω aminokyseliny, nebo dipeptidu. Příklady aminokyselinových vedlejších řetězců zahrnují vedlejší

řetězce glycinu, alaninu, valinu, leucinu, isoleucinu, lysinu, α -methylalaninu, aminocyklopropankarboxylové kyseliny, azetidin-2-karboxylové kyseliny, β -alaninu, χ -aminomáselné kyseliny, alanin-alaninu nebo glycin-alaninu.

V jiném výhodném provedení R_1 a R_2 dohromady jsou :



kde n je 1 nebo 2 a kde kruh může být volitelně substituovaný jedním nebo více hydroxyly, amino, thiolem, karboxylem, halogenem, CH_2OH , $\text{CH}_2\text{NHC}(=\text{O})$ alkylem, nebo $\text{CH}_2\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}$ -alkylovými skupinami. Přednostně n je 1 nebo 2 a uvedený kruh je substituovaný s $-\text{NHC}(=\text{O})$ alkylem.

V jednom výhodném provedení R_1 je vodík, R_2 je substituovaný nebo nesubstituovaný $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl, R_3 je substituovaný nebo nesubstituovaný fenyl, R_4 je vodík, L je vodík nebo substituovaný nebo nesubstituovaný $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl, Q je O , S nebo NR_7 , přičemž R_7 je vodík nebo substituovaný nebo nesubstituovaný $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl, a W je substituovaný nebo nesubstituovaný aryl. Přednostně R_2 je $-\text{A-NHC}(=\text{O})\text{B}$, kde A a B jsou každý nezávisle substituovaný nebo nesubstituovaný $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl. Například A může být CH_2CH_2 . B může být například alkyl, (jako methyl) nebo aminoalkyl (jako aminomethyl). Přednostně R_3 je nesubstituovaný fenyl a L je vodík. R_6 může být methyl nebo přednostně vodík. Přednostně Q je O , S nebo NR_7 , kde R_7 je vodík nebo substituovaný nebo nesubstituovaný $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl, jako methyl. W je nesubstituovaný nebo substituovaný fenyl (jako alkoxy, halogen substituovaný). Přednostně W je p -fluorfenyl, p -chlorfenyl, nebo p -methoxyfenyl. W může také být heteroaryl, jako 2-pyridyl.

Ve zvláště výhodném provedení je deazapurinem 4-(2-acetyl-aminoethyl)amino-6-fenoxymethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

Ve zvláště výhodném provedení je deazapurinem 4-(2-acetyl-aminoethyl)amino-6-(4-fluorfenoxy)methyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin.

Ve zvláště výhodném provedení je deazapurinem 4-(2-acetyl-aminoethyl)amino-6-(4-chlorfenoxy)methyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin.

Ve zvláště výhodném provedení je deazapurinem 4-(2-acetyl-aminoethyl)amino-6-(4-methoxyfenoxy)methyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin.

Ve zvláště výhodném provedení je deazapurinem 4-(2-acetyl-aminoethyl)amino-6-(2-pyridyloxy)methyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin.

Ve zvláště výhodném provedení je deazapurinem 4-(2-acetyl-aminoethyl)amino-6-(N-fenylamino)methyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin.

Ve zvláště výhodném provedení je deazapurinem 4-(2-acetyl-aminoethyl)amino-6-(N-methyl-N-fenylamino)methyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin.

Ve zvláště výhodném provedení je deazapurinem 4-(2-N'-methyl-ureaethyl)amino-6-fenoxymethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin.

Vynález se dále týká metody inhibice aktivity adenosinového receptoru (např. A_{2b} adenosinového receptoru) v buňce uvedením do kontaktu buňky se sloučeninou podle vynálezu. Přednostně je sloučeninou antagonistu receptoru.

Vynález se také týká metody léčení gastrointestinálních chorob (např. průjmu) u živočicha podáváním živočichovi účinného množství sloučeniny podle vynálezu (např. antagonisty A_{2b}). Přednostně je živočichem člověk.

V jiném provedení se vynález týká farmaceutického prostředku obsahujícího N-6 substituovaný 7-deazapurin podle vynálezu a farmaceuticky přijatelný nosič.

Vynález se také týká metody léčení stavu odezvy na N-6 substituovaný 7-deazapurin u živočichů, podáváním terapeuticky účinného množství deazapurinu podle vynálezu savci, takže u savce dojde k léčení stavu citlivého na N-6 substituovaný 7-deazapurin. Výhodně může být chorobným stavem porucha zprostředkovaná adenosinem. Příklady preferovaných chorobných stavů zahrnují: poruchy centrální nervové soustavy, kardiovaskulární choroby, renální poruchy, zánětové choroby, alergické choroby, gastrointestinální choroby, oční nemoci a nemoci respirační.

Termín „alkyl“ označuje radikál nasycených alifatických skupin, zahrnující přímé řetězce alkylových skupin, větvené řetězce alkylových skupin, cykloalkylové (alicyklické) skupiny, alkyl substituované cykloalkylové skupiny, a cykloalkyl substituované alkylové skupiny. Termín alkyl dále zahrnuje alkylové skupiny, které mohou dále zahrnovat kyslík, dusík, síru nebo atomy fosforu, nahrazující jeden nebo více uhlíků uhlovodíkového řetězce, např. kyslík, dusík, síru nebo atomy fosforu. Ve výhodných provedeních má přímý nebo větvený alkylový řetězec 30 nebo méně uhlíkových atomů ve svém základním řetězci (např. C_1 - C_{30} pro přímý řetězec, C_3 - C_{30} pro větvený řetězec), a výhodněji 20 nebo méně. Obdobně výhodné cykloalkyly mají od 4 do 10 uhlíkových atomů ve své kruhové struktuře, a výhodněji mají 5, 6 nebo 7 uhlíků v kruhové struktuře.

Navíc se termín alkyl používá v celém popisu a nárocích a předpokládá se, že zahrnuje jak „nesubstituované alkyly“ tak „substituované alkyly“, tyto posledně jmenované se často označují jako alkylové části mající substituenty nahrazující vodík na jednom nebo více uhlících uhlovodíkového řetězce. Tyto

substituenty mohou zahrnovat například halogen, hydroxyl, alkylkarbonyloxy, arylkarbonyloxy, alkoxykarbonyloxy, aryloxykarbonyloxy, karboxylát, alkylkarbonyl, alkoxykarbonyl, aminokarbonyl, alkylthiokarbonyl, alkoxy, fosfát, fosfonát, fosfinát, kyano, amino (včetně alkylamino, dialkylamino, arylamino, diarylamino a alkylarylamino), acylamino (včetně alkylkarbonylamino, arylkarbonylamino, karbamoyl a ureido), amidino, imino, sulfohydrl, alkylthio, arylthio, thiokarboxylát, sulfáty, sulfonáto, sulfamoyl, sulfonamid, nitro, trifluormethyl, kyano, azido, heterocyklyl, alkylaryl, nebo aromatickou nebo heteroaromatickou část. Pro odborníka v dané oblasti je zřejmé, že části substituované na uhlovodíkovém řetězci mohou být samy o sobě substituované, pokud je to vhodné. Cykloalkyly mohou být dále substituovány, např. substituenty popsány výše. „Alkylarylová“ část je alkyl substituovaný arylem (např. fenylmethyl(benzyl)). Termín „alkyl“ také zahrnuje nenasyčené alifatické skupiny analogické v délce a možné substituci k alkylům popsáným výše, ale které obsahují alespoň jednu dvojnou nebo trojnou vazbu.

Termín „aryl“ jak se zde používá označuje radikál arylových skupin, včetně 5- a 6-členných jednokruhových aromatických skupin, které mohou zahrnovat od nuly do čtyř heteroatomů, např. benzen, pyrrol, furan, thiofen, imidazol, benzoxazol, benzothiazol, triazol, tetrazol, pyrazol, pyridin, pyrazin, pyridazin a pyrimidin, a podobné. Arylové skupiny také zahrnují polycyklické kondenzované aromatické skupiny jako je naftyl, chinolyl, indolyl a podobné. Tyto arylové skupiny mající heteroatomy v kruhové struktuře mohou být také označeny jako „arylové heterocykly“, „heteroaryly“ nebo „heteroaromáty“. Heteroaromatický kruh může být substituován na jednom nebo více místech kruhu s takovými substituenty, jako jsou popsány výše, jako je například halogen, hydroxyl, alkoxy, alkylkarbonyloxy, arylkarbonyloxy, alkoxykarbonyloxy, aryloxykarbonyloxy, karboxylát, alkylkarbonyl, alkoxykarbonyl, aminokarbonyl, alkylthiokarbonyl, fosfát, fosfonáto, fosfináto, kyano, amino (včetně alkylamino, dialkylamino, arylamino, diarylamino a alkylarylamino), acylamino (včetně alkylkarbonylamino, arylkarbonylamino, karbamoyl a ureido), amidino, imino, sulfohydrl, alkylthio, arylthio, thiokarboxylát, sulfáty, sulfonáto, sulfamoyl,

sulfonamid, nitro, trifluormethyl, kyano, azido, heterocyklyl, alkylaryl, nebo aromatickou nebo heteroaromatickou část. Arylové skupiny mohou být také kondenzovány nebo přemostěny alicyklickými nebo heterocyklickými kruhy, které nejsou aromatické, takže tvoří polycykly (např. tetralin).

Termíny „alkenyl“ a „alkynyl“ označují nenasycené alifatické skupiny analogické v délce a možné substituci k alkylům popsaným výše, ale které obsahují alespoň jednu dvojnou nebo trojnou vazbu. Například vynález předpokládá kyano a propargylové skupiny.

Pokud nebude počet uhlíků jinak specifikován, „nižší alkyl“, jak se zde používá, označuje alkylovou skupinu, jak je definována výše, ale mající od jednoho do deseti uhlíků, výhodněji od jednoho do šesti uhlíkových atomů ve své základní struktuře, dokonce ještě výhodněji jeden až tři uhlíkové atomy na své struktuře základního řetězce. Obdobně „nižší alkenyl“ a „nižší alkynyl“ mají podobné délky řetězce.

Termín „alkoxyalkyl“, „polyaminoalkyl“ a „thioalkoxyalkyl“ označují alkylové skupiny, jak jsou popsány výše, které dále zahrnují kyslík, dusík nebo atomy síry nahrazující jeden nebo více uhlíkových atomů v uhlovodíkovém základním řetězci, např. kyslík, dusík nebo atomy síry.

Termín „polycyklyl“ nebo „polycyklický radikál“ označuje radikál dvou nebo více cyklických kruhů (např. cykloalkylů, cykloalkenylů, cykloalkynylů, arylů a/nebo heterocyklylů), v němž dva nebo více uhlíků jsou společné ke dvěma vedlejším kruhům, např. kruhy jsou „kondenzované kruhy“. Kruhy, které jsou spojeny přes nesousedící atomy jsou označeny „můstkové“ kruhy. Každý z kruhů polycyklu může být substituován substituenty popsanými výše, jako je například halogen, hydroxyl, alkylkarbonyloxy, arylkarbonyloxy, alkoxykarbonyloxy, aryloxykarbonyloxy, karboxylát, alkylkarbonyl, alkoxykarbonyl, aminokarbonyl, alkylthiokarbonyl, alkoxyl, fosfát, fosfonát, fosfinát, kyano, amino (včetně alkylamino, dialkylamino, arylamino, diarylamino a alkylarylamino), acylamino (včetně alkylkarbonylamino, arylkarbonylamino, karbamoyl a ureido), amidino, imino, sulfhydryl, alkylthio,

arylthio, thiokarboxylát, sulfáty, sulfonáto, sulfamoyl, sulfonamid, nitro, trifluormethyl, kyano, azido, heterocyklyl, alkyl, alkylaryl, nebo aromatickou nebo heteroaromatickou část.

Termín „heteroatom“, jak se zde používá, označuje atom jakéhokoliv prvku jiného než je uhlík nebo vodík. Výhodnými heteroatomy jsou dusík, kyslík, síra nebo fosfor.

Termín „aminokyseliny“ zahrnuje přirozeně i jinak se vyskytující aminokyseliny nalezené v proteinech, jako je glycin, alanin, valin, cystein, leucin, isoleucin, serin, threonin, methionin, kyselina glutamová, kyselina aspartová, glutamin, asparagin, lysin, arginin, prolin, histidin, fenylalanin, tyrosin a tryptofan. Analogy aminokyselin zahrnují aminokyseliny s prodlouženými nebo zkrácenými vedlejšími řetězci s příslušnými funkčními skupinami. Aminokyseliny také zahrnují D a L stereoisomery aminokyselin, kdy struktura aminokyseliny připouští stereoisomerní formy. Termín „dipeptid“ zahrnuje dvě nebo více aminokyselin spojených dohromady. Přednostně jsou dipeptidy dvě aminokyseliny spojené přes peptidovou vazbu. Zvláště výhodné dipeptidy zahrnují, ale neomezují se na ně, například alanin-alanin a glycin-alanin.

Je třeba poznamenat, že struktura některých sloučenin podle tohoto vynálezu zahrnuje asymetrické uhlíkové atomy a tudíž se vyskytují jako racemáty a racemické směsi, jednotlivé enantiomery, diastereomerní směsi a jednotlivé diastereomery. Všechny takové isomerní formy těchto sloučenin jsou výslovně uvedeny v tomto vynálezu. Každý stereogenní uhlík může být s R nebo S konfigurací. Je zřejmé, že isomery vyvstávající z takové asymetrie (např. všechny enantiomery a diastereomery) jsou zahrnuty do rozsahu tohoto vynálezu, pokud není uvedeno jinak. Tyto isomery mohou být získány v podstatě čisté formě klasickými separačními postupy a stereochemicky regulovanými syntézami.

Vynález se dále týká farmaceutických prostředků pro léčení stavů citlivých na N-6 substituovaný 7-deazapurin u savců, jako jsou respirační

choroby (např. astma, bronchitida, chronická obstrukční plicní nemoc, alergická rýma), choroby ledvin, gastrointestiální nemoci a oční nemoci. Farmaceutický prostředek zahrnuje terapeuticky účinná množství N-6 substituovaného 7-deazapurinu, popsaného *supra*, a farmaceuticky přijatelný nosič. Musí být zřejmé, že všechny deazapuriny popsané výše jsou zahrnuty pro léčebné použití. Dále musí být zřejmé, že deazapuriny podle vynálezu mohou být použity samotné nebo v kombinaci s jinými deazapuriny podle vynálezu nebo v kombinaci s dalšími léčebnými sloučeninami, jako jsou například antibiotika, protizáněťové látky nebo protirakovinné látky.

Termín „antibiotika“ je ve stavu techniky definován a předpokládá se, že zahrnuje takové látky produkované růstem mikroorganismů a jejich syntetickými deriváty, které eliminují nebo inhibují růst patogenů a jsou selektivně toxické vůči patogenům, přičemž produkují minimální nebo žádný nežádoucí účinek při infikování hostitelského subjektu. Vhodné příklady antibiotik zahrnují, ale neomezují se na ně, základní třídy aminoglykosidů, cefalosporinů, chloramfenikoly, makrolidy, peniciliny, polymixiny, tetracykliny a streptomyciny.

Termín „protizáněťový“ je ve stavu techniky definován a předpokládá se, že zahrnuje takové látky, které působí na tělesný mechanismus bez přímého antagonizování látky vyvolávající zánět, jako jsou glukokortikoidy, aspirin, ibuprofen, NSAIDS atd.

Termín „protirakovinné látky“ je ve stavu techniky definován a předpokládá se, že zahrnuje takové látky, které omezují, vymytí nebo působí preventivně na růst rakovinných buněk, přednostně bez nežádoucího ovlivňování jiných fyziologických funkcí. Reprezentativní příklady zahrnují cisplatinu a cyklofosfamid.

Pokud jsou sloučeniny podle předloženého vynálezu podávány jako farmaceutické látky, lidem nebo savcům, mohou být podávány jako takové nebo jako farmaceutické prostředky obsahující například 0,1 až 99,5 %

(výhodněji 0,5 až 90 %) účinné složky v kombinaci s farmaceuticky přijatelným nosičem.

Termín „farmaceuticky přijatelný nosič“, jak se zde používá, označuje farmaceuticky přijatelný materiál, kompozici nebo vehikulum, jako je kapalné nebo pevné plnivo, ředidlo, excipient, rozpouštědlo nebo zapouzdřovací materiál, zapojený do nesení nebo transportu sloučeniny (sloučenin) podle předloženého vynálezu v nebo do subjektu tak, že se zde může realizovat jeho předpokládaná funkce. Typicky jsou tyto sloučeniny nesený nebo transportovány z jednoho orgánu nebo části těla do jiného orgánu nebo části těla. Každý nosič musí být „přijatelný“ ve smyslu, že je kompatibilní s ostatními složkami složení a je nezávadný k pacientovi. Některé příklady materiálů, které mohou sloužit jako farmaceuticky přijatelné nosiče, zahrnují: cukry, jako je laktosa, glukosa a sacharosa; škroby, jako je kukuřičný škrob a bramborový škrob; celulosu a její deriváty, jako je karboxymethylcelulosa sodná, ethylcelulosa a acetát celulosy; práškový tragant, slad; želatina, talek; excipienty, jako je kakaové máslo a čípkové vosky; oleje, jako je arašídový olej; olej z bavlníkových semen, slunečnicový olej, sezamový olej, olivový olej, kukuřičný olej a sojový olej; glykoly, jako je propylenglykol; polyoly, jako je glycerin, sorbitol, mannitol a polyethylenglykol; estery, jako je ethyloleát a ethyllaurát; agar; pufrovací látky, jako je hydroxid hořečnatý a hydroxid hlinitý; kyselina alginová; voda prostá pyrogenu; isotonický fyziologický roztok; Ringerův roztok; ethylalkohol; roztoky fosfátových pufrů; a jiné netoxické kompatibilní látky použité ve farmaceutických složeních.

Jak je uvedeno výše, některá provedení předložených sloučenin mohou obsahovat báze funkční skupiny, jako je aminoskupina nebo alkyl-aminoskupina, a jsou tedy schopné tvořit farmaceuticky přijatelné soli s farmaceuticky přijatelnými kyselinami. Termín „farmaceuticky přijatelné soli“ se týká, z tohoto hlediska, relativně netoxických adičních solí sloučenin podle vynálezu s anorganickými a organickými kyselinami. Tyto soli mohou být připraveny in situ během finální izolace a purifikace sloučenin podle vynálezu, nebo samostatnou reakcí purifikované sloučenina podle vynálezu

v její volné bázecké formě s vhodnou organickou nebo anorganickou kyselinou, a izolováním takto vytvořené soli. Reprezentativní soli zahrnují hydrobromidové, hydrochloridové, síranové, hydrogensíranové, fosfátové, dusičnanové, acetátové, valerátové, oleátové, palmitátové, stearátové, laurátové, benzoátové, laktátové, fosfátové, tosylátové, citrátové, maleátové, fumarátové, sukcinátové, vlnanové, naftylátové, mesylátové, glukohéptanoátové, laktobionátové a laurylsulfonátové soli a podobné. (viz např. Beerge a kol., (1977) „Pharmaceutical Salts“, J. Pharm. Sci. 66:1-19).

V jiných případech mohou sloučeniny podle předloženého vynálezu obsahovat jednu nebo více kyselinových funkčních skupin, a tudíž jsou schopné tvořit farmaceuticky přijatelné soli s farmaceuticky přijatelnými bázemi. Termín „farmaceuticky přijatelné soli“ označuje v těchto případech relativně netoxické adiční soli sloučenin podle předloženého vynálezu s anorganickými a organickými bázemi. Tyto soli mohou být připraveny podobně in situ během finální izolace a purifikace sloučenin, nebo samostatnou reakcí purifikované sloučeniny v její volné kyselé formě s vhodnou bází, jako je hydroxid, uhličitán nebo hydrogenuhličitán kationtu farmaceuticky přijatelného kovu, s amoniem, nebo s farmaceuticky přijatelným organickým primárním, sekundárním nebo terciárním aminem. Reprezentativní alkalické soli nebo soli alkalických zemin zahrnují lithné, sodné, draselné, vápenaté, hořečnaté a hlinité soli a podobné. Reprezentativní organické aminy vhodné pro tvorbu bázeckých adičních solí zahrnují ethylamin, diethylamin, ethylendiamin, ethanolamin, diethanolamin, piperazin a podobné.

Termín „farmaceuticky přijatelné estery“ se týká relativně netoxických, esterifikovaných produktů sloučenin podle předloženého vynálezu. Tyto estery mohou být připraveny in situ během finální izolace a purifikace sloučenin, nebo odděleně reakcí purifikované sloučeniny v její volné kyselinové formě nebo hydroxyly s vhodným esterifikačním činidlem. Karboxylové kyseliny mohou být konvertovány na estery přes zpracování s alkoholem za přítomnosti katalyzátoru. Deriváty obsahující hydroxyl mohou být konvertovány na estery přes zpracování s esterifikačním činidlem,

jako jsou alkanoylhalogenidy. Dále se předpokládá, že termín zahrnuje nižší uhlovodíkové skupiny schopné býti solvatovány za fyziologických podmínek, jako jsou alkylestery, methyl-, ethyl- a propylestery. (viz např. Berge a kol., supra.)

Vynález se dále týká použití proléčiv, která jsou konvertována in vivo na léčebné sloučeniny podle vynálezu (viz např. R. B. Silverman, 1992, „The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action“, Academic Press, Kapitola 8). Tato proléčiva mohou být použita pro úpravu biodistribuce (např. aby se povolily sloučeniny, které by typicky nevstupovaly do reaktivních míst proteasy) nebo farmakokinetiku terapeutických sloučenin. Například karboxylová skupina může být esterifikována např. methylovou skupinou nebo ethylovou skupinou za získání esteru. Když je ester podáván subjektu, ester je štěpen, enzymaticky nebo neenzymaticky, redukčně nebo hydrolyticky, za odhalení aniontové skupiny. Aniontová skupina může být esterifikována s částmi (např. acyloxymethylestery), které jsou štěpeny za získání sloučeniny meziprojektu, která se následně rozkládá za získání aktivní sloučeniny. V jiném provedení je proléčivo v redukované formě síranu nebo sulfonátu, jako je thiol, který je oxidován in vivo na léčebnou sloučeninu. Dále může být aniontová část esterifikována na skupinu, která je aktivně transportována in vivo, nebo která je selektivně odebírána cílovými orgány. Ester může být volen tak, aby umožnil konkrétní specifické cílení terapeutických částí na konkrétní reaktivní místa, jak bude popsáno dále pro části nosičů.

V prostředcích mohou být dále přítomny zvlhčující látky, emulgátory a mazadla, jako je laurylsulfát sodný a stearát hořečnatý, stejně jako barvicí látky, uvolňovací činidla, potahové látky, sladidla, ochucovadla a parfémovací látky, konzervační látky a antioxidanty.

Příklady farmaceuticky přijatelných antioxidantů zahrnují: antioxidanty rozpustné ve vodě, jako je kyselina askorbová, cystein hydrochlorid, hydrogensíran sodný, disiřičitan sodný, siřičitan sodný a pod.; antioxidanty rozpustné v oleji, jako je askorbylpalmitát, butylovaný hydroxylanisol (BHA), butylovaný hydroxytoluen (BHT), lecitin, propylgallát, alfa-tokoferol a

podobné; a kovová chelatační činidla, jako je kyselina citronová, ethylendiamin tetraoctová kyselina (EDTA), sorbitol, kyselina vinná, kyselina fosforečná a podobné.

Složení podle předloženého vynálezu zahrnují taková, která jsou vhodná pro orální, nasální, topická, transdermální, bukalní, sublinguální, rektální, vaginální a/nebo parenterální podávání. Složení mohou být běžně přítomna v jednotkové dávkové formě a mohou být připravena postupy velmi dobře známými ze stavu farmacie. Množství aktivní složky, které může být kombinováno s nosičovým materiálem za získání jednotkové dávkové formy, bude obecně množství sloučeniny, které poskytuje léčebný účinek. Obecně ze sta procent bude toto množství ležet v rozmezí od asi 1 procenta do asi devadesáti devíti procent účinné složky, přednostně od asi 5 procent do asi 70 procent, nejvýhodněji od asi 10 procent do asi 30 procent.

Postupy přípravy těchto složení nebo prostředků zahrnují krok uvedení sloučeniny podle předloženého vynálezu do spojení s nosičem a, popřípadě, jednou nebo více druhotnými složkami. Obecně se složení připravují jednotně a důkladně uvedením do spojení sloučeniny podle předloženého vynálezu a kapalných nosičů, nebo jemně dělených pevných nosičů, nebo obou, a potom, pokud je to nezbytné, tvarováním produktu.

Složení podle vynálezu vhodná pro orální podávání mohou být ve formě kapslí, sáčků, pilulí, tablet, pastilek (používajících ochucené báze, obvykle sacharosu, arabskou gumu a tragant), prášků, granulí nebo jako roztoky nebo suspenze ve vodné nebo nevodné kapalině, nebo jako tekuté emulze oleje ve vodě nebo vody v oleji, nebo jako elixíry nebo sirupy, nebo pastilky (použitím inertní báze, jako je želatina a glycerin, nebo sacharosa a arabská guma) a/nebo ústní vody a podobné, každá obsahující předem stanovené množství sloučeniny podle předloženého vynálezu jako účinné látky. Sloučenina podle předloženého vynálezu může být rovněž podávána jako bolus, lektvar nebo pasta.

V pevných dávkových formách vynálezu pro orální podání (kapsle, tablety, pilule, dražé, prášky, granule a podobné) je účinná složka smísena s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými nosiči, jako je citrát sodný nebo fosforečnan vápenatý, a/nebo některým z následujících: plniv nebo nastavovacích plnidel, jako jsou škroby, laktosa, sacharosa, glukosa, manitol, a/nebo kyselina křemičitá; pojiv jako je například karboxymethylcelulosa, algináty, želatina, polyvinylpyrrolidon, sacharosa a/nebo arabská guma; zvlhčovadel, jako je glycerol; dezintegračních prostředků, jako je agar-agar, uhličitán vápenatý, bramborový nebo tapiokový škrob, kyselina alginová, některé silikáty a uhličitán sodný; roztoků retardačních činidel, jako je parafin; urychlovačů absorpce, jako jsou kvartérní amoniové sloučeniny; zvlhčovacích látek, jako je např. cetylalkohol a glycerol monostearát; absorbentů, jako je kaolin a bentonitový jíl; mazadel, jako je talek, stearát vápenatý, stearát hořečnatý, pevné polyethylenglykoly, lauryl sulfát sodný, a jejich směsi; a barvicích látek. V případě kapslí, tablet a pilulí mohou farmaceutické prostředky také obsahovat pufrovací látky. Pevné kompozice podobného typu mohou být použity jako plniva měkkých a tvrdých želatinových kapslí použitím takových excipientů, jako je laktosa nebo mléčný cukr; stejně jako polyethylenglykoly s vysokou molekulární hmotností, a podobné.

Tablety mohou být vyrobeny lisováním nebo tavením, výhodně s jednou nebo více druhotnými složkami. Lisované tablety mohou být připraveny s použitím pojiva (například želatiny nebo hydroxypropylmethylcelulosity), mazadla, inertního ředidla, konzervační látky, dezintegrační látky (například sodného škrobového glykolátu nebo zesítné karboxymethylcelulosity sodné), povrchově aktivní látky nebo dispergačního činidla. Tavené tablety mohou být připraveny tavením směsi práškové sloučeniny zvlhčené inertním tekutým ředidlem ve vhodném zařízení.

Tablety a další pevné dávkové formy farmaceutických prostředků podle předloženého vynálezu, jako jsou dražé, kapsle, pilule a granule mohou být výhodně opatřeny rýhou nebo povlakem a skořápkou, jako jsou enterosolventní potahy a jiné obaly velmi dobře známé ve farmaceutickém

průmyslu. Rovněž mohou být formulovány tak, aby při užívání poskytly pomalé nebo regulované uvolňování účinné látky, například s hydroxypropylmethylcelulosou v různých poměrech pro zajištění požadovaného profilu uvolňování, s jinými polymerními matricemi, liposomy a/nebo mikrokuličkami, Mohou být sterilizovány například filtrováním přes filtry zachycující bakterie, nebo zabudováním sterilizujících látek ve formě sterilních pevných prostředků, které mohou být rozpuštěny ve sterilní vodě nebo některém jiném sterilním injikovatelném mediu bezprostředně před použitím. Tyto prostředky mohou také volitelně obsahovat kalící látky a mohou být prostředky, které uvolňují účinnou složku(y) pouze, nebo přednostně, v konkrétních místech zažívacího traktu, a volitelně se zpožděným účinkem. Příklady uložených prostředků, které mohou být použity, zahrnují polymerní substance a vosky. Účinná složka může být rovněž v mikro-zapouzdřené formě, pokud je to vhodné, a s jedním nebo více výše uvedenými excipienty.

Tekuté dávkové formy pro orální podávání sloučenin podle předloženého vynálezu zahrnují farmaceuticky přijatelné emulze, mikroemulze, roztoky, suspenze, sirupy a elixíry. Spolu s účinnou složkou mohou kapalně dávkové formy obsahovat inertní ředidla běžně používaná ve stavu techniky, například vodu a jiná rozpouštědla, solubilizační látky a emulgátory, jako je ethylalkohol, isopropylalkohol, ethylkarbonát, ethylacetát, benzylalkohol, benzylbenzoát, propylenglykol, 1,3-butylenglykol, oleje (zvláště z bavlníkových semen, arašídový, kukuřičný, klíčkový, olivový, ricinový a sezamový olej), glycerol, tetrahydrofurfuryl alkohol, polyethylenglykoly a estery mastných kyseliny sorbitanu, a jejich směsi.

Kromě inertních ředidel mohou orální prostředky také zahrnovat pomocné látky, jako jsou zvlhčovací látky, emulgační a suspenzační látky, sladidla, ochucovadla, barvicí látky, vonné látky a konzervační prostředky.

Suspenze mohou spolu s účinnými složkami obsahovat suspenzační látky, jako jsou například ethoxylované isostearylalkoholy, polyoxyethylen

sorbitol a sorbitanové estery, mikrokryсталická celulósa, metahydroxid hlinitý, bentonit, agar-agar a tragant, a jejich směsi.

Složení farmaceutických prostředků podle vynálezu pro rektální nebo vaginální podávání může být prezentováno jako čípky, které mohou být připraveny smísením jedné nebo více sloučenin podle vynálezu s jedním nebo více vhodnými nedráždivými excipienty nebo nosiči obsahujícími například kakaové máslo, polyethylenglykol, čípkový vosk nebo salicylát, a které jsou pevné při teplotě místnosti ale kapalné při teplotě těla, a tudíž roztávají v rektu nebo vaginální dutině a uvolňují účinnou sloučeninu.

Složení podle předloženého vynálezu, která jsou vhodná pro vaginální podávání rovněž zahrnují pesary, tampony, krémy, gely, masti, pěny nebo sprejová složení obsahující takové nosiče, které jsou ze stavu techniky známé pro tyto účely.

Dávkové formy pro topické nebo transdermální podání sloučeniny podle tohoto vynálezu zahrnují prášky, spreje, masti, pasty, krémy, lotiony, gely, roztoky, náplasti a inhalační prostředky. Účinná sloučenina může být mísená za sterilních podmínek s farmaceuticky přijatelným nosičem, s konzervačními látkami, pufry a nebo propelanty, které jsou požadovány.

Masti, pasty, krémy a gely mohou obsahovat spolu s aktivní sloučeninou podle tohoto vynálezu excipienty, jako jsou živočišné a rostlinné tuky, oleje, vosky, parafíny, škrob, tragant, deriváty celulosy, polyethylenglykoly, silikony, bentonity, kyselina křemičitá talek a oxid zinečnatý, a jejich směsi.

Prášky a spreje mohou obsahovat spolu se sloučeninou podle tohoto vynálezu excipienty, jako je laktosa, talek, kyselina křemičitá. Hydroxid hlinitý, vápenatý silikátový a polyamidový prášek, nebo směsi těchto látek. Spreje mohou dále obsahovat běžné propelanty, jako jsou chlorfluoruhlovodíky a těkavé nesubstituované uhlovodíky, jako je butan a propan.

Transdermální náplasti mají další výhodu při poskytování regulovaného uvolňování sloučeniny podle předloženého vynálezu do těla. Tyto dávkové formy mohou být vyrobeny rozpuštěním nebo dispergováním sloučeniny v náležitém mediu. Lze také použít urychlovače absorpce pro zlepšení průchodu sloučeniny skrz kůži. Rychlost tohoto průchodu může být regulována buď membránou regulující rychlost nebo dispergování účinné sloučeniny v polymerní matrici nebo gelu.

Oční složení, oční masti, prášky roztoky a podobné jsou také považovány za zahrnuté do rozsahu předloženého vynálezu. Přednostně je farmaceutický přípravek oftalmickou formulací (jako je periokulární, retrobulbární nebo intraokulární formulace, systémická formulace nebo chirurgický promývací roztok).

Oční složení podle předloženého vynálezu mohou zahrnovat jeden nebo více deazapurinů a farmaceuticky přijatelný nosič. Mohou být použity různé typy nosičů. Nosiče mohou být obecně vodné povahy. Vodné roztoky jsou obecně preferované, založené na konkrétním složení stejně jako schopnosti pacienta snadno podávat takové prostředky kapáním jedné nebo dvou kapek do postižených očí. Nicméně deazapuriny podle předloženého vynálezu mohou být také snadno zabudovány do jiných typů prostředků, jako jsou suspenze, viskózní nebo poloviskózní gely a jiné typy pevných a polopevných prostředků. Oftalmické prostředky podle předloženého vynálezu mohou také zahrnovat různé složky, jako jsou pufrý, konzervační látky, spou-
rozpouštědla a látky pro úpravu viskozity.

Vhodné pufrovací systémy (jako fosfát sodný, acetát sodná a boritan sodný) se mohou přidávat, aby se zabránilo změně pH při skladování.

Oftalmické produkty jsou typicky baleny ve vícedávkové formě. Proto jsou požadovány konzervační látky, aby se zabránilo mikrobiální kontaminaci v průběhu užívání. Vhodné konzervační látky zahrnují: benzalkonium chlorid, thimerosal, chlorbutanol, methylparaben, propylparaben, fenylethylalkohol, edetát disodný, kyselinu sorbovou, polykvaternium-1, nebo jiné látky známé

ze stavu techniky. Tyto konzervační látky jsou typicky používány v množstvích od 0,001 do 1,0 % hmotn./objem.

Pokud jsou deazapuriny podle předloženého vynálezu podávány v průběhu intraokulárních chirurgických postupů, jako retrobulbární nebo periokulární injekcí a intraokulární perfusí nebo injekcí, je nejvýhodnější použití vyvážených solných nedráždivých roztoků. Příklady fyziologicky vyvážených intraokulárních nedráždivých roztoků jsou BSS® Sterile Irrigating Solution a BSS Plus® Sterile Intraocular Irrigating Solution (Alcon Laboratories, Inc., Fort Worth, Texas, USA). Poslední typ roztoku je popsán v patentu US 4 550 022 (Garabedian, a kol.), jehož obsah je zde začleněn v předloženém popisu jako odkaz. Retobulbární a periokulární injekce jsou známé odborníkovi ze stavu techniky a jsou popsány v řadě publikací včetně například *Ophthalmic Surgery: Principle of Practise*, Ed., G. L. Spaeth, W. B. Sanders Co., Filadelfie, PA, USA, str. 85-87 (1990).

Jak je uvedeno výše, použití deazapurinů pro zabránění nebo snížení poškození tkáně retinálního nebo optického nervu na celulární úrovni je zvláště důležitým aspektem jednoho provedení podle vynálezu. Oftalmické stavy, které lze léčit, zahrnují, ale neomezuji se na ně, retinopatii, makulární degeneraci, oční ischemii, glaukom a poškození spojená s poraněním oční tkáně, jako jsou ischemická reperfusní zranění, fotochemická zranění a zranění spojená s oční chirurgií, zvláště zraněními sítnice nebo optického nervu vystavením světlu nebo chirurgickým nástrojům. Sloučeniny mohou být také použity jako doplňky k oční chirurgii, jako injekce sklivce a podspojivkové injekce po oční chirurgii. Sloučeniny mohou být použity pro akutní léčení dočasných stavů, nebo mohou být podávány při chronických, zvláště v případě degenerativních onemocnění. Sloučeniny mohou být rovněž použity preventivně, zvláště před oční chirurgií nebo neinvazivními očními procedurami, nebo jinými typy chirurgie.

Farmaceutické prostředky podle vynálezu vhodné pro parenterální podávání zahrnují jednu nebo více sloučenin podle vynálezu v kombinaci s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými sterilními isotonickými

vodnými nebo nevodnými roztoky, disperzemi, suspenzemi nebo emulzemi, nebo sterilními prášky, které mohou být rekonstituovány na sterilní injekční roztoky nebo disperze právě před použitím, a které mohou obsahovat antioxidanty, pufrы, bakteriostatika, roztoky, které zachovávají složení prostředku isotonické s krví uvažovaného příjemce, nebo suspenzační nebo zahušřovací látky.

Příklady vhodných vodných nebo nevodných nosičů, které mohou být použity ve farmaceutických prostředcích podle vynálezu zahrnují vodu, ethanol, polyoly (jako je glycerol, propylenglykol, polyethylenglykol a podobné), a jejich vhodné směsi, rostlinné oleje, jako je olivový olej, a injikovatelné organické estery, jako je ethyloleát. Příslušná tekutost může být udržována například použitím povlakových materiálů, jako je lecitin, udržováním požadované velikosti částic v případě disperzí, a použitím povrchově aktivních látek.

Tyto prostředky mohou také obsahovat pomocné látky, jako jsou konzervační látky, zvlhčovací látky, emulgátory a dispergační látky. Ochrana před působením mikroorganismů může být zajištěna začleněním různých antibakteriálních a protiplísňových látek, například parabenu, chlorbutanolu, fenolsorbové kyseliny a podobných. Rovněž může být žádoucí začlenit do prostředku isotonická činidla, jako jsou cukry, chlorid sodný a podobné. Dále může být zahrnuta prodloužená absorpce injikovatelné farmaceutické formy vnesením do prostředku látek, které zdržují absorpci, jako je monostearát hlinitý a želatina.

V některých případech, aby se prodloužil účinek léčiva, je vhodné zpomalit absorpci léčiva ze subkutánní nebo intramuskulární injekce. Toho může být dosaženo použitím kapalně suspenze krystalického nebo amorfního materiálu majícího slabou rozpustnost ve vodě. Rychlost absorpce léčiva potom závisí na jeho rychlosti rozpouštění, která naopak, může záviset na velikosti krystalů a krystalické formě. Obdobně je prodloužená absorpce parenterálně podávané léčivé formy dosažena rozpuštěním nebo suspendováním léčiva v olejovém nosiči.

Injekční depotní formy jsou tvořeny mikrozapouzdřenými matricemi předmětné sloučeniny v biologicky odbouratelných polymerech, jako je poly(laktid-polyglykolid). Rychlost uvolňování léčiva může být regulována v závislosti na poměru léčiva ku polymeru a povaze konkrétního použitého polymeru. Příklady dalších biologicky odbouratelných polymerů zahrnují poly(ortoestery) a poly(anhydridy). Depotní injikovatelné prostředky jsou také připraveny zapouzdřením léčiva v liposomech nebo mikroemulsích, které jsou kompatibilní s tělesnou tkání.

Přípravky podle předloženého vynálezu mohou být podávány orálně, parenterálně, topicky nebo rektálně. Samozřejmě jsou podávány ve formách vhodných pro každé podávání. Například jsou podávány ve formě tablet nebo kapslí, injekcemi, inhalacemi, jako oční výplach, mast, čípek, atd., podáváním injekcemi, infusemi nebo inhalacemi; topicky jako lotion nebo mast; a rektálně jako čípky. Orálnímu podávání se dává přednost.

Fráze „parenterální podávání“ a „podávání parenterálně“, jak se zde používá, označuje typy podávání, jiné než enterální nebo topické, obvykle injekcemi, a zahrnuje, bez omezení, intravenosní, intramuskulární, atraarteriální, intrathékální, intrakapsulární, intraorbitální, intrakardiakální, intradermální, intraperitoneální, transtracheální, subkutánní, subkutikulární, intraartikulární, subkapsulární, subarachnoidní, intraspinální a intrasternální injekce a infuse.

Fráze „systémické podávání“, „podáváno systamaticky“, „periferální podávání“ a „podáváno periferálně“, jak se zde používá, označuje podávání sloučeniny, léčiva nebo jiného materiálu jinak než přímo do centrální nervové soustavy, tak, že vstoupí do pacientova systému a je tedy subjektem metabolismu a podobných jiných procesů, například subkutánním podáním.

Tyto sloučeniny mohou být podávány lidem a jiným živočichům pro léčení jakoukoliv vhodnou cestou podávání, včetně orálního, nasálního, jako např. sprejem, rektálního, intravaginálního, parenterálního, intracisternálního

a topického, jako prášky, masti nebo kapky, včetně bukalního a sublinguálního.

Bez ohledu na zvolenou cestu podání, sloučeniny podle předloženého vynálezu, které mohou být použity ve vhodné hydratované formě, a/nebo farmaceutického prostředku podle předloženého vynálezu, jsou formulovány do farmaceuticky přijatelných dávkových forem běžnými postupy známými ze stavu techniky.

Skutečné hladiny dávek účinných složek ve farmaceutických prostředcích podle tohoto vynálezu se mohou měnit tak, aby se získalo množství účinné složky, které je účinné k dosažení požadované léčebné odezvy pro konkrétního pacienta, prostředek a typ podávání, bez toho, že by bylo pro pacienta toxické.

Zvolené hladiny dávek budou záviset na řadě faktorů, včetně aktivity konkrétní sloučeniny použité podle předloženého vynálezu, nebo jejího esteru, soli nebo amidu, cestě podávání, době podávání, rychlosti vylučování konkrétní použité sloučeniny, průběhu léčení, dalších lécích, sloučeninách a/nebo materiálech použitých v kombinaci s konkrétní použitou sloučeninou, věku, pohlaví, hmotnosti, stavu, obecném zdraví a historii předchozího léčení ošetřovaného pacienta a podobných faktorech velmi dobře známých ze stavu techniky v oblasti medicíny.

Lékaři nebo veterináři mající běžné znalosti techniky mohou snadno určit a předepsat efektivní množství požadovaného farmaceutického prostředku. Například lékař nebo veterinář může začít s dávkami sloučenin použitých podle vynálezu ve farmaceutickém prostředku v hladinách nižších než je požadováno pro dosažení potřebného léčebného účinku a postupně dávku zvyšovat, až je dosaženo požadovaného účinku.

Obecně bude vhodnou denní dávkou sloučeniny podle vynálezu takové množství sloučeniny, které je nejnižší dávkou účinnou pro vznik léčebného účinku. Tato účinná dávka bude obecně záviset na faktorech popsáných výše.

Obecně budou intravenosní a subkutánní dávky sloučenin podle vynálezu pro pacienty, když se užívají pro indikované analgetické účinky, v rozmezí od asi 0,0001 do asi 200 mg na kilogram tělesné hmotnosti na den, výhodněji od asi 0,01 do asi 150 mg na kg na den, a dokonce ještě výhodněji od asi 0,2 do asi 140 mg/kg/den.

Pokud je to vhodné, podává se účinná denní dávka účinné sloučeniny ve dvou, třech, čtyřech, pěti, šesti nebo více sub-dávkách podávaných samostatně v příslušných intervalech v průběhu dne, volitelně v jednotkových dávkových formách.

I když je možné podávat sloučeniny podle předloženého vynálezu samotné, je výhodné podávat sloučeniny jako farmaceutické prostředky.

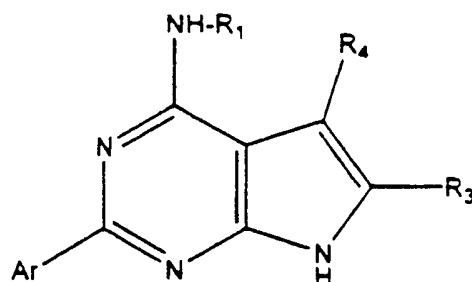
Předložený vynález se také týká balených farmaceutických prostředků pro léčení na N-6 substituovaný 7-deazapurin citlivých stavů, jako je nežádoucí zvýšená aktivita adenosin receptoru u savců. Balené farmaceutické prostředky zahrnují kontejner nesoucí terapeuticky účinné množství alespoň jednoho deazapurinu, jak je popsán *supra*, a instrukce pro použití při léčení stavů citlivých na deazapurin u savců.

Deazapuriny podle vynálezu mohou být připraveny použitím standardních metod pro organické syntézy. Deazapuriny mohou být purifikovány HPLC s reversní fází, chromatografií, rekrytalizací atd., a jejich strukturu potvrdila hmotová spektrální analýza, elementární analýza, IR a/nebo NMR spektroskopie.

Typicky se syntéza meziproduktů, stejně jako deazapurinů podle vynálezu provádí v roztoku. Přidání a odebrání jedné nebo více chránících skupin je také typickým krokem a odborníkům v dané oblasti techniky je známé.

Typická schémata syntéz pro přípravu meziproduktů deazapurinu podle vynálezu jsou uvedena dále ve schématu I.

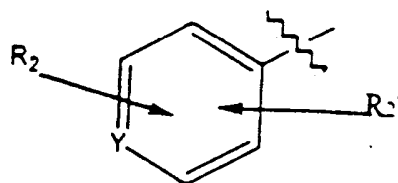
Tento vynález dále poskytuje sloučeninu mající strukturu (IV):



IV

kde R_1 je trans-4-hydroxy-cyklohexyl, 2-methylamino-karbonylamino-cyklohexyl, acetylamino –ethyl nebo methylamino-karbonylamino-ethyl;

kde Ar je substituovaný nebo nesubstituovaný čtyř až šesti členný kruh, fenyl, pyrrol, thiofen, furan, thiazol, imidazol, pyrazol, 1,2,4-triazol, pyridin, 2(1H)-pyridon, 4(1H)-pyridon, pyrazin, pyrimidin, pyridazin, isothiazol, isoxazol, oxazol, tetrazol, naftalen, tetralin, naftyridin, benzofuran, benzothiofen, indol, 2,3-dihydroindol, 1H-indol, indolin, benzopyrazol, 1,3-benzodioxol, benzoxazol, purin, kumarin, chromon, chinolin, tetrahydrochinolin, isochinolin, benzimidazol, chinazolin, pyrido[2,3-b]pyrazin, pyrido[3,4-b]pyrazin, pyrido[3,2-c]pyridazin, purido[3,4-b]-pyridin, 1H-pyrazol[3,4-d]pyrimidin, pteridin, 2(1H)-chinolon, 1(2H)-isochinolon, 1,4-benzisoxazin, benzothiazol, chinoxalin, chinolin-N-oxid, isochinolin-N-oxid, chinoxalin-N-oxid, chinazolin-N-oxid, benzoxazin, ftalazin, cinolin, nebo mající strukturu:



kde Y je uhlík nebo dusík;

kde R_2 a R_2' jsou nezávisle H, substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, substituovaný nebo nesubstituovaný aryl, halogen, methoxy, methylamino, nebo methylthio;

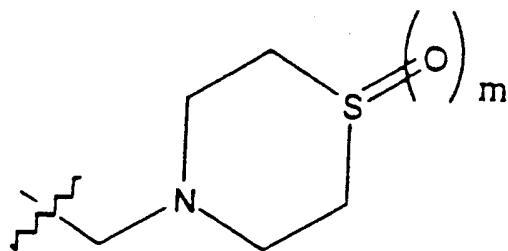
kde R_3 je H, alkyl, substituovaný alkyl, aryl, arylalkyl, amino, substituovaný aryl, kde uvedený substituovaný alkyl je $-C(R_7)(R_8)XR_5$, kde X je O, S nebo NR_6 , přičemž R_7 a R_8 jsou každý nezávisle H nebo alkyl, kde R_5 a R_6 jsou každý nezávisle alkyl nebo cykloalkyl, nebo NR_5R_6 je substituovaný nebo nesubstituovaný kruh s počtem mezi 4 a 7 členy;

kde R_4 je H, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl,

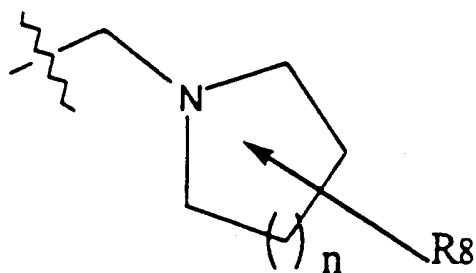
nebo farmaceuticky přijatelnou sůl, nebo derivát proléčiva, nebo biologicky aktivní metabolit;

s tou podmínkou, že kde R_1 je acetylaminoethyl, Ar není 4-pyridyl.

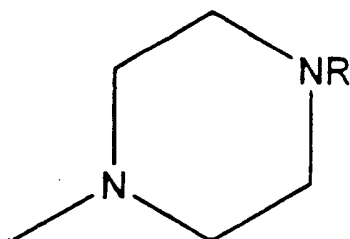
V jednom provedení sloučeniny mající strukturu IV, NR_5R_6 je substituovaný nebo nesubstituovaný kruh s počtem mezi 4 a 7 členy, který je zvolen ze skupiny sestávající z:



kde m je 0, 1 nebo 2,

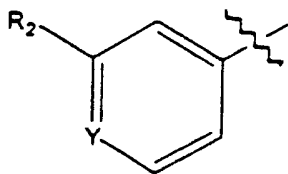


kde n je 0, 1, 2 nebo 3; přičemž R_8 je vodík, $-OH$, $-CH_2OH$, $-(=O)NR_9R_{10}$, NHR_{11} ; přičemž R_{11} je $-C(=O)CH_3$, nebo $-SO_2Me$, nebo



kde R je H, alkyl nebo aryl.

V jiném provedení sloučeniny mající strukturu IV, Ar má strukturu:



kde Y je uhlík nebo dusík; kde R_2 je H nebo halogen, -O-alkylová skupina, aminoskupina nebo sulfidová skupina;

kde R_3 je H, alkyl, substituovaný alkyl, aryl, arylalkyl, amino, substituovaný aryl, přičemž uvedený substituovaný alkyl je $-C(R_7)(R_8)NR_5R_6$, přičemž R_7 a R_8 jsou každý nezávisle H nebo alkyl, kde R_5 a R_6 jsou každý nezávisle alkyl nebo cykloalkyl, nebo R_5 , R_6 a dusík dohromady tvoří substituovaný nebo nesubstituovaný kruh počtem mezi 4 a 7 členy.

V jiném provedení sloučeniny Y je uhlík.

V jiném provedení sloučeniny R_2 je vodík.

V jiném provedení sloučeniny R_4 je vodík.

V jiném provedení sloučeniny R_3 je vodík.

V jiném provedení sloučeniny R_3 a R_4 jsou každý methyl.

V jiném provedení sloučeniny R_3 je $-C(R_7)(R_8)NR_5R_6$, přičemž R_7 a R_8 jsou každý nezávisle H nebo alkyl, kde R_5 a R_6 jsou každý nezávisle alkyl nebo cykloalkyl, nebo R_5 , R_6 a dusík dohromady tvoří substituovaný nebo nesubstituovaný kruh s počtem mezi 4 a 7 členy.

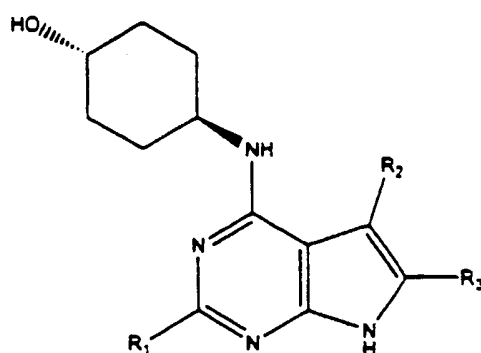
V jiném provedení sloučeniny R_2 je halogen.

V jiném provedení sloučeniny Y je dusík.

V ještě dalším provedení sloučeniny R_2 je vodík.

V jiném provedení sloučeniny R_3 a R_4 jsou každý vodík.

Tento vynález se také týká sloučeniny mající strukturu (V):



V

kde R_1 je aryl, substituovaný aryl nebo heteroaryl;

kde R_2 je H, alkyl, substituovaný alkyl, nebo cykloalkyl;

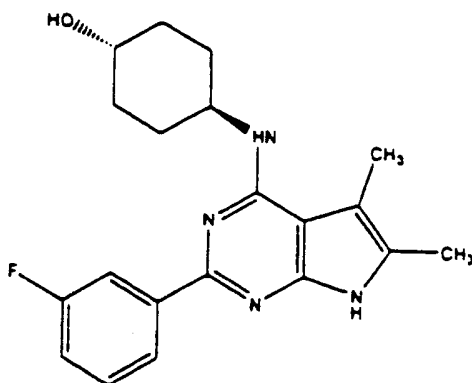
kde R_3 je H, alkyl, substituovaný alkyl, aryl, arylalkyl, amino, substituovaný aryl, přičemž uvedený substituovaný alkyl je $-C(R_6)(R_7)NR_4R_5$, přičemž R_6 a R_7 jsou každý H nebo alkyl, kde R_4 a R_5 jsou každý alkyl nebo cykloalkyl, nebo R_4 , R_5 a dusík dohromady tvoří kruhový systém s počtem mezi 4 a 7 členy.

V jednom provedení sloučeniny mající strukturu V, R_4 a R_7 jsou každý H; kde R_4 je H a R_5 je $-R_{12}C(=O)R_{13}$.

V ještě dalším provedení sloučeniny mající strukturu V, R_4 a R_7 jsou každý H, kde kruhový systém je morfolino, thiomorfolino, N-4-substituovaný

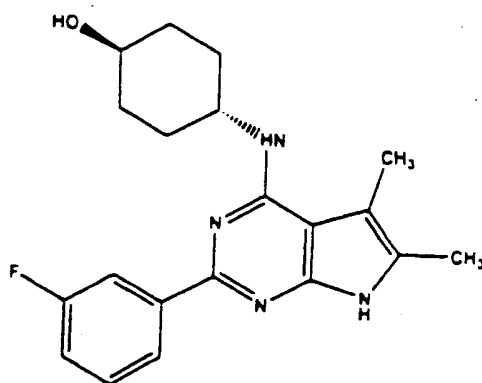
piperazino, 2-substituovaný piperazin nebo R_8 substituovaný pyrrolidino, piperadin, kde R_8 je H, OH, CH_2OH , $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}_9\text{R}_{10}$, NR_{11} , kde R_{11} je $-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{SO}_2\text{Me}$.

V ještě dalším provedení sloučeniny má sloučenina následující strukturu:

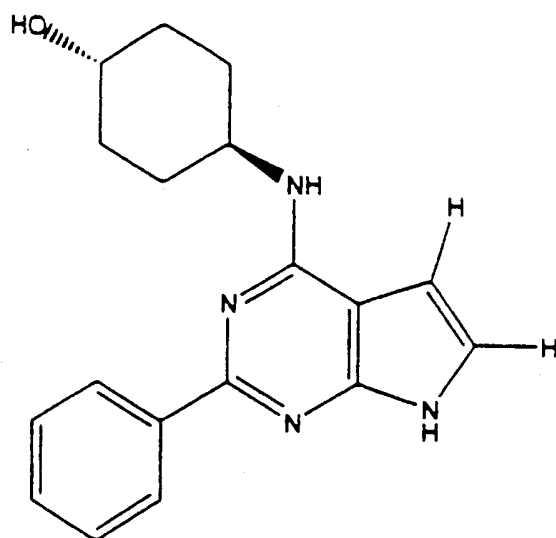


(sloučenina 706)

V ještě dalším provedení sloučeniny má sloučenina následující strukturu:

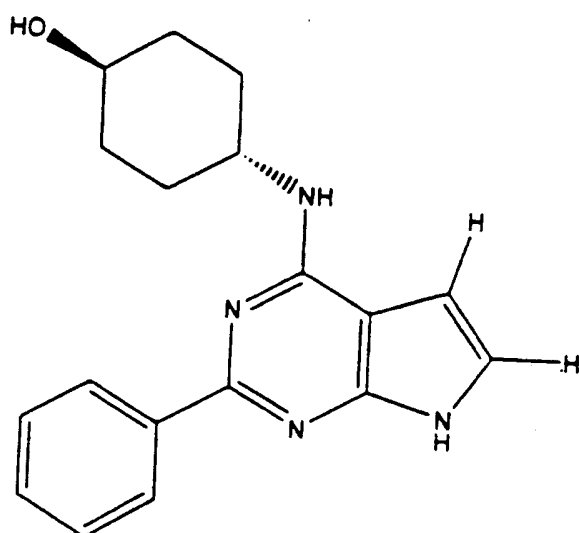


V ještě dalším provedení sloučeniny má sloučenina následující strukturu:



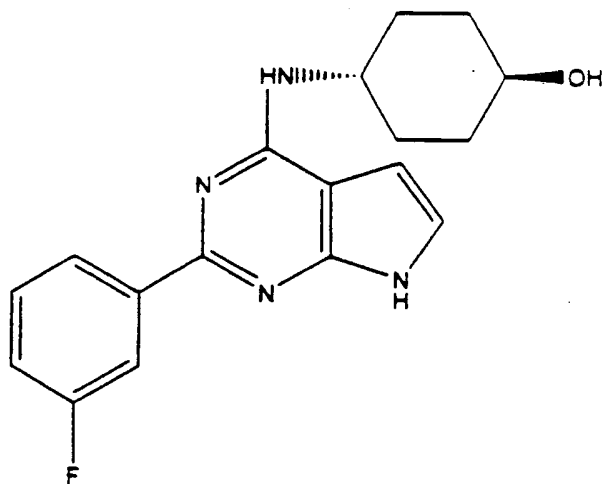
(sloučenina 1318-a)

V ještě dalším provedení sloučeniny má sloučenina následující strukturu:



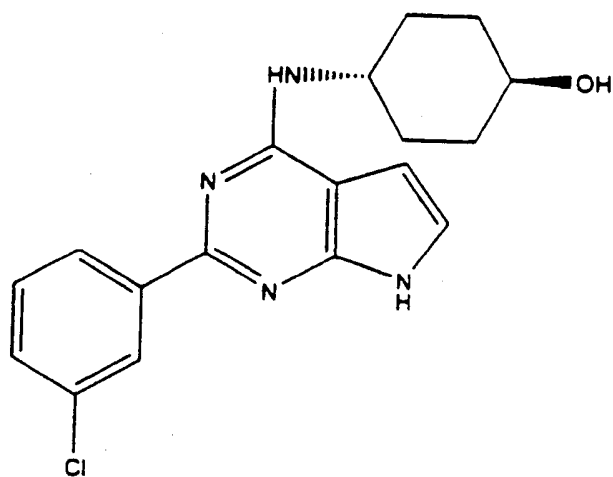
(sloučenina 1318-b)

V ještě dalším provedení sloučeniny má sloučenina následující strukturu:



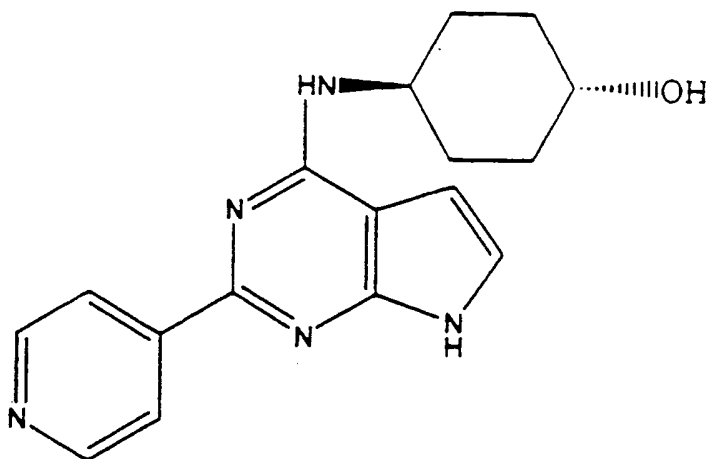
(sloučenina 1319)

V ještě dalším provedení sloučeniny má sloučenina následující strukturu:



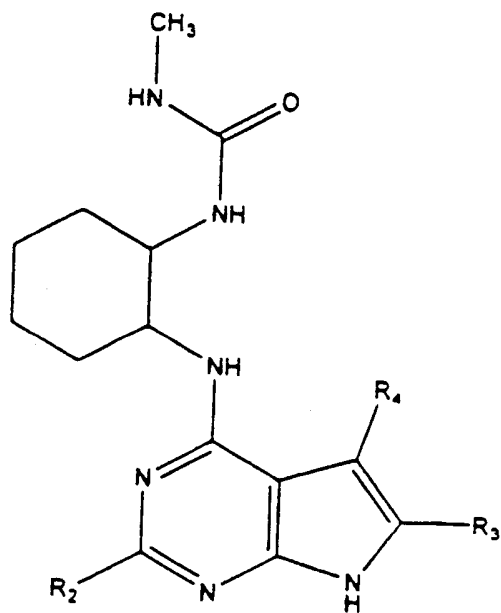
(sloučenina 1320)

V ještě dalším provedení sloučeniny má sloučenina následující strukturu:



(sloučenina 1321)

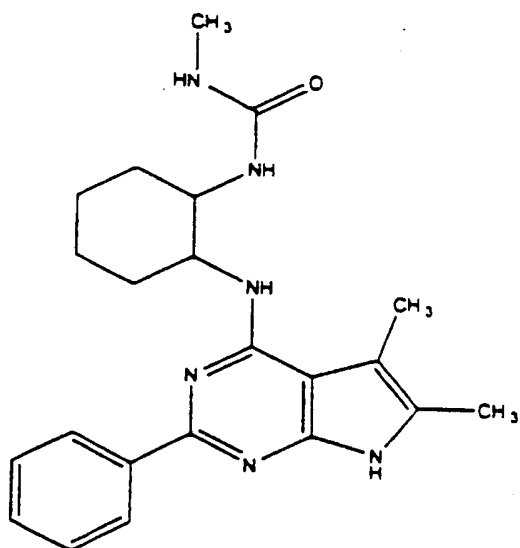
Sloučenina mající strukturu (VI):



VI

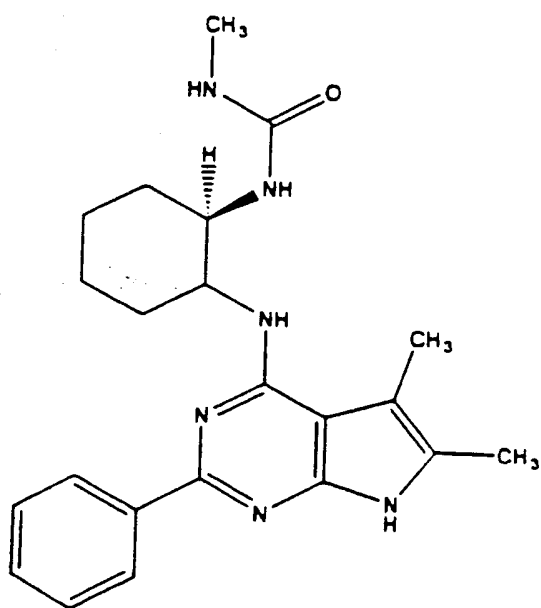
kde R_2 je 5-6členný aromatický kruh; kde R_3 a R_4 jsou nezávisle H nebo alkyl.

V jednom provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:

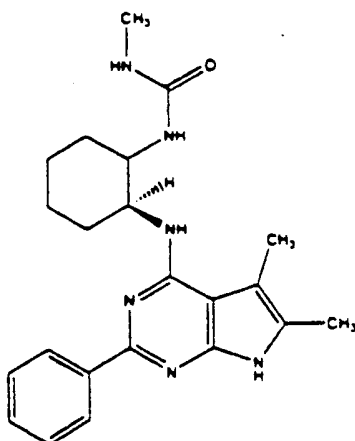


(sloučenina 1500)

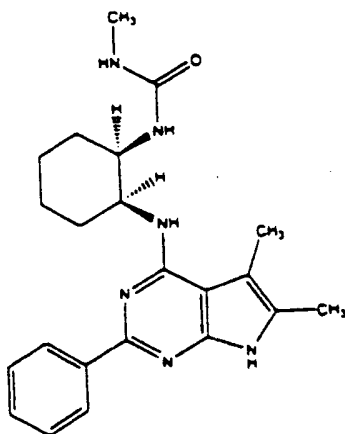
V jednom provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



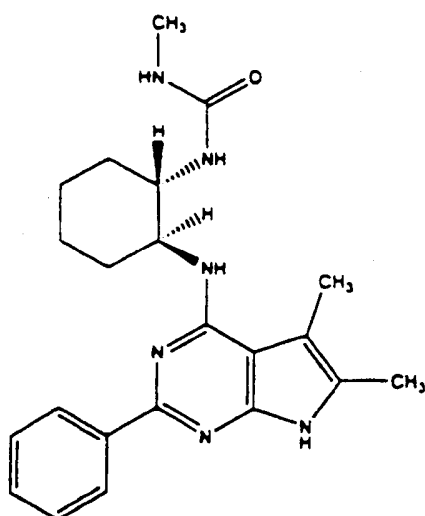
V jednom provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



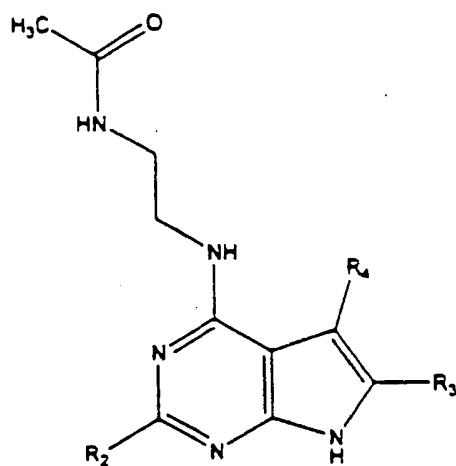
V jiném provedení sloučeniny 1500 má sloučenina strukturu:



V dalším provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



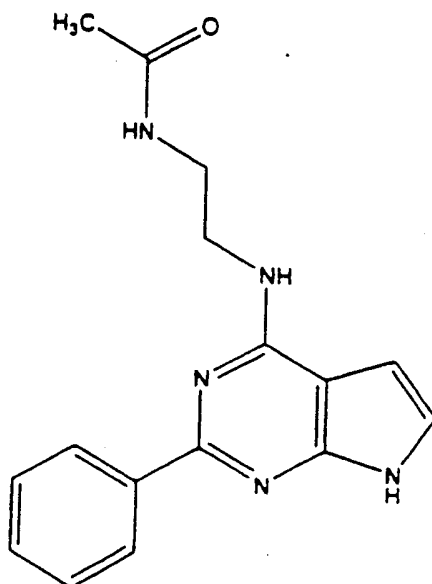
Tento vynález rovněž poskytuje sloučeniny mající strukturu (VII):



VII

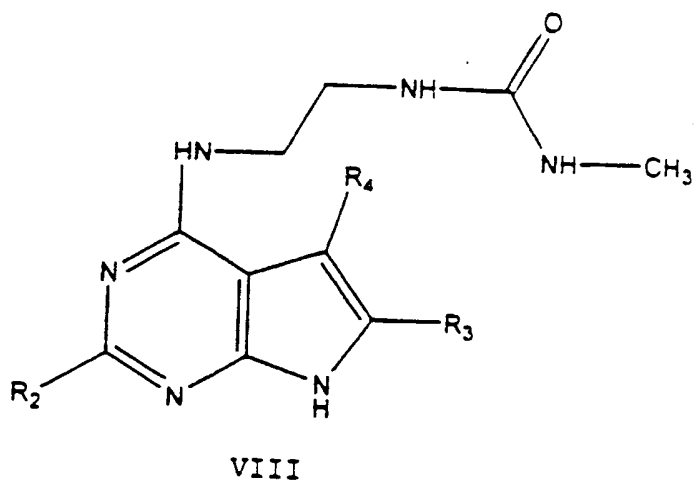
kde R_2 je 5-6členný aromatický kruh; kde R_3 a R_4 jsou nezávisle H nebo alkyl; alkyl s tou podmínkou, že R_6 není 4-pyridyl.

V jednom provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



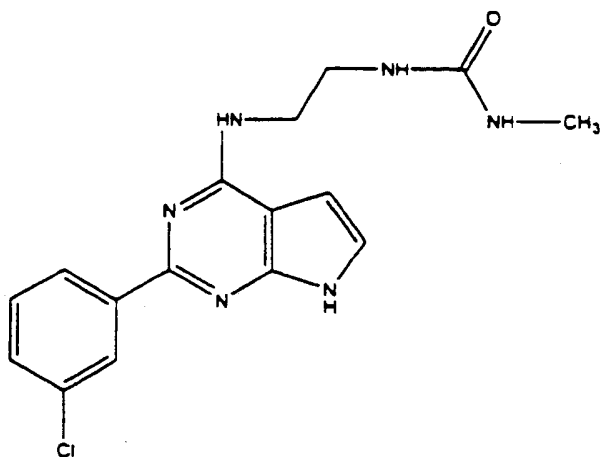
(sloučenina 1501)

Tento vynález rovněž poskytuje sloučeniny mající strukturu (VIII):



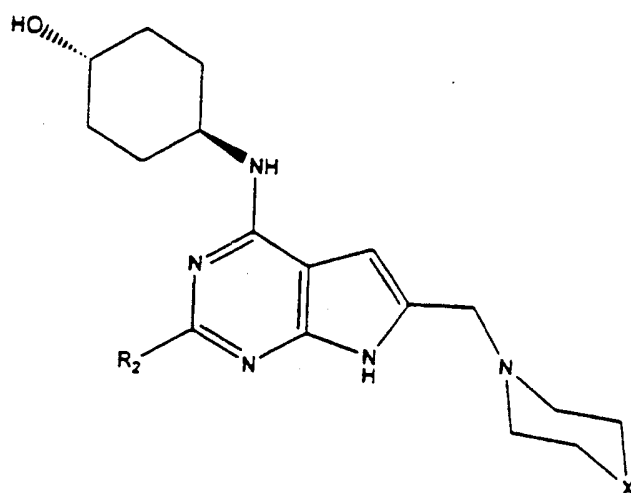
kde R_2 je substituovaný 5-6členný aromatický kruh; kde R_3 a R_4 jsou nezávisle H nebo alkyl.

V jednom provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



(sloučenina 1520)

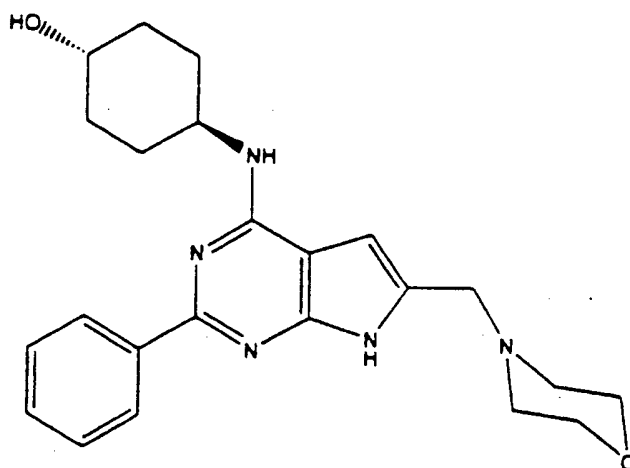
Tento vynález rovněž poskytuje sloučeniny mající strukturu (IX):



IX

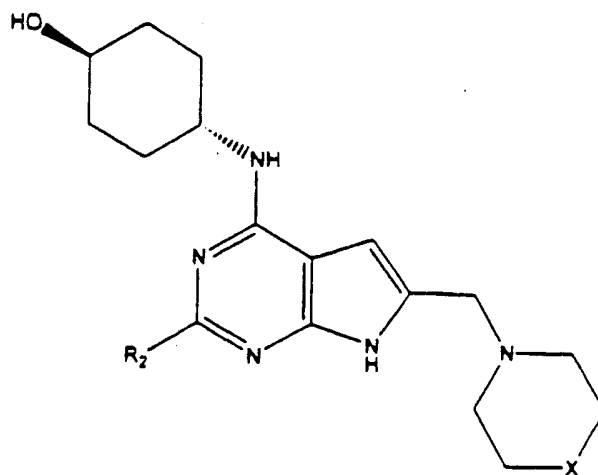
kde R_2 je 5-6členný aromatický kruh; kde X je kyslík nebo síra.

V jednom provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



(sloučenina 1503)

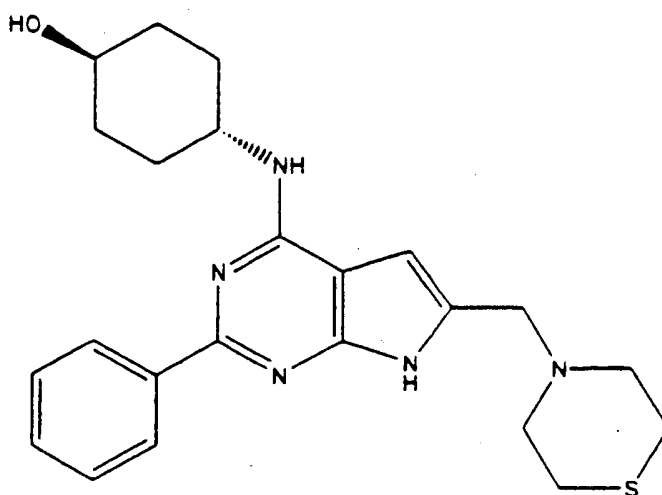
Tento vynález rovněž poskytuje sloučeniny mající strukturu (X):



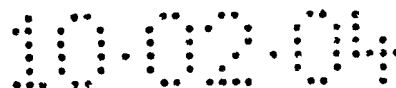
X

kde R_2 je 5-6členný aromatický kruh; kde X je kyslík nebo síra.

V jednom provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



(sloučenina 1504)



Tento vynález dále poskytuje u subjektu způsob léčení nemocí spojených s A_1 adenosin receptorem, zahrnující podávání subjektu terapeuticky účinného množství sloučeniny mající vzorec IV, V, VI, VII, VIII, IX nebo X.

V jednom provedení postupu je subjektem savec. V jiném provedení postupu je savcem člověk.

V jiném provedení postupu je A_1 adenosin receptor spojený s kognitivní nemocí, selháním ledvin, srdeční arytmii, dýchacím epytheliem, uvolňováním transmitterů, sedací, vasokonstrikcí, bradykardií, negativní srdeční initropií a dromotropií, bronchokonstrikcí, neutrofilní chemotaxií, stavem refluxu nebo vředovitým stavem.

Tento vynález rovněž poskytuje kombinační terapii pro astma, zahrnující sloučeniny IV a V, a steroid, β_2 agonistu, glukokortikoid, lukotrienový antagonistu nebo antikolinergický agonistu. Nemoci spojené s receptory A_1 , A_2 a A_3 receptorů jsou popsány ve WO 1999/006053 a WO-09822465, WO-09705138, WO09511681, WO-09733879, JP-09291089, PCT/US1989/016053 a patentu US 5 516 894, jejichž obsah je zde zcela začleněn formou odkazu.

Tento vynález rovněž poskytuje ve vodě rozpustná proléčiva sloučenin majících struktury IV, V, VI, VII, VIII, IX nebo X, kde uvedená ve vodě rozpustná proléčiva jsou metabolizována *in vivo* na aktivní léčivo, které selektivně inhibuje A_1 adenosin receptor.

V jednom provedení proléčiva je uvedené proléčivo metabolizováno *in vivo* hydrolýzou, která je katalyzovaná esterásou.

Tento vynález také poskytuje farmaceutický prostředek zahrnující proléčivo a farmaceuticky přijatelný nosič.



Tento vynález dále poskytuje způsob inhibice aktivity A_1 adenosin receptor v buňkách, který zahrnuje uvedení do kontaktu zmíněných buněk se sloučeninami majícími vzorec IV, V, VI, VII, VIII, IX nebo X.

V jednom provedení sloučeninou je antagonistu uvedeného A_1 adenosin receptoru.

Tento vynález dále poskytuje u subjektu způsob léčení gastrointestinálních nemocí, zahrnující podávání subjektu terapeuticky účinného množství sloučeniny mající vzorec IV, V, VI, VII, VIII, IX nebo X.

V jednom provedení metody je uvedenou nemocí průjem.

V jiném provedení metody je subjektem člověk.

V dalším provedení metody je sloučeninou antagonistu uvedeného A_1 adenosin receptoru.

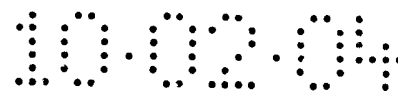
Tento vynález také poskytuje u subjektu způsob léčení respiračních chorob, zahrnující podávání subjektu terapeuticky účinného množství sloučeniny mající vzorec IV, V, VI, VII, VIII, IX nebo X.

V jednom provedení metody je uvedenou nemocí astma, chronická obstrukční plicní nemoc, alergická rýma, nebo choroby horních dýchacích cest.

V jiném provedení metody je subjektem člověk.

V dalším provedení metody je uvedenou sloučeninou antagonistu A_1 adenosin receptoru.

Tento vynález dále poskytuje u subjektu způsob léčení zničení očí, zahrnující podávání subjektu terapeuticky účinného množství sloučeniny mající vzorec IV, V, VI, VII, VIII, IX nebo X.



V jednom provedení metody uvedené poškození zahrnuje poškození sítnice a optického nervu.

V jiném provedení metody je uvedené poškození akutní nebo chronické.

V jiném provedení metody je uvedené poškození důsledkem glaukomu, edemu, ischemie, hypoxie nebo traumatu.

V jiném provedení metody je subjektem člověk.

V dalším provedení metody je sloučeninou antagonisty A_1 adenosin receptoru.

Tento vynález také poskytuje farmaceutický prostředek obsahující terapeuticky účinné množství sloučeniny mající vzorec IV, V, VI, VII, VIII, IX nebo X a farmaceuticky přijatelný nosič.

V jiném provedení farmaceutického prostředku je terapeuticky účinné množství účinné pro léčení respiračních chorob a gastrointestinálních nemocí.

V jiném provedení farmaceutického prostředku je uvedenou gastrointestinální nemocí průjem.

V dalším výhodném provedení farmaceutického prostředku je uvedenou respirační nemocí astma, chronická obstrukční plicní nemoc nebo alergická rýma.

V jiném výhodném provedení farmaceutického prostředku je uvedeným farmaceutickým prostředkem oftalmická formulace.

V ještě dalším výhodném provedení farmaceutického prostředku je uvedený farmaceutický prostředek periokulární, retrobulbární nebo intraokulární injekční formulace.

V ještě dalším provedení farmaceutického prostředku je uvedeným farmaceutickým prostředkem systémická formulace.

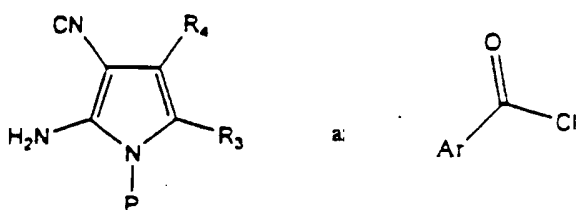
V ještě dalším provedení farmaceutického prostředku je uvedeným farmaceutickým prostředkem chirurgický výplachový roztok.

Tento vynález také poskytuje balený farmaceutický prostředek pro léčení nemocí spojených s A_1 adenosin receptorem u subjektu, zahrnující: (a) kontejner nesoucí terapeuticky účinné množství A_1 adenosin specifické sloučeniny ; a (b) instrukce pro použití uvedené sloučeniny při léčení uvedené nemoci u subjektu.

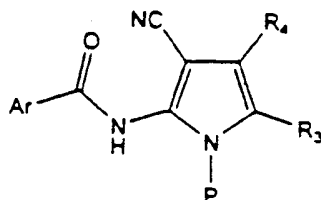
Jak se zde používá, výraz „sloučenina je A_1 selektivní“ znamená, že sloučenina má vazebnou konstantu na adenosin A_1 receptor alespoň desetkrát vyšší než na adenosin A_{2a} , A_{2b} nebo A_3 .

Tento vynález rovněž poskytuje způsob přípravy sloučeniny mající strukturu IV, zahrnující kroky:

a) reakci

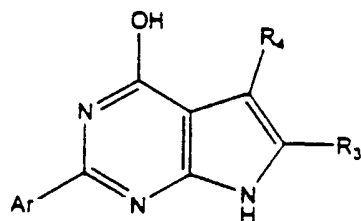


za získání

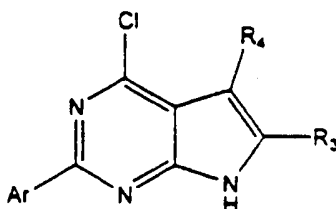


kde P je odstranitelná chránicí skupina;

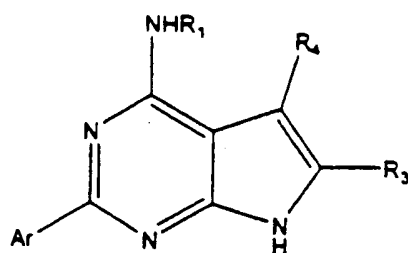
b) zpracování produktu z kroku a) za podmínek cyklizace za získání



c) zpracování produktu z kroku b) za vhodných podmínek za získání



d) zpracování chlorovaného produktu z kroku c) s NHR_1 za získání



kde R_1 je trans-4-hydroxy-cyklohexyl, 2-methylamino-karbonylamino-cyklohexyl, acetylamino –ethyl nebo methylamino-karbonylamino-ethyl;

kde Ar je substituovaný nebo nesubstituovaný čtyř až šesti členný kruh,

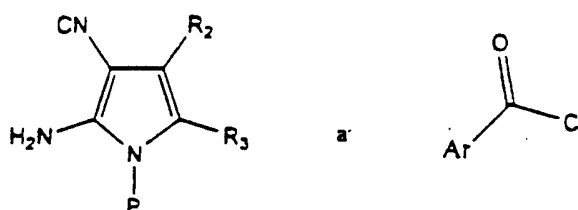
kde R_4 je H, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl,

nebo farmaceuticky přijatelná sůl, nebo derivát proléčiva, nebo biologicky aktivní metabolit;

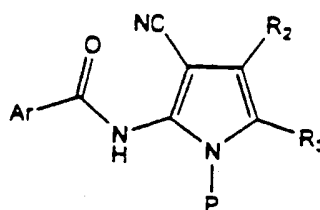
s tou podmínkou, že kde R_1 je acetylaminoethyl, Ar není 4-pyridyl.

Tento vynález také poskytuje způsob přípravy sloučeniny mající strukturu V, zahrnující kroky:

a) reakci

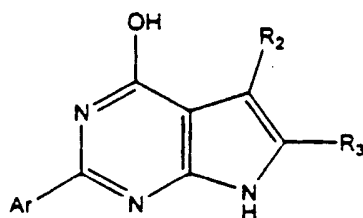


za získání

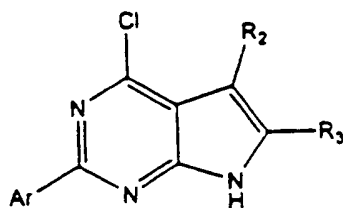


kde P je odstranitelná chránicí skupina;

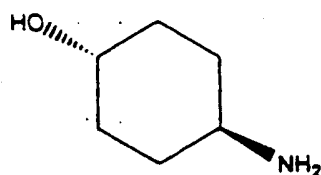
b) zpracování produktu z kroku a) za podmínek cyklizace za získání



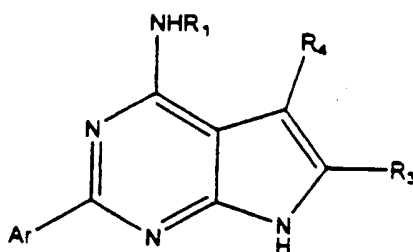
c) zpracování produktu z kroku b) za vhodných podmínek za získání



d) zpracování chlorovaného produktu z kroku c) s



za získání



kde R_1 je aryl, substituovaný aryl nebo heteroaryl;

kde R_2 je H, alkyl, substituovaný alkyl, nebo cykloalkyl;

kde R_3 je H, alkyl, substituovaný alkyl, aryl, arylalkyl, amino, substituovaný aryl, přičemž uvedený substituovaný alkyl je $-C(R_6)(R_7)NR_4R_5$, přičemž R_6 a R_7 jsou každý H nebo alkyl, kde R_4 a R_5 jsou každý alkyl nebo cykloalkyl, nebo NR_4R_5 je kruhový systém s počtem mezi 4 a 7 členy.

Sloučeniny reprezentované vzorcem vzorec VI, VII a VIII mohou být syntetizovány podle některého ze schémat I-VIII. Sloučeniny reprezentované vzorcem IX a X mohou být připraveny podle schématu IX.

Vynález je dále doložen následujícími příklady, které by neměly být v žádném případě omezující. Obsah všech odkazů, souvisejících patentových přihlášek a zveřejněných patentových přihlášek, citovaných v této přihlášce, včetně těch, které jsou odkazovány v sekci „background“, jsou zahrnuty jako odkaz. Mělo by být zřejmé, že modely použité v příkladech jsou akceptované modely a že doložení účinků na těchto modelech je prognózou pro účinky na lidech.

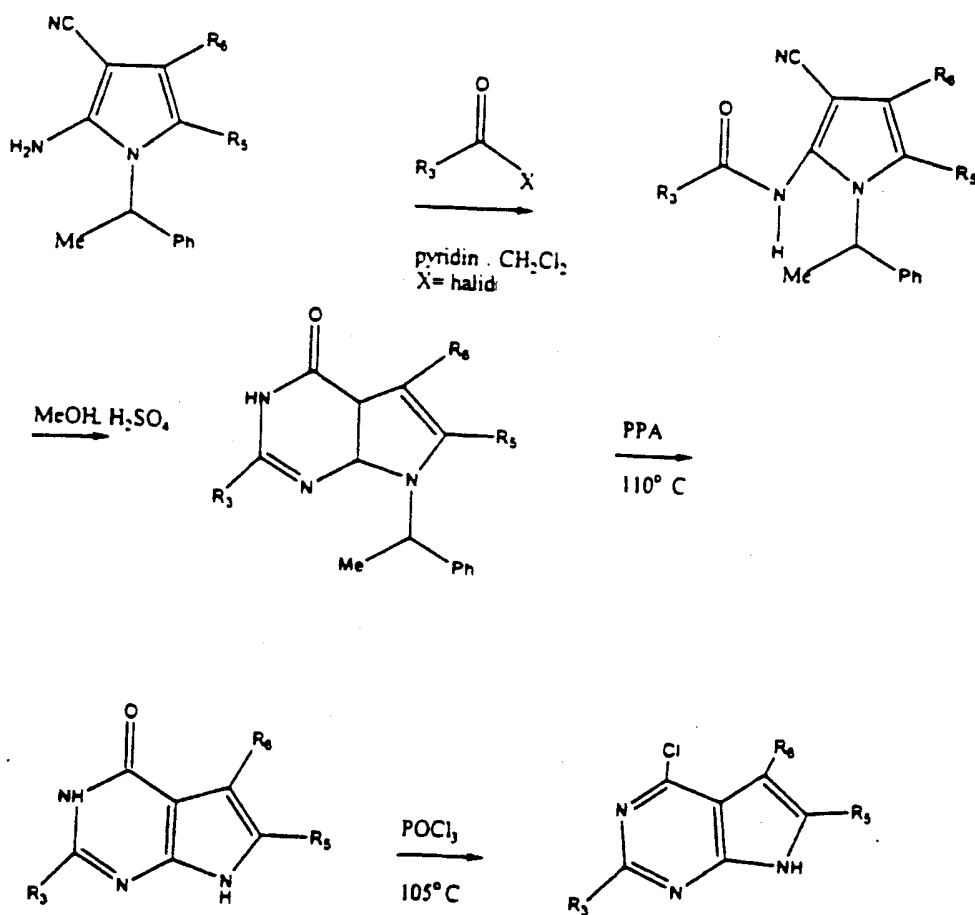
Tento vynález bude lépe pochopen z experimentálních detailů uvedených dále. Nicméně odborník v dané oblasti techniky snadno zhodnotí, že konkrétní diskutované postupy a výsledky jsou pouze ilustrativní pro vynález, jak je úplně popsán v nárocích, které následují.

EXPERIMENTÁLNÍ DETAILS

Deazapuriny podle vynálezu mohou být připraveny použitím standardních postupů pro organické syntézy. Deazapuriny mohou být purifikovány HPLC s reversní fází, chromatografií, rekrystalizací atd., a jejich struktury potvrzeny hmotovou spektrální analýzou, elementární analýzou, IR a/nebo NMR spektroskopií.

Typicky se syntézy meziproductů stejně jako deazapurinů podle vynálezu provádějí v roztoku. Přidání a odstranění jedné nebo více chránících skupin je také typickou praxí a je známé odborníkům v dané oblasti techniky. Typická schémata syntéz pro přípravu meziproductů deazapurinu podle vynálezu jsou uvedena dále ve schématu I.

Schéma I



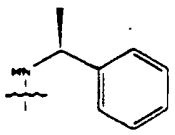
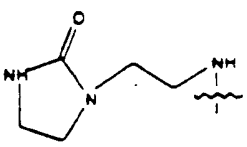
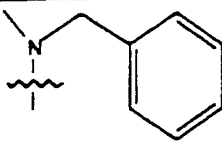
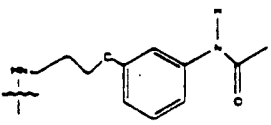
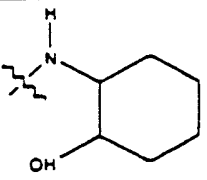
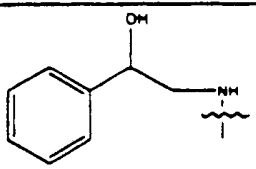
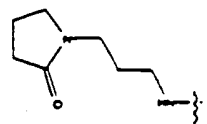
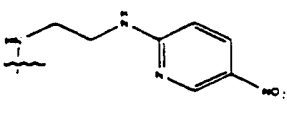
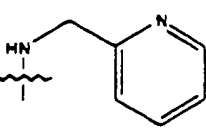
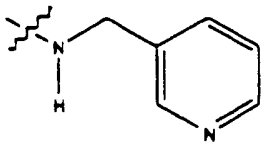
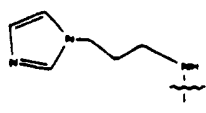
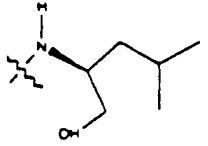
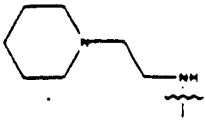
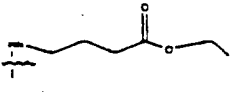
kde R_3 , R_5 a R_6 jsou definovány výše.

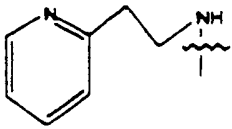
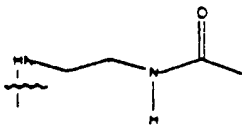
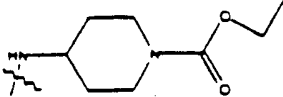
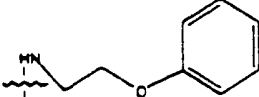
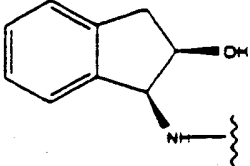
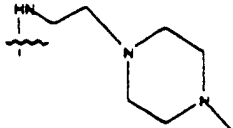
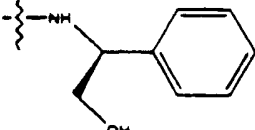
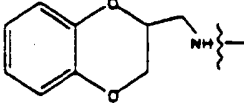
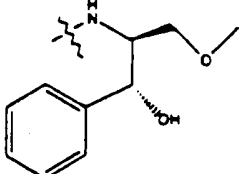
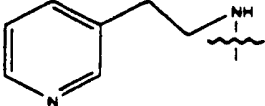
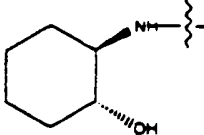
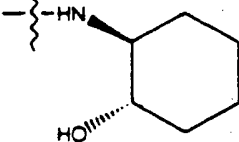
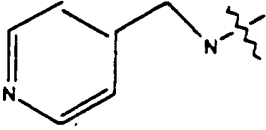
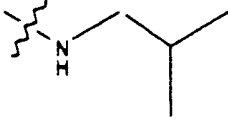
Obecně může být chráněný 2-amino-3-kyano-pyrrol zpracován s acylhalogenidem za vzniku karboxyamido-3-kyano-pyrrolu, který může být zpracován s acidickým methanolem za účelem uzavření kruhu na pyrrolo[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on (Muller, C. E. a kol., J. Med. Chem. 40:4396 (1997)). Odstranění pyrrolové chránicí skupina, následované

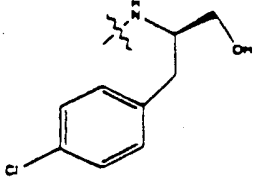
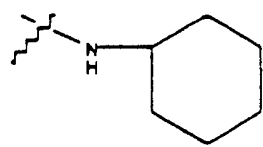
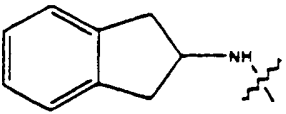
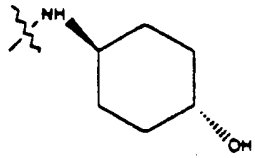
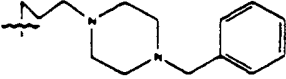
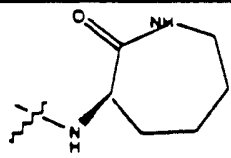
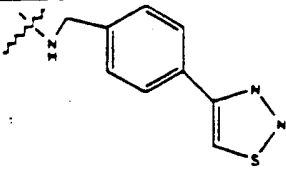
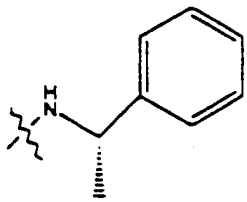
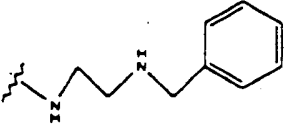
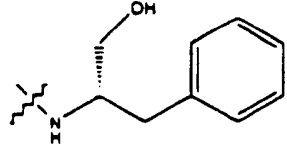
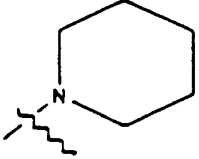
zpracováním s chloračným činidlem, jako je oxychlorid fosforečný, produkovalo substituovaný nebo nesubstituovaný 4-chlor-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidiny. Zpracování chlorpyrimidinu s aminy poskytlo 7-deazapuriny.

Například jak je ukázáno ve schématu I, N-(1-*dl*-fenylethyl)-2-amino-3-kyano-pyrrol byl zpracován s acylhalogenidem v pyridinu a dichlormethanu. Získaný N-(1-*dl*-fenylethyl)-2-fenylkarboxyamido-3-kyano-pyrrol byl zpracován se směsí 10:1 methanolu / kyseliny sírové pro zajištění uzavření kruhu, čehož výsledkem je *dl*-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on. Odstranění fenylethylové skupiny zpracováním pyrimidinu s polyfosforečnou kyselinou (PPA) následované POCl₃ poskytlo klíčový meziprodukt, 4-chlor-7H-pyrrolo[2,3d]pyrimidin. Další zpracování 4-chlor-7H-pyrrolo[2,3d]pyrimidinu s různými aminy uvedenými v tabulce 1 poskytne sloučeniny vzorce I a II.

TABULKA 1

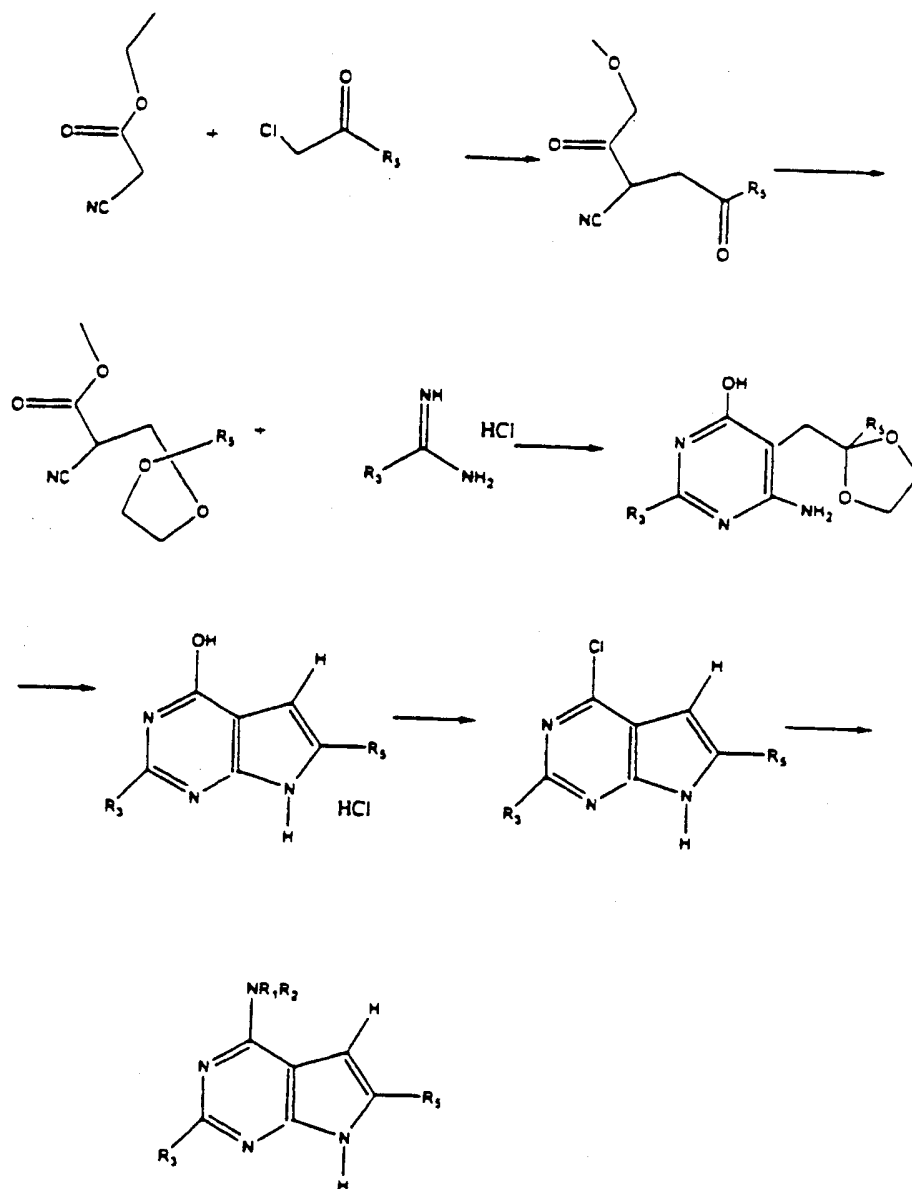
R	$M^+ + H$	R	$M^+ - H$
	343.2		351.27
	343.18		430.35
	337.21		359.44
	364.19		404.32
	330.18		330.45
	347.22		339.47
	350.28		353.41

	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

Obecný přístup k přípravě 6-substituovaných pyrrolů je znázorněn na následujícím schématu (schéma II)

Schéma II



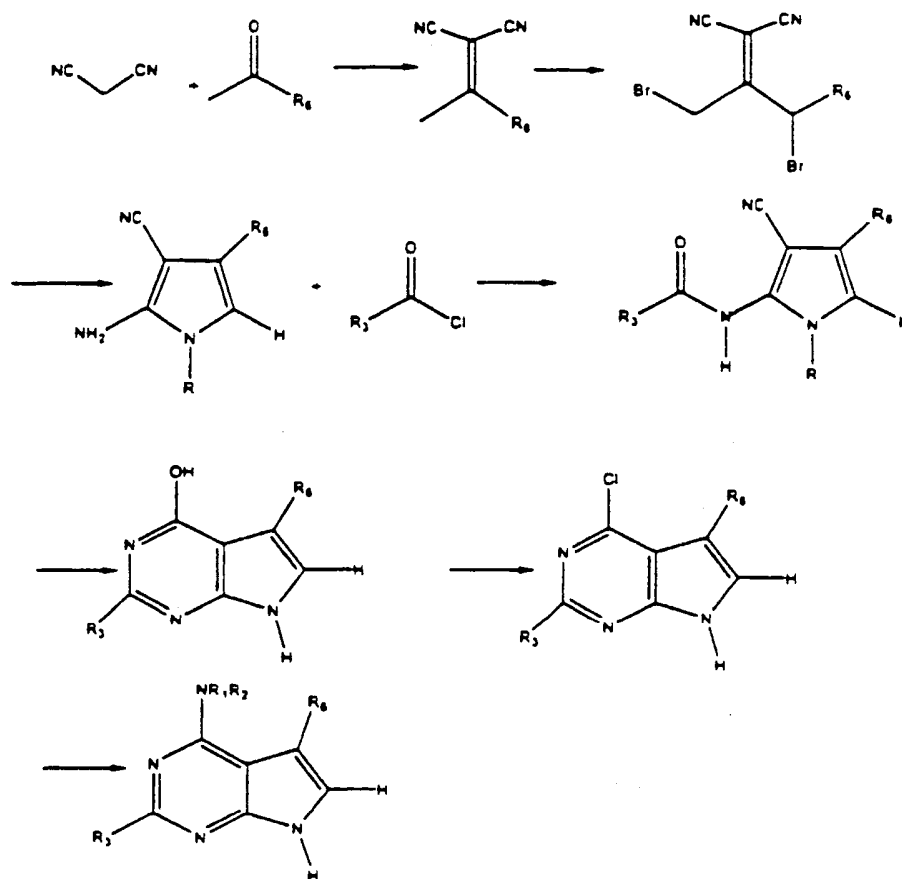
kde R_1 až R_5 jsou definovány výše.

Transesterifikace a alkylace ethyl kyanoacetátu s α -haloketonem poskytne ketomethylester. Ochrana ketonu následovaná zpracováním s amidinem (jako je alkyl, aryl nebo alkylaryl) hydrochlorid poskytlo

výsledný ketalem chráněný pyrimidin. Odstranění chránící skupina, následované cyklizací a zpracováním s oxychloridem fosforečným poskytl chloridový meziprodukt, který by mohl být dále zpracován s aminem za získání amin -6-substituovaného pyrrolu. Dále může být dosaženo alkylation pyrrolového dusíku za podmínek známých ze stavu techniky.

Obecný přístup k přípravě 5-substituovaných pyrrolů je znázorněn na následujícím schématu (schéma III).

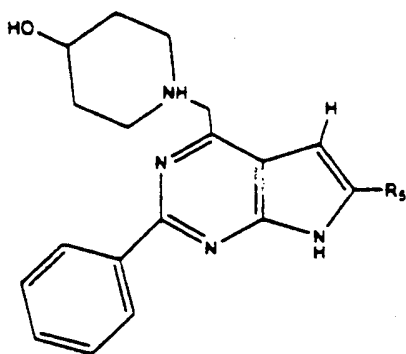
Schéma III



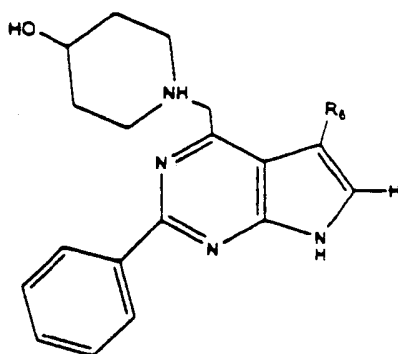
Kde R_1 až R_6 jsou definovány výše a R je odstranitelná chránící skupina.

Kondenzace malononitrilu a přebytek ketonu, následované bromací produktu poskytly směs výchozího materiálu, monobromovaných a dibromovaných produktů, které byly zpracovány s alkylaminem, arylaminem nebo alkylarylaminem. Získaný aminový produkt byl acylován s acylchloridem a monoacylovaný pyrrol byl cyklizován za přítomnosti kyseliny za získání odpovídajícího pyrimidinu. Pyrrolová chránicí skupina byla odstraněna s kyselinou polyfosforečnou a zpracována s oxychloridem fosforečným za získání chlorovaného produktu. Chlorovaný pyrrol by mohl být dále zpracován s aminem za získání amino -5-substituovaného pyrrolu. Dále může být dosaženo alkylace pyrrolového dusíku za podmínek známých ze stavu techniky.

Schémata IV a V znázorňují metody přípravy deazapurinů 1 a 2 podle vynálezu.



1



2

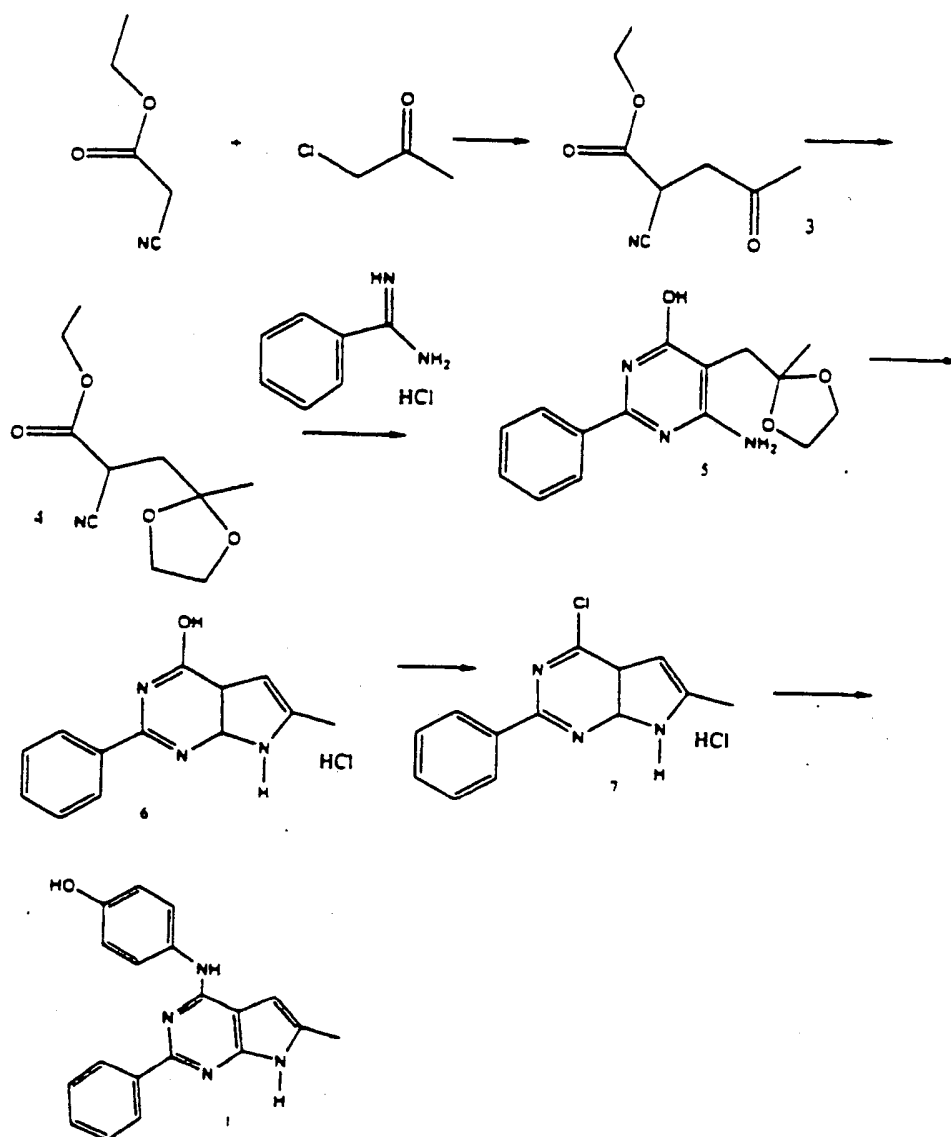
Kde R_5 a R_6 jsou popsány výše, např. CH_3 .

Specifická příprava 6-methyl-pyrrolpyrimidinů

Klíčovou reakcí směřující k 6-methylpyrrolpyrimidinům (1) [$R_5 = \text{CH}_3$] byla cyklizace kyanoacetátu s benzamidinem na pyrimidin. Předpokládalo se, že methylkyanoacetát by mohl cyklizovat aktivněji s benzamidinem na pyrimidin než odpovídající ethylester. Proto transesterifikace a alkylace ethylkyanoacetátu za přítomnosti NaOMe a přebytku α -haloacetylové části, jako chloracetonu, poskytla požadovaný methylester (3) ve výtěžku 79 % (schéma

IV). Ketoester (3) byl chráněn jako acetal (4) v 81% výtěžku. Nová metoda cyklizace na pyrimidin(5) byla dosažena s amidin hydrochloridem, jako je benzamidin hydrochlorid, se 2 ekvivalenty DBU za získání (5) v 54% izolovaném výtěžku. Tato metoda zlepšuje výtěžek z 20 % použitím publikovaných podmínek, které využívají NaOMe během cyklizace s guanidinem. Cyklizace pyrrol-pyrimidinu (6) byla dosažena přes deprotektci acetalu ve vodné HCl v 78% výtěžku. Reakce (6) s oxychloridem fosforečným při refluxu poskytla odpovídající 4-chlor-derivát (7). Kuplování s trans-4-aminocyklohexanolem v dimethylsulfoxidu při 135 °C poskytlo (1) v 57% ze (7). Odborník znalý dané oblasti techniky očekává, že výběr reakčních látek umožní velkou flexibilitu ve výběru požadovaného substituentu R₅.

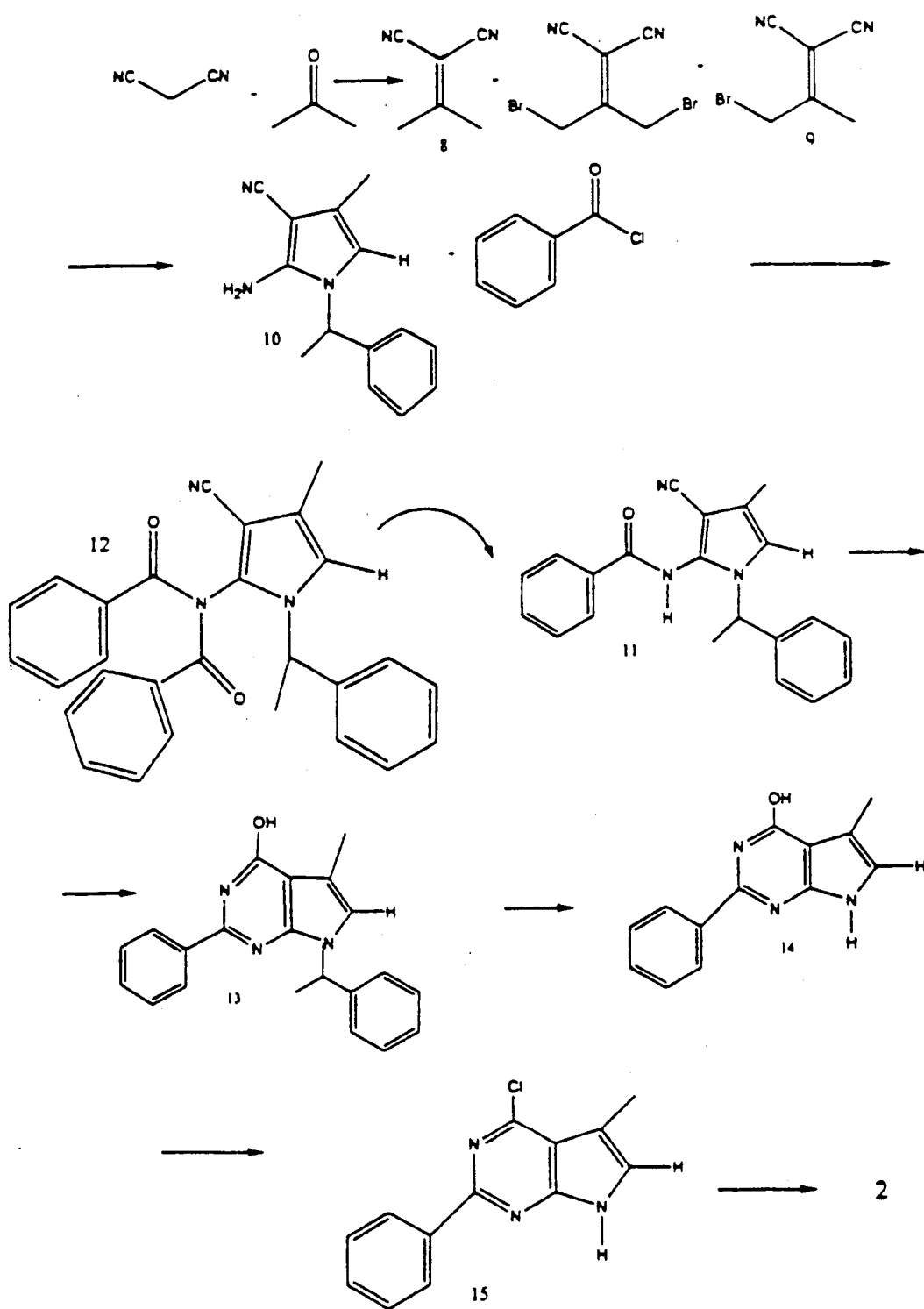
Schéma IV



Specifická příprava 5-methylpyrrolpyrimidinů

Knoevengelova kondenzace malononitrilu a přebytek ketonu, jako acetonu, v refluxujícím benzenu poskytla (8) v 50% výtěžku po destilaci. Bromace (8) s N-bromsukcinimidem za přítomnosti benzoylperoxidu v chloroformu poskytla směs výchozího materiálu, mono- (9), a di-bromovaného produktu (5/90/5) po destilaci (70%). Směs reagovala s α -methylalkylaminem nebo α -methylarylaminem, jako α -methylbenzylaminem, za dodání aminopyrrolu (10). Po průchodu přes krátkou silikagelovou kolonu byl částečně purifikovaný amin (31% výtěžek) acylován s kyselým chloridem, jako je benzoylchlorid, za získání mono- (11) a diacylovaných (12) pyrrolů, které byly odděleny mžikovou chromatografií. Kyselá hydrolýza disubstituovaného pyrrolu (12) generovala kombinovaný výtěžek 29% pro acylpyrrol (11). Cyklizace za přítomnosti koncentrované kyseliny sírové a DMF poskytla (13) (23%). Reakce (14) s oxychloridem difosforečným při refluxu poskytla odpovídající 4-chlor-derivát (15). Kuplování s trans-4-aminocyklohexanolem v dimethylsulfoxidu při 135 °C poskytlo (2) [$R_6 = CH_3$] v 30% ze (14) (viz schéma V). Odborník znalý dané oblasti techniky očekává, že výběr reakčních látek umožní velkou flexibilitu ve výběru požadovaného substituentu R_6 .

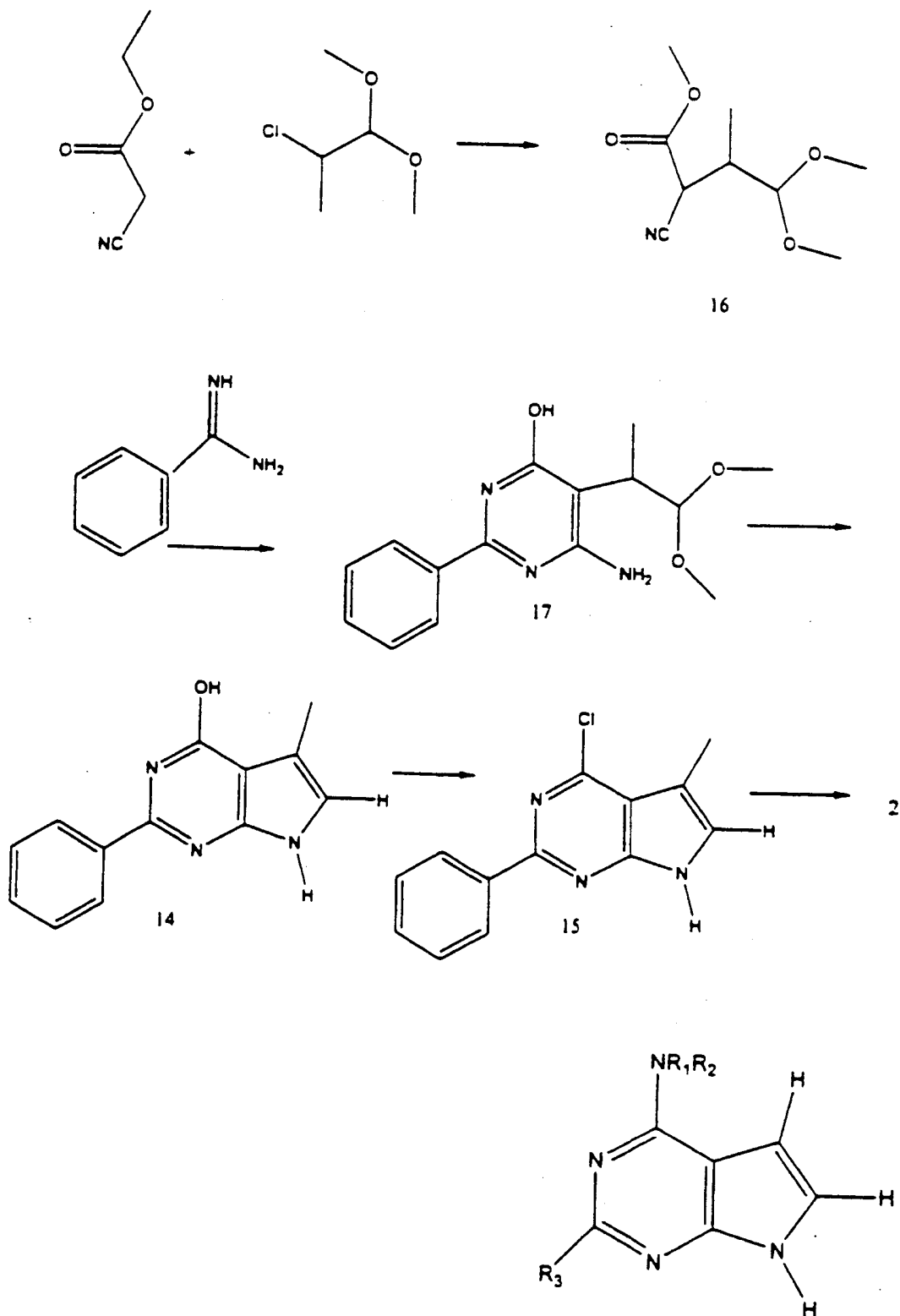
Schéma V



Alternativní cesta syntézy k R₆-substituovaným pyrrolům, např 5-methylpyrrolpyrimidinům

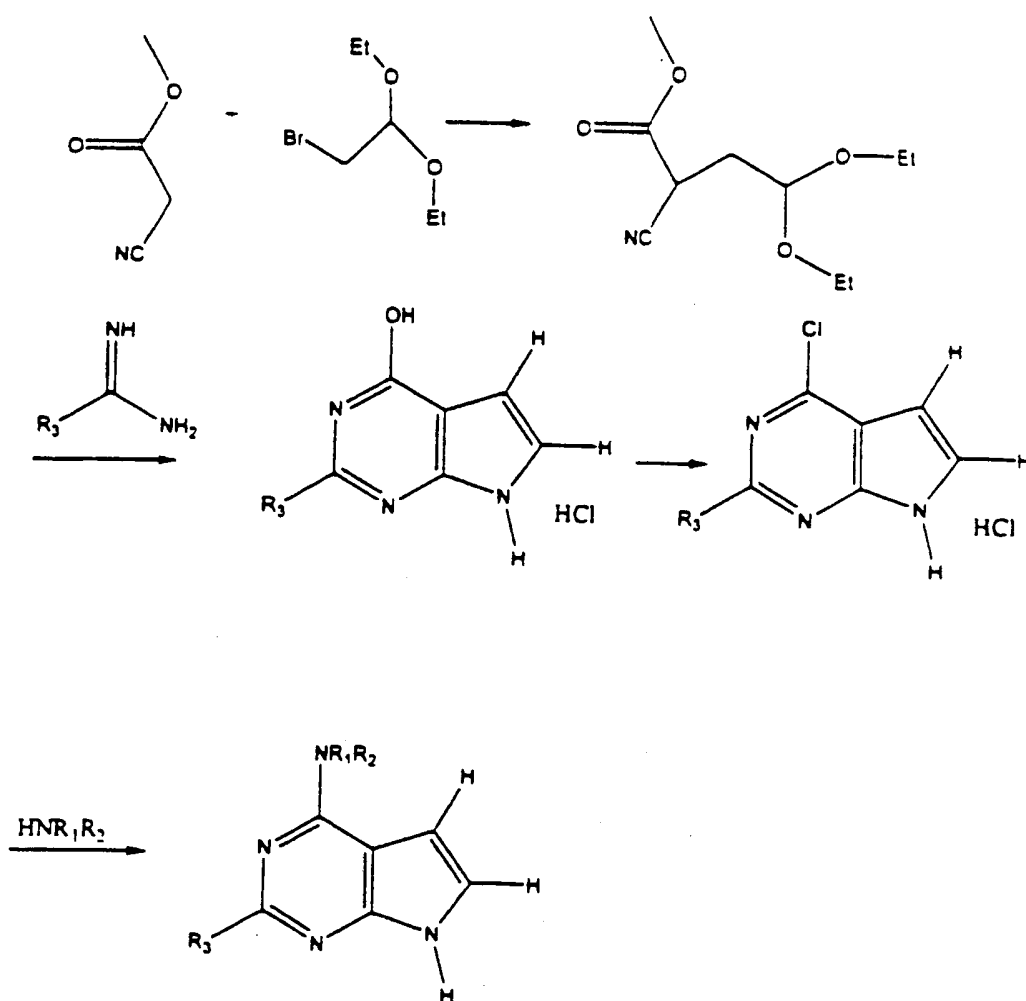
Tato alternativní cesta k R₆-substituovaným pyrrolům, jako 5-methylpyrrolpyrimidinům, zahrnuje transesterifikaci a alkylaci ethyl kyanoacetátu na (16) (schéma VI). Kondenzace (16) s benzamidinem hydrochloridem se 2 ekvivalenty DBU poskytla pyrimidin (17). Cyklizace na pyrrol-pyrimidin (14) bude dosaženo před deprotekcí acetalu ve vodné HCl. Reakce (14) s oxychloridem fosforečným při refluxu poskytla odpovídající 4-chlor-derivát (15). Kuplování s trans-4-aminocyklohexanolem v dimethylsulfoxidu při 135 °C poskytlo (2). Tento postup redukuje počet reakcí syntéz na cílovou sloučeninu (2) z 9 na 4 kroky. Navíc je výtěžek dramaticky zlepšen. Opět odborník znalý dané oblasti techniky očekává, že výběr reakčních látek umožní velkou flexibilitu ve výběru požadovaného substituentu R₆.

Schéma VI



Obecný přístup k přípravě *des*-methylpyrrolu je znázorněn v následujícím schématu (schéma VII).

Schéma VII

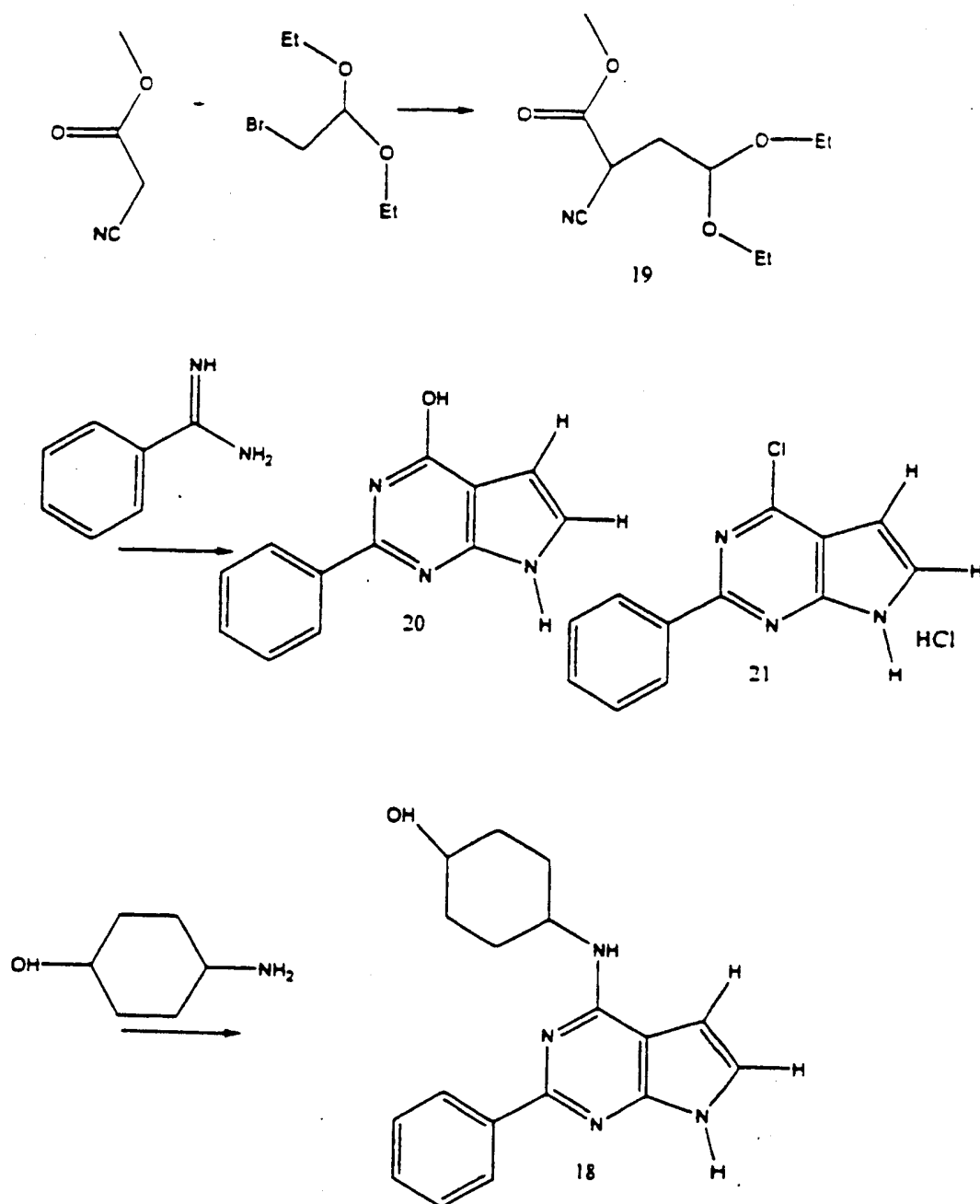


kde R₁ až R₃ jsou definovány výše.

Alkylace alkyl-kyanoacetátu s diethylacetalem za přítomnosti báze poskytne kyano-diethyl-acetal, který je zpracován s amidinovou solí za získání methyl-pyrrolpyrimidinového prekursoru. Prekursor byl chlorován a zpracován s aminem za vzniku *des*-methyl-pyrrolpyrimidinového cíle, jak je znázorněn výše.

Například schéma VIII znázorňuje syntézu sloučeniny (18).

Schéma VIII

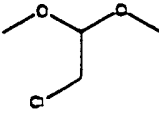
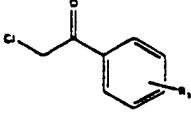
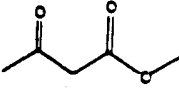
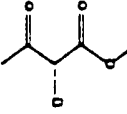
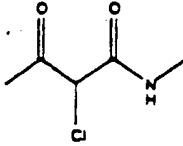


Komerčně dostupný methylkyanoacetát byl alkylován s bromacet-
aldehyd diethyl acetalem za přítomnosti uhličitanu draselného a NaI za
získání (19). Cyklizace na pyrimidin (20) bylo dosaženo ve dvou krocích.
Nejprve byl vytvořen pyrimidin-acetal prostřednictvím reakce (19)
s benzamidinem hydrochloridem se 2 ekvivalenty DBU. Získaný pyrimidin-
acetal byl zbaven chránící skupiny bez purifikace s vodným 1N HCl a získaný

aldehyd cyklizoval na pyrrol-pyrimidin (20), který byl izolován filtrací. Reakce (20) s oxychloridem fosforečným při refluxu poskytla odpovídající 4-chlorderivát (21). Kuplování chlor-derivátu s trans-aminocyklohexanolem v DMSO při 135 °C poskytla sloučeninu (18) ze sloučeniny (21).

Schémat II-VIII demonstrují, že je možné funkcionalizovat 5- a 6-pozici na pyrrolpyrimidinovém kruhu. Přes použití různých výchozích reakčních látek a mírnými modifikacemi výše uvedených reakčních schémat mohou být zavedeny různé funkční skupiny na 5- a 6-pozice ve vzorci (I) a (II). Tabulka 2 dokládá některé příklady.

Tabulka 2. Seznam vybraných 5- a 6-substituovaných pyrrolpyrimidinů.

Výchozí reagens	R ₅	R ₆
	H	
	H	Substit Ar
	H	CH ₂ C(O)OCH ₃
	C(O)OCH ₃	CH ₃
	C(O)NHCH ₃	CH ₃

Odborník znalý techniky bude vědět, že metabolismus sloučenin zde popsaných produkuje v subjektu některé biologicky aktivní metabolity, které mohou sloužit jako léčiva.

Vynález je dále ilustrován následujícími příklady, které by neměly být v žádném případě omezující. Obsahy všech odkazů, souvisejících patentových přihlášek a zveřejněných patentových přihlášek, citovaných v této přihlášce, včetně těch, které jsou odkazovány v sekci „background“, jsou zahrnuty jako odkaz. Mělo by být zřejmé, že modely použité v příkladech jsou akceptované modely a že doložení účinků na těchto modelech je prognózou pro účinky na lidech.

Příklady provedení vynálezu:

Příprava 1:

Byla použita modifikace alkylační metody podle Seela a Lupke ¹. Do ledově chladného (0 °C) roztoku ethyl kyanoacetátu (6,58 g, 58,1 mmol) v MeOH (20 ml) byl pomalu přidáván roztok NaOMe (25% hmotn./obj.; 58,1 mmol). Po 10 min byl pomalu přidán chloraceton (5 ml; 62,8 mmol). Po 4 h bylo rozpouštědlo odstraněno. Hnědý olej byl zředěn EtOAc (100 ml) a promyt s H₂O (100 ml). Organická frakce byla sušena, filtrována a koncentrována na hnědý olej (7,79 g; 79%). Olej (3) (schéma IV) byl směs methyl/ethylesterových produktů (9/1) a byl použit bez další purifikace.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ_{4,24} (q, J = 7,2 Hz, OCH₂), 3,91 (dd, 1H, J = 7,2, 7,0 Hz, CH), 3,62 (s, 3H, OCH₃), 3,42 (dd, 1H, J = 15,0, 7,1 Hz, 1 x CH₂); 3,02 (dd, 1H, J = 15,0, 7,0 Hz, 1 x CH₂); 2,44 (s, 3H, CH₃), 1,26 (t, J = 7,1 Hz, ester-CH₃).

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

Příprava 2:

Byl použit postup podle Seela a Lupke ¹. Ochrana ketonu (3) (Schéma IV; 5,0 g, 32,2mmol) s ethylenglykolem (4 ml, 64,4 mmol) za přítomnosti

TsOH (100 mg) poskytl (4) jako olej (schéma IV; 5,2 g, 81,0) po mžikové chromatografii (SiO_2 ; 3/7 EtOAc/Hex, R_f 0,35). Ještě obsahuje 5% ethylester: ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4,24 (q, $J = 7,2$ Hz, OCH_2), 3,98 (s, 4H, 2 x acetal- CH_2), 3,98 (s, 4H, 2 x acetal- CH_2), 3,79 (s, 3H, OCH_3); 3,62 (dd, 1H, $J = 7,2, 7,0$ Hz, CH); 2,48 (dd, 1H, $J = 15,0, 7,1$ Hz, 1 x CH_2), 2,32 (dd, 1H, $J = 15,0, 7,0$ Hz, 1 x CH_2); 1,35 (s, 3H, CH_3), 1,26 (t, $J = 7,1$ Hz, ester- CH_3); MS (ES): 200,1 ($M + 1$).

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

Příprava 3:

Roztok acetalu (4) (Schéma IV; 1 g, 5,02 mmol), benzamidinu (786 mg, 5,02 mmol) a DBU (1,5 ml, 10,04 mmol) v suchém DMF (15 ml) byl zahříván na 85 °C po 15 hodin. Směs byla zředěna s CHCl_3 (30 ml) a promyta s 0,5 N NaOH (10 ml) a H_2O (20 ml). Organická frakce byla sušena, filtrována a koncentrována na hnědý olej. Mžiková chromatografie (SiO_2 ; 1/9 EtOAc/ CH_2Cl_2 , R_f 0,35) byla nepodařená, a materiál krystalizoval v koloně.- Silikagel byl promyt MeOH. Frakce obsahující produkt (5) (schéma IV) byly koncentrovány a použity bez další purifikace (783 mg, 54,3 %):

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 8,24 (m, 2 H, Ar-H), 7,45 (m, 3H, Ar-H), 5,24 (br s, 2H, NH_2), 3,98 (s, 4H, 2 x acetal- CH_2); 3,60- 3,15 (m, 2H, CH_2); 1,38 (s, 3H, CH_3); MS (ES): 288,1 ($M + 1$).

Příprava sloučeniny (20) (schéma VIII): Roztok acetalu (19) (4,43 g, 20,6 mmol) ¹, benzaminu hydrochloridu (3,22 g, 20,6 mmol), a DBU (6,15 ml, 41,2 mmol) v suchém DMF (20 ml) byl zahříván na 85 °C po patnáct hodin. Směs byla zředěna 100 ml CHCl_3 a promyta s H_2O (2 x 50 ml). Organická frakce byla sušena, filtrována a koncentrována na temně hnědý olej. Temně hnědý olej byl míchán v 1N HCl (100 ml) po 2 hodiny při teplotě místnosti. Získaná kaše byla filtrována za získání HCl soli (20) jako hnědavé pevné látky (3,60 g, 70,6 %);

^1H NMR (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11,92 (s, 1H), 8,05 (m, 2H, Ar-H), 7,45 (m, 3H, Ar-H), 7,05 (s, 1H, pyrrol-H); MS (ES): 212,1 ($M + 1$).

Příprava 4:

Roztok acetalu (54) (700 mg, 2,44 mmol) v 1N HCl (40 ml) byl míchán po 2 hodiny při teplotě místnosti. Získaná kaše byla filtrována za získání HCl soli 2-fenyl-6-methyl-7*H*-pyrrolo[2,3*d*]pyrimidin-4(3*H*)-onu jako hnědavé pevné látky (498 mg, 78,0 %):

¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11,78 (s, 1H), 8,05 (m, 2H, Ar-H), 7,45 (m, 3H, Ar-H), 6,17 (s, 1H, pyrrol-H); MS (ES), 2,25 (s, 3H, CH₃); MS (ES): 226,1 (M + 1).

Příprava 5:

Byla použita modifikace podle *Chen a kol.*, cyklizační metody ¹. Do ledově chladného (0 °C) roztoku bromidu (9) (Schéma V; 20,0 g, 108 mmol; 90 % čistota) v isopropylalkoholu (60 ml) byl pomalu přidán roztok α-methylbenzylaminu (12,5 ml, 97,3 mmol). Černý roztok byl ponechán ohřát na teplotu místnosti a míchán po 15 hodin. Směs byla zředěna s EtOAc (200 ml) a promyta s 0,5 N NaOH (50 ml). Organická frakce byla sušena, filtrována a koncentrována na černý dehet (19,2 g; 94 %). Zůstatek byl částečně purifikován mžikovou chromatografií (SiO₂; 4/96 MeOH/CH₂Cl₂, R_f 0,35) na černou pevnou látku (6,38 g, 31 %) jako sloučenina *dl*-1-(1-fenylethyl)-2-amino-3-kyano-4-methylpyrrol: MS (ES): 226,1 (M+1). ¹ Chen , Y. L.; Mansbach, R. S.; Winter , S. M.; Brooks, E.; Collins, J.; Corman, M. L.; Dunauskis, A. R.; Faraci, W. S.; Gallaschun, R. J.; Schmidt, A.; Schulz, D. W., *J. Med. Chem.* 1997, 40, 1749-1754.

Příprava 6:

Do roztoku *dl*-1-(1-fenylethyl)-2-amino-3-kyano-4,5-dimethylpyrrolu ¹ (14,9 g, 62,5 mmol) a pyridinu (10,0 ml) v dichlormethanu (50,0 ml) byl přidán benzoylchlorid (9,37 g, 66,7 mmol) při 0 °C. Po míchání při 0 °C po 1 hodinu byl přidán hexan (10, ml), aby napomohl srážení produktu. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a pevná látka rekrystalizovala



z EtOH/H₂O za získání 13,9 g (65 %) *dl*-1-(1-fenylethyl)-2-fenyl-karbonylamino-3-kyano-4,5-dimethylpyrrolu. T.t. 218-221 °C;

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1,72 (s, 3H), 1,76 (d, J = 7,3 Hz, 3H), 1,98 (s, 3H); 5,52 (q, J = 7,3 Hz, 1H), 7,14 – 7,54 (m, 9H), 7,68-7,72 (dd, J = 1,4 Hz, 6,9 Hz, 2H), 10,73 (s, 1H); MS (ES): 344,4 (M + 1).

¹ Liebigs Ann. Chem. 1986, 1485-1505.

Následující sloučeniny byly získány podobným postupem.

Příprava 6A:

dl-1-(1-fenylethyl)-2-(3-pyridyl)karbonylamino-3-kyano-4,5-dimethylpyrrol.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.83 (d, J=6.8 Hz, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 5.50 (q, J=6.8 Hz, 1H), 7.14-7.42 (m, 5H), 8.08 (m, 2H), 8.75 (m, 3H); MS (ES): 345.2 (M⁺+1).

dl-1-(1-fenylethyl)-2-(2-furyl)karbonylamino-3-kyano-4,5-dimethylpyrrol.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.84 (d, J=6.8 Hz, 3H), 1.92 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 5.49 (q, J=7.4 Hz, 1H), 6.54 (dd, J=1.8 Hz, 3.6 Hz, 1H), 7.12-7.47 (m, 7H); MS (ES): 334.2 (M+1), 230.1

dl-1-(1-fenylethyl)-2-(3-furyl)karbonylamino-3-kyano-4,5-dimethylpyrrol.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.80 (s, J=7 Hz 3H), 1.89 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 5.48 (q, J=7 Hz, 1H), 6.59 (s, 1H), 7.12-7.40 (m, 6H), 7.93 (s, 1H); MS (ES): 334.1 (M+1), 230.0.

dl-1-(1-fenylethyl)-2-cyklopentylkarbonylamino-3-kyano-4,5-dimethylpyrrol.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.82 (d, J=7.4 Hz, 3H), 1.88 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.63-1.85 (m, 8H), 2.63 (m, 1H), 5.43 (q, J=7.4 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 7.05-7.20 (m, 5H); MS (ES): 336.3 (M+1).

dl-1-(1-fenylethyl)-2-(2-thienyl)karbonylamino-3-kyano-4,5-dimethylpyrrol,

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.82 (d, $J=6.8$ Hz, 3H), 1.96 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 5.49 (q, $J=6.8$ Hz, 1H), 7.05-7.55 (m, 8H); 350.1 (M+1), 246.0.

dl-1-(1-fenylethyl)-2-(3-thienyl)karbonylamino-3-kyano-4,5-dimethylpyrrol.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.83 (d, $J=7.0$ Hz, 3H), 1.99 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 5.49 (q, $J=7.0$ Hz, 1H), 6.90 (m, 1H), 7.18-7.36 (m, 6H), 7.79 (m, 1H); MS (ES): 350.2 (M+1), 246.1.

dl-1-(1-fenylethyl)-2-(4-fluorfenyl)karbonylamino-3-kyano-4,5-dimethylpyrrol.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.83 (d, $J=7.4$ Hz, 3H), 1.96 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 5.51 (q, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.16-7.55 (m, 9H); MS (ES): 362.2 (M+1), 258.1.

dl-1-(1-fenylethyl)-2-(3-fluorfenyl)karbonylamino-3-kyano-4,5-dimethylpyrrol.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.83 (d, $J=7.4$ Hz, 3H), 1.97 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 5.50 (q, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.05-7.38 (m, 7H), 7.67-7.74 (m, 2H); MS (ES): 362.2 (M+1), 258.1.

dl-1-(1-fenylethyl)-2-(2-fluorfenyl)karbonylamino-3-kyano-4,5-dimethylpyrrol.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.85 (d, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.94 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 5.50 (q, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.12-7.35 (m, 6H), 7.53 (m, 1H), 7.77 (m, 1H), 8.13 (m, 1H); MS (ES): 362.2 (M+1), 258.0.

dl-1-(1-fenylethyl)-2-isopropylkarbonylamino-3-kyano-4,5-dimethylpyrrol.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.19 (d, $J=7.0$ Hz, 6H), 1.82 (d, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.88 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.46 (m, 1H), 5.39 (m, $J=7.2$ Hz, 1H), 6.64 (s, 1H), 7.11-7.36 (m, 5H); MS (ES): 310.2 (M+1), 206.1.

V případě acylace *dl*-1-(1-fenylethyl)-2-amino-3-kyano-4-methylpyrrolu byly získány monoacylovaný *dl*-1-(1-fenylethyl)-2-benzoylamino-3-kyano-4-di-

methylypyrrol a diacylovaný pyrrol *dl*-1-(1-fenylethyl)-2-dibenzoylamino-3-kyano-4-methylypyrrol.

Monoacylovaný pyrrol: ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.69 (d, 2H, $J=7.8$ Hz, Ar-H), 7.58-7.12 (m, 8H, Ar-H), 6.18 (s, 1H, pyrrol-H), 5.52 (q, 1H, $J=7.2$ Hz, CH-CH₃), 2.05 (s, 3H, pyrrol-CH₃), 1.85 (d, 3H, $J=7.2$ Hz, CH-CH₃); MS (ES): 330.2 (M+1);

Diacylovaný pyrrol: ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.85 (d, 2H, $J=7.7$ Hz, Ar-H), 7.74 (d, 2H, $J=7.8$ Hz, Ar-H), 7.52-7.20 (m, 9H, Ar-H), 7.04 (m, 2H, Ar-H), 6.21 (s, 1H, pyrrol-H), 5.52 (q, 1H, $J=7.2$ Hz, CH-CH₃), 1.77 (d, 3H, $J=7.2$ Hz, CH-CH₃) 1.74 (s, 3H, pyrrol-CH₃); MS (ES): 434.1 (M+1).

Příprava 7:

Do roztoku *dl*-1-(fenylethyl)-2-fenylkarboxyamido-3-kyano-4,5-dimethylypyrrolu (1.0 g, 2.92 mmol) v methanolu (10.0 ml) byla přidána koncentrovaná kyselina sírová (1.0 ml) při 0 °C. Získaná směs byla refluxována po 15 hodin a ochlazená zpět teplotu místnosti. Sraženina byla filtrována za získání 0.48 g (48%) *dl*-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrol[2,3d]pyrimidin-4-(3H)-onu.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 2.02 (d, $J=7.4$ Hz, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 6.25 (q, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.22-7.50 (m, 9H), 8.07-8.12 (dd, $J=3.4$ Hz, 6.8 Hz, 2H), 10.51 (s, 1H); MS (ES): 344.2 (M+1).

Následující sloučeniny byly získány podobným postupem jako v Přípravě 7:

dl-5,6-dimethyl-2-(3-pyridyl)-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrol[2,3d]pyrimidin-4-(3H)-on.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 2.03 (d, $J=7.2$ Hz, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 6.24 (q, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.09-7.42 (m, 5H), 8.48 (m, 2H), 8.70 (m, 3H); MS (ES): 345.1 (M+1).

dl-5,6-dimethyl-2-(2-furyl)-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.98 (d, J=7.8 Hz, 3H), 1.99 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 6.12 (q, J=7.8 Hz, 1H), 6.48 (dd, J=1.8 Hz, 3.6 Hz, 1H), 7.17-7.55 (m, 7H), 9.6 (s, 1H); MS (ES): 334.2 (M+1).

dl-5,6-dimethyl-2-(3-furyl)-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrolo[2,3d]pyridin-4(3H)-on.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.99 (d, J=7 Hz, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 6.24 (q, J=7 Hz, 1H), 7.09 (s, 1H), 7.18-7.32 (m, 5H), 7.48 (s, 1H), 8.51 (s, 1H); MS (ES): 334.2 (M+1).

dl-5,6-dimethyl-2-cyklopentyl-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.95 (d, J=7.4 Hz, 3H), 2.00 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 1.68-1.88 (m, 8H), 2.97 (m, 1H), 6.10 (q, J=7.4 Hz, 1H), 7.16-7.30 (m, 5H), 9.29 (s, 1H); MS (ES): 336.3 (M+1).

dl-5,6-dimethyl-2-(2-thienyl)-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 2.02 (d, J=7.2 Hz, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 6.13 (q, J=7.2 Hz, 1H), 7.12 (dd, J=4.8 Hz, 2.8 Hz, 1H), 7.26-7.32 (m, 5H), 7.44 (d, J=4.8 Hz, 1H), 8.01 (d, J=2.8 Hz, 1H), 11.25 (s, 1H); MS (ES): 350.2 (M+1)

dl-5,6-dimethyl-2-(3-thienyl)-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 2.00 (d, J=7.4 Hz, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 6.24 (q, J=7.4 Hz, 1H), 7.24-7.33 (m, 5H), 7.33-7.39 (m, 1H), 7.85 (m, 1H), 8.47 (m, 1H), 12.01 (s, 1H); MS (ES): 350.2 (M+1).

dl-5,6-dimethyl-2-(4-fluorfenyl)-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrol[2,3d] pyrimidin-4(3H)-on.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 2.01 (d, $J=6.8$ Hz, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 6.26 (q, $J=6.8$ Hz, 1H), 7.12-7.36 (m, 7H), 8.23-8.30 (m, 2H), 11.82 (s, 1H); MS (ES): 362.3 (M+1).

dl-5,6-dimethyl-2-(3-fluorfenyl)-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 2.02 (d, $J=7.4$ Hz, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 6.29 (q, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.13-7.51 (m, 7H), 8.00-8.04 (m, 2H), 11.72 (s, 1H); MS (ES): 362.2 (M+1).

dl-5,6-dimethyl-2-(2-fluorfenyl)-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrol[2,3d] pyrimidin-4(3H)-on.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 2.00 (d, $J=7.2$ Hz, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 6.24 (q, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.18-7.45 (m, 8H), 8.21(m, 1H), 9.54 (s, 1H); MS (ES): 362.2 (M+1).

dl-5,6-dimethyl-2-isopropyl-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.30 (d, $J=6.8$ Hz, 3H), 2.32 (d, $J=7.0$ Hz, 3H), 2.01 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 2.90 (m, 1H), 6.13 (m, 1H), 7.17-7.34 (m, 5H), 10.16 (s, 1H); MS (ES): 310.2 (M+1).

Příprava 8:

Roztok *dl*-1-(fenylethyl)-2-benzoylamino-3-kyano-4-dimethylpyrrolu (785 mg, 2.38 mmol) s koncentrovanou H_2SO_4 (1 ml) v DMF (13 ml) byl míchán při 130 °C po 48 h. Černý roztok byl zředěn s CHCl_3 (100 ml) a promyt 1N NaOH (30 ml) a solankou (30 ml). Organická frakce byla sušena, filtrována, koncentrována a purifikována mžikovou chromatografií (SiO_2 ; 8/2 EtOAc / Hex, R_f 0.35) na hnědou pevnou látku (184 mg, 24 %) jako *dl*-5-methyl-2-fenyl-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 8.18 (m, 2H, Ar-H), 7.62-7.44 (m, 3H, Ar-H), 7.40-7.18 (m, 5H, Ar-H), 6.48 (s, 1H, pyrrol-H), 6.28 (q, 1H, $J=7.2$ Hz, CH-

CH₃), 2.18 (s, 3H, pyrrol-CH₃), 2.07 (d, 3H, J=7.2 Hz, CH-CH₃); MS (ES): 330.2 (M+1).

Příprava 9:

Směs *dl*-1-(fenylethyl)-2-amino-3-kyano-4,5-dimethylpyrrolu (9.60 g, 40.0 mmol) a mravenčí kyseliny (50.0 ml, 98 %) byla refluxována 5 hodin. Po ochlazení na teplotu místnosti a seškrábnutí stěn baňky, byla vytvořena sraženina a filtrována. Materiál byl promýván vodou až výplachy vykazovaly neutrální pH za získání *dl*-5,6-dimethyl-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrol[2,3d]-pyrimidin-4(3H)-onu.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.96 (d, J=7.4 Hz, 3H), 2.00 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 6.21 (q, J=7.4 Hz, 1H), 7.11-7.35 (m, 5H), 7.81 (s, 1H), 11.71 (s, 1H); MS (ES): 268.2 (M+1).

Příprava 10:

dl-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrol[2,3d]pyrimidin-4-(3H)-on (1.0 g, 2.91 mmol) byl suspendován v polyfosforečné kyselině (30.0 ml). Směs byla zahřívána při 100 °C po 4 hodiny. Horká suspenze byla nalita na ledovou vodu, intenzivně míchána, aby se rozpustila suspenze, a alkalizována na pH 6 se pevným KOH. Získaná pevná látka byla spojena za získání 0.49 g (69%) 5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-onu.

¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*) δ 2.17 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 7.45 (br, 3H), 8.07 (br, 2H), 11.49 (s, 1H), 11.82 (s, 1H); MS (ES): 344.2 (M+1).

Následující sloučeniny byly získány podobným způsobem jako sloučeniny v přípravě 10:

5-methyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on.

MS (ES): 226.0 (M+1).

5,6-dimethyl-2-(3-pyridyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on.

MS (ES): 241.1 (M+1).

5,6-dimethyl-2-(2-furyl)-7H-pyrrol [2,3d] pyrimidin-4(3H)-on.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 2.13 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 6.39 (dd, J = 1.8, 3.6 Hz, 1H), 6.65 (dd, J = 1.8 Hz, 3.6 Hz, 1H), 7.85 (dd, J = 1.8, 3.6 Hz, 1H), 11.45 (s, 1H), 11.60 (s, 1H); MS (ES): 230.1 (M+1).

5,6-dimethyl-2-(3-furyl)-7H-pyrrol [2,3d] pyrimidin-4(3H)-on.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 2.14 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 6.66 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 11.3 (s, 1H), 11.4 (s, 1H); MS (ES): 230.1 (M+1).

5,6-dimethyl-2-cyklopentyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 1.57-1.91 (m, 8H), 2.12 (s, 3H), 2.16 (s, 3H), 2.99 (m, 1H), 11.24 (s, 1H), 11.38 (s, 1H); MS (ES): 232.2 (M+1).

5,6-dimethyl-2-(2-thienyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 2.14 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 7.14 (dd, J =3.0, 5.2 Hz, 1H), 7.70 (d, J =5.2 Hz, 1H), 8.10 (d, J =3.0 Hz, 1H), 11.50 (s, 1H); MS (ES): 246.1 (M+1).

5,6-dimethyl-2-(4-fluorofenyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 2.17 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 7.31 (m, 2H), 8.12 (m, 2H), 11.47 (s, 1H); MS (ES): 258.2 (M+1).

5,6-dimethyl-2-(3-fluorofenyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 2.18 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 7.33 (m, 1H), 7.52 (m, 1H), 7.85-7.95 (m, 2H), 11.56 (s, 1H), 11.80 (s, 1H); MS (ES): 258.1 (M+1)

5,6-dimethyl-2-(2-fluorofenyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 2.18 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 7.27-7.37 (m, 2H), 7.53 (m, 1H), 7.68 (m, 1H), 11.54 (s, 1H), 11.78 (s, 1H); MS (ES): 258.1 (M+1).

5,6-dimethyl-2-isopropyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 1.17 (d, $J=6.6$ Hz, 6H), 2.11 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 2.81 (m, 1H), 11.20 (s, 1H), 11.39 (s, 1H); MS (ES): 206.1 (M+1).

5,6-dimethyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-on.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 2.13 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 7.65 (s, 1H); MS (ES): 164.0 (M+1).

Příprava 11:

Roztok 5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin-4(3H)-onu (1.0 g, 4.2 mmol) v oxychloridu fosforečném (25.0 ml) byl refluxován po šest hodin a potom koncentrován ve vakuu do sucha. Do zůstatku byla přidána voda, aby se indukovala krystalizace, a získaná pevná látka byla filtrována a spojena za získání 0.90 g (83 %) 4-chlor-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidinu.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 2.33 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 7.46-7.49 (m, 3H), 8.30-8.35 (m, 2H), 12.20 (s, 1H); MS (ES): 258.1 (M+1).

Následující sloučeniny byly získány stejným způsobem jako v Přípravě 11:

4-chlor-5-methyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

MS (ES): 244.0 (M+1).

4-chlor-6-methyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

MS (ES): 244.0 (M+1).

4-chlor-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 8.35 (2, 2H), 7.63 (br s, 1H), 7.45 (m, 3H), 6.47 (br s, 1H); MS (ES): 230.0 (M+1).

4-chlor-5,6-dimethyl-2-(3-pyridyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

MS (ES): 259.0 (M+1).

4-chlor-5,6-dimethyl-2-(2-furyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 2.35 (s, 3H), 2.35 (s, 3H), 6.68 (dd, J = 1.8, 3.6 Hz, 1H), 7.34 (dd, J = 1.8 Hz, 3.6 Hz, 1H), 7.89 (dd, J = 1.8, 3.6 Hz, 1H); MS (ES): 248.0 (M+1).

4-chlor-5,6-dimethyl-2-(3-furyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 2.31 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 6.62 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 12.02 (s, 1H); MS (ES): 248.1 (M+1).

4-chlor-5,6-dimethyl-2-cyklopentyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 1.61-1.96 (m, 8H), 2.27 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 3.22 (m, 1H), 11.97 (s, 1H); MS (ES): 250.1 (M+1).

4-chlor-5,6-dimethyl-2-(2-thienyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 2.29 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 7.14 (dd, J = 3.1 Hz, 4.0 Hz, 1H), 7.33 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 12.19 (s, 1H); MS (ES): 264.1 (M+1).

4-chlor-5,6-dimethyl-2-(3-thienyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 2.32 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 7.62 (dd, J =3.0, 5.2 Hz, 1H), 7.75 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 8.2 (d, J = 3.0 Hz, 1H); MS (ES): 264.0 (M+1).

4-chlor-5,6-dimethyl-2-(4-fluorfenyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 2.33 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 7.30 (m, 2H), 8.34 (m, 2H), 12.11 (s, 1H); MS (ES): 276.1 (M+1).

4-chlor-5,6-dimethyl-2-(3-fluorfenyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 2.31 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 7.29 (m, 1H), 7.52 (m, 1H), 7.96 (m, 1H), 8.14 (m, 1H), 11.57 (s, 1H); MS (ES): 276.1 (M+1).

4-chlor-5,6-dimethyl-2-(2-fluorfenyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.



^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 2.34 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 7.33 (m, 2H), 7.44 (m, 1H), 7.99 (m, 1H), 12.23 (s, 1H); MS (ES): 276.1 (M+1).

4-chlor-5,6-dimethyl-2-isopropyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 1.24 (d, J = 6.6 Hz, 6H), 2.28 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 3.08 (q, J = 6.6 Hz, 1H), 11.95 (s, 1H); MS (ES): 224.0 (M+1).

4-chlor-5,6-dimethyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 2.31 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 8.40 (s, 1H); MS (ES): 182.0 (M+1).

dl-4-chlor-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrol[2,3d]pyrimidin.

Příprava 12

Do roztoku *dl*-1,2-diaminopropanu (1,48 g, 20,0 mmol) a uhličitanu sodného (2,73 g, 22,0 mmol) v dioxanu (100,0 ml) a vodě (100,0 ml) byl přidán di-terc-dikarbonát (4,80 g, 22,0 mmol) při teplotě místnosti. Získaná směs byla míchána po 14 hodin. Dioxan byl odstraněn ve vakuu. Sraženina byla odfiltrována a filtrát byl koncentrován ve vakuu do sucha. Zůstatek byl rozetřen s EtOAc a potom filtrován. Filtrát byl koncentrován ve vakuu do sucha za získání směsi *dl*-1-amino-2-(1,1-dimethylethoxy)karbonylamino-propanu a *dl*-2-amino-1-(1,1-dimethylethoxy)karbonylamino-propanu, které nebyly oddělitelné normální chromatografickou metodou. Směs byla použita pro reakci v příkladu 8.

Příprava 13

Do roztoku Fmoc- β -Ala-OH (1,0 g, 3,212 mmol) a oxalylchloridu (0,428 g, 0,29 ml, 3,373 mmol) v dichlormethanu (20,0 ml) bylo přidáno několik kapek *N,N*-dimethylformamidu při 0 °C. Směs byla míchána při teplotě místnosti po 1 hodinu, následovalo přidání cyklopropylmethylaminu (0,229 g, 0,28 ml, 3,212 mmol) a triethylaminu (0,65 g, 0,90 ml, 6,424 mmol). Po 10 min byla směs zpracována s 1 M hydrochloridu (10,0 ml) a

vodná směs byla extrahována s dichlormethanem (3 x 30,0 ml). Organický roztok byl koncentrován ve vakuu do sucha. Zůstatek byl zpracován s roztokem 20% piperidinu v N,N-dimethylformamidu (20,0 ml) po 5 hodin. Po odstranění rozpouštědla ve vakuu byl zůstatek zpracován s 1M hydrochloridem (20,0 ml) a ethylacetátem (20,0 ml). Směs byla oddělena a vodná vrstva byla alkalizována pevným hydroxidem sodným na pH 8. Sraženina byla odstraněna filtrací a vodný roztok byl podroben iontové výměně na koloně promýváním s 20% pyridinem za získání 0,262 g (57%) N-cyklopropylmethyl β -alanin amidu.

^1H NMR (200 MHz, CD_3OD) δ 0,22 (m, 2H), 0,49 (m, 2H), 0,96 (m, 2H), 2,40 (t, 2H), 2,92 (t, 2H), 3,05 (d, 2H); MS (ES): 143,1 (M+1).

Příprava 14

N-terc-butoxykarbonyl-trans-1,4-cyklohexyldiamin.

Trans-1,4-cyklohexyldiamin (6,08 g, 53,2 mmol) byl rozpuštěn v dichlormethanu (100 ml). Roztok di-terc.butyldikarbonátu (2,32 g, 10,65 mmol ve 40 ml dichlormethanu) byl přidán kanylou. Po 20 hodinách byla reakční směs rozdělena mezi CHCl_3 a vodu. Vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla extrahována CHCl_3 (3x). Spojené organické vrstvy byly sušeny nad MgSO_4 , filtrovány a koncentrovány za získání 1,20 g bílé pevné látky (53 %).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,0 – 1,3 (m, 4H), 1,44 (s, 9H), 1,8 – 2,1 (m, 4H), 2,62 (brm, 1H), 3,40 (brs, 1H), 4,37 (brs, 1H); MS (ES): 215.2 (M+1).

4-(N-acetyl)-N-terc.butoxykarbonyl-trans-1,4-cyklohexyldiamin.

N-terc.butoxykarbonyl-trans-1,4-cyklohexyldiamin (530 mg, 2,47 mmol) byl rozpuštěn v dichlormethanu (20 ml). Po kapkách byl přidán acetanhydrid (250 mg, 2,60 mmol). Po 16 hodinách byla reakční směs zředěna vodou a CHCl_3 . Vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla extrahována s CHCl_3 (3x). Spojené organické vrstvy byly sušeny nad MgSO_4 , filtrovány a koncentrovány. Rekrystalizace ($\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$) poskytla 190 mg bílých krystalů (30%).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 0,9 – 1,3 (m, 4H), 1,43 (s, 9H), 1,96 – 2,10 (m, 7H), 3,40 (brs, 1H), 3,70 (brs, 1H), 4,40 (brs, 1H); MS (ES): 257,2 (M-15), 201,1 (M^+ -56).

4-(4-trans-acetamidocyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-(1-fenylethyl)pyrrolo[2,3d]pyrimidin

4-(N-acetyl)-N-terc.butoxykarbonyl-trans-1,4-cyklohexyldiamin (190 mg, 0,74 mmol) byl rozpuštěn v dichlormethanu (5 ml) a zředěn s TFA (6 ml). Po 16 hodinách byla reakční směs koncentrována. Surová pevná látka, DMSO (2 ml), NaHCO_3 (200 mg, 2,2 mmol) a 4-chlor-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrolo[2,3d]pyrimidin (35 mg, 0,14 mmol) byly spojeny v baňce a zahřívány na 130 °C. Po 4,5 hodinách byla reakční směs ochlazená na teplotu místnosti a zředěna EtOAc a vodou. Vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla extrahována EtOAc (3x). Spojené organické vrstvy byly sušeny nad MgSO_4 , filtrovány a koncentrovány. Chromatografie (preparativní deska ze siliky; 20:1 CHCl_3 :EtOH) poskytla 0,3 mg hnědavé pevné látky (1% výtěžek). MS (ES): 378,2 (M+1).

4-(N-methansulfonyl)-N-terc.butoxykarbonyl-trans-1,4-cyklohexyl-diamin.

Trans-1,4-cyklohexyldiamin (530 mg, 2,47 mmol) byl rozpuštěn v dichlormethanu (20 ml) a zředěn pyridinem (233 mg, 3,0 mmol). Po kapkách byl přidán methansulfonylchlorid (300 mg, 2,60 mmol). Po 16 hodinách byla reakční směs zředěna vodou a CHCl_3 . Vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla extrahována s CHCl_3 (3x). Spojené organické vrstvy byly sušeny nad MgSO_4 , filtrovány a koncentrovány. Rekrystalizace (EtOH/ H_2O) poskytla 206 mg bílých krystalů (29%).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,10 – 1,40 (m, 4H), 1,45 (s, 9H), 2,00 – 2,20 (m, 4H), 2,98 (s, 3H), 3,20– 3,50 (brs, 2H), 4,37 (brs, 1H); MS (ES): 293,1 (M+1), 278,1 (M^+ -15), 237,1 (M-56).

4-(4-trans-methansulfamidocyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-(1-fenylethyl)pyrrolo[2,3d]pyrimidin.

4-(N-sulfonyl)-N-terc.butoxykarbonyl-trans-1,4-cyklohexyldiamin (206 mg, 0,71 mmol) byl rozpuštěn v dichlormethanu (5 ml) a zředěn s TFA (6 ml). Po 16 hodinách byla reakční směs koncentrována. Surová reakční směs, DMSO (2 ml), NaHCO₃ (100 mg, 1,1 mmol) a 1-chlor-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrolo[2,3d]pyrimidin byly spojeny v baňce a zahřívány na 130 °C. Po 15 hodinách byla reakční směs ochlazena na teplotu místnosti a zředěna EtOAc (3x). Spojené organické vrstvy byly sušeny nad MgSO₄, filtrovány a koncentrovány. Chromatografie (preparativní deska ze siliky; 20:1 CHCl₃:EtOH) poskytla 2,6 mg hnědavé pevné látky (5% výtěžek). MS (ES): 414,2 (M+1).

Příklad 1

Roztok 4-chlor-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu (0,50 g, 1,94 mmol) a 4-trans-hydroxycyklohexylaminu (2,23 g, 19,4 mmol) v methylsulfoxidu (10,0 ml) byl zahříván při 130 °C po 5 h. Po ochlazení zpět na teplotu místnosti byla přidána voda (10,0 ml) a vzniklý vodný roztok byl extrahován s EtOAc (3 x 10,0 ml). Spojený EtOAc roztok byl sušen (MgSO₄) a filtrován, filtrát byl koncentrován ve vakuu do sucha, zůstatek byl podroben chromatografii na silikagelu za získání 0,49 g (75 %) 4-(4-trans-hydroxycyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu. T.t. 197-199 °C;

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1,25 – 1,59 (m, 3H), 2,08 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 3,68 – 3,79 (m, 1H), 4,32 – 4,38 (m, 1H), 4,88 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,26-7,49 (m, 3H), 8,40-8,44 (dd, J = 2,2, 8 Hz, 2H), 10,60 (s, 1H); MS (ES): 337,2 (M+1).

Následující sloučeniny byly získány podobným způsobem jako v příkladu 1:

4-(4-trans-hydroxycyklohexyl)amino-6-methyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 11,37 (s, 1H, pyrrol-NH), 8,45 (m, 2H, Ar-H), 7,55 (m, 3H, Ar-H), 6,17 (s, 1H, pyrrol-H), 4,90 (br d, 1H, NH), 4,18 (m, 1H,

CH-O), 3,69 (m, 1H, CH-N), 2,40 – 2,20 (m, 2H), 2,19 – 1,98 (m, 2H), 2,25 (s, 3H, CH₃), 1,68 – 1,20 (m, 4H); MS (ES): 323,2 (M+1).

4-(4-trans-hydroxycyklohexyl)amino-5-methyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 11,37 (s, 1H, pyrrol-NH), 8,40 (m, 2H, Ar-H), 7,45 (m, 3H, Ar-H), 5,96 (s, 1H, pyrrol-H), 4,90 (br d, 1H, NH), 4,18 (m, 1H, CH-O), 3,69 (m, 1H, CH-N), 2,38 – 2,20 (m, 2H), 2,18 – 1,98 (m, 2H), 2,00 (s, 3H, CH₃), 1,68 – 1,20 (m, 4H); MS (ES): 323,2 (M+1).

4-(4-trans-hydroxycyklohexyl)amino-2-fenyl-7H-pyrrolo [2,3d]pyrimidin.

T.t. 245.5-246.5 °C;

¹H NMR (200 MHz, CD₃OD) δ 8.33 (m, 2H, Ar-H), 7.42 (m, 3H, Ar-H), 7.02 (d, 1H, J=3.6 Hz, pyrrol-H), 6.53 (d, 1H, J=3.6 Hz, pyrrol-H), 4.26 (m, 1H, CH-O), 3.62 (m, 1H, CH-N), 2.30-2.12 (m, 2H), 2.12-1.96 (m, 2H), 1.64-1.34 (m, 4H); MS, M+1=309.3; Anal (C₁₈H₂₀N₄O) C, H, N.

4-(4-trans-hydroxycyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-(3-pyridyl)-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.21-1.54 (m, 8H); 2.28 (s, 3H); 2.33 (s, 3H); 3.70 (m, 1H), 4.31 (m, 1H), 4.89 (d, 1H), 7.40 (m, 1H), 8.61 (m, 2H), 9.64 (m, 1H); MS (ES): 338.2 (M+1)

4-(4-trans-hydroxycyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-(2-furyl)-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.26-1.64 (m, 8H), 2.22 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 3.72 (m, 1H), 4.23 (m, 1H), 4.85 (d, 1H), 6.52 (m, 1H), 7.12 (m, 1H), 7.53 (m, 1H), 9.28 (s, 1H); MS (ES): 327.2 (M+1).

4-(4-trans-hydroxycyklohexyl)amin-5,6dimethyl-2-(3-furyl)-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.25-1.63 (m, 8H), 2.11 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 3.71 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.84 (d, 1H), 7.03 (m, 1H), 7.45 (m, 1H), 8.13 (m, 1H), 10.38 (m, 1H); MS (ES): 327.2 (M+1)

4-(4-trans-hydroxycyklohexyl)amin-5,6-dimethyl-2-cyklopentyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.26-2.04 (m, 16H), 2.26 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 3.15 (m, 1H), 3.70 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 4.75 (d, 1H); MS (ES): 329.2 (M+1).

4-(4-trans-hydroxycyklohexyl)amin-5,6-dimethyl-2-(2-thienyl-7H-pyrrol-[2,3d]-pyrimidin-4-amin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.28-1.59 (m, 8H), 2.19 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 3.74 (m, 1H), 4.19 (m, 1H), 4.84 (d, 1H), 7.09 (m, 1H), 7.34 (m, 1H), 7.85 (m, 1H), 9.02 (s, 1H); MS (ES): 343.2 (M+1).

4-(4-trans-hydroxycyklohexyl)amin-5,6-dimethyl-2-(3-thienyl)-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.21-1.60 (m, 8H), 1.98 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 3.66 (m, 1H), 4.22 (m, 1H), 7.27 (m, 1H), 7.86 (m, 1H), 11.23 (s, 1H); MS (ES): 343.2 (M+1).

4-(4-trans-hydroxycyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-(4-fluorfenyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.26-1.66 (m, 8H), 1.94 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 3.73 (m, 1H), 4.33 (m, 1H), 4.92 (d, 1H), 7.13 (m, 2H), 8.41 (m, 2H), 11.14 (s, 1H); MS (ES): 355.2 (M+1).

4-(4-trans-hydroxycyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-(3-fluorfenyl)-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.26-1.71 (m, 8H), 2.06 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 3.72 (m, 1H), 4.30 (m, 1H), 4.90 (d, 1H), 7.09 (m, 1H), 7.39 (m, 1H), 8.05 (m, 1H), 8.20 (m, 1H), 10.04 (s, 1H); MS (ES): 355.2 (M+1).

4-(4-trans-hydroxycyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-(2-fluorfenyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.30-1.64 (m, 8H), 2.17 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 3.73 (m, 1H), 4.24 (m, 1H), 4.82 (d, 1H), 7.28 (m, 2H), 8.18 (m, 1H), 9.02 (m, 1H), 12.20 (s, 1H); MS (ES): 355.3 ($\text{M}+1$).

4-(4-trans-hydroxycyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-isopropyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (CDCl_3) δ 1.31 (d, $J=7.0$ Hz, 6H), 1.30-1.65 (m, 8H), 2.27 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 3.01 (m, $J=7.0$ Hz, 1H), 3.71 (m, 1H), 4.14 (m, 1H), 4.78 (d, 1H); MS (ES): 303.2.

dl-4-(2-trans-hydroxycyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-isopropyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.31-1.42 (br, 4H), 1.75-1.82 (br, 4H), 2.02 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 3.53 (m, 1H), 4.02 (m, 1H), 5.08 (d, 1H), 7.41-7.48 (m, 3H), 8.30 (m, 2H), 10.08 (s, 1H); MS (ES): 337.2 ($\text{M}^+ -1$).

4-(3,4-trans-dihydroxycyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin. MS (ES): 353.2 ($\text{M}^+ +1$).

4-(3,4-cis-dihydroxycyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin. MS (ES): 353.2 ($\text{M}^+ +1$).

4-(2-acetylaminoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin
T.t. 196-199 °C;

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.72 (s, 3H), 1.97 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 3.59 (m, 2H), 3.96 (m, 2H), 5.63 (br, 1H), 7.44-7.47 (m, 3H), 8.36-8.43 (dd, $J=1\text{Hz}, 7\text{Hz}, 2\text{H}$), 10.76 (s, 1H); MS (ES): 324.5 ($\text{M}+1$).

dl-4-(2-trans-hydroxycyklopentyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.62 (m, 2H), 1.79 (br, 4H), 1.92 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 4.11 (m, 1H), 4.23 (m, 1H), 5.28 (d, 1H), 7.41-7.49 (m, 3H), 8.22 (m, 2H), 10.51 (s, 1H); MS (ES): 323.2 ($\text{M}+1$).

Pro přípravu 2-trans-hydroxycyklopentylaminu, viz PCT 9417090

dl-4-(2-trans-hydroxycyklopentyl)amin-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.58-1.90 (br, 6H), 2.05 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 4.48-4.57 (m, 1H), 4.91-5.01 (m, 2H), 7.35-7.46 (m, 3H), 8.42-8.47 (m, 2H), 10.11 (s, 1H); MS (ES): 323.2 (M+1).

Pro přípravu 3-trans-hydroxycyklopentylaminu, viz EP-A-322242.

dl-4-(3-cis-hydroxycyklopentyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.82-2.28 (br, 6H), 2.02 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 4.53-4.60 (m, 1H), 4.95-5.08 (m, 1H), 5.85-5.93 (d, 1H), 7.35-7.47 (m, 3H), 8.42-8.46 (m, 2H), 10.05 (s, 1H); MS (ES): 323.2 (M+1).

Pro přípravu 3-cis-hydroxycyklopentylaminu, viz EP-A-322242.

4-(3,4-trans-dihydroxycyklopentyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.92-1.99 (br, 2H), 2.14 (s, 3H), 2.20 (br, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.41-2.52 (br, 2H), 4.35 (m, 2H), 4.98 (m, 2H), 7.38-7.47 (m, 3H), 8.38-8.42 (m, 2H), 9.53 (s, 1H); MS (ES): 339.2 (M+1).

Pro přípravu 3,4-trans-dihydroxycyklopentylaminu, viz PCT 9417090.

4-(3-amino-3-oxopropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 2.02 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.71 (t, 2H), 4.18 (m, 2H), 5.75-5.95 (m, 3H), 7.38-7.48 (m, 3H), 8.37-8.41 (m, 2H), 10.42 (s, 1H); MS (ES): 310.1 (M+1).

4-(3-amino-3-oxopropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 0.51 (q, 2H), 0.40 (q, 2H), 1.79-1.95 (br, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.72 (t, 2H), 2.99 (d, 2H), 4.04 (t, 2H), 7.58-7.62 (m, 3H), 8.22-8.29 (m, 2H); MS (ES): 364.2 (M+1).

4-(2-amino-2-oxoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin

^1H NMR (200 MHz, CD OD) δ 2.31 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 4.26 (s, 2H), 7.36 (m, 3H), 8.33 (m, 2H); MS (ES): 396.1 (M+1).

4-(2-N-methylamino-2-oxoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.99 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 2.82 (d, 3H), 4.39 (d, 2H), 5.76 (t, 1H), 6.71 (br, 1H), 7.41-7.48 (m, 3H), 8.40 (m, 2H), 10.66 (s, 1H); MS (ES): 310.1 (M+1).

4-(3-tert-butyloxyl-3-oxopropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.45 (s, 9H), 1.96 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.71 (t, 2H), 4.01 (q, 2H), 5.78 (t, 1H), 7.41-7.48 (m, 3H), 8.22-8.29 (m, 2H); MS (ES): 367.2 (M+1).

4-(2-hydroxyethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.92 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 3.81-3.98 (br, 4H), 5.59 (t, 1H), 7.39-7.48 (m, 3H), 8.37 (m, 2H), 10.72 (s, 1H); MS (ES): 283.1 (M+1).

4-(3-hydroxypropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.84 (m, 2H), 1.99 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 3.62 (t, 2H), 3.96 (m, 2H), 3.35 (t, 1H), 7.39-7.48 (m, 3H), 8.36 (m, 2H), 10.27 (s, 1H); MS (ES): 297.2 (M+1).

4-(3-hydroxybutyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.71-1.82 (m, 4H), 1.99 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 3.68-3.80 (m, 4H), 5.20 (t, 1H), 7.41-7.49 (m, 3H), 8.41 (m, 2H), 10.37 (s, 1H); MS (ES): 311.2 ($\text{M}+1$).

4-(4-trans-acetylamino-cyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin

4-(4-trans-methylsulfonylamino-cyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin

4-(2-acetyl-aminoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-7-(1-fenylethyl)-pyrrol[2,3d]pyrimidin

4-(4-trans-hydroxycyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-(1-fenylethyl)-pyrrol[2,3d]pyrimidin

4-(3-pyridylmethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrol[2,3d]pyrimidin

4-(2-methylpropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-7-(1-fenylethyl)pyrrol[2,3d]pyrimidin.

Příklad 2

Do míchané suspenze trifenylofosinu (0,047 g, 0,179 mmol) a kyseliny benzoové (0,022 g, 0,179 mmol) v THF (1,0 ml) ochlazené na 0 °C byl přidán 4-(4-trans-hydroxycyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin (0,05 g, 0,149 mmol) při 0 °C. Po kapkách potom byl přidáván po 10 min diethyl azodikarboxylat (0,028 ml, 0,179 mmol). Potom byla reakční směs ponechána ohřát na teplotu místnosti. Po ukončení reakce TLC byla reakční směs zchlazena vodným hydrogenuhlíčitanem sodným (3,0 ml). Vodná fáze byla oddělena a extrahována etherem (2 x 5,0 ml). Organické extrakty byly spojeny, sušeny a koncentrovány ve vakuu do sucha. Do zůstatku byl přidán ether (2,0 ml) a hexan (5,0 ml), přičemž objem trifenylofosfin oxidu byl

odfiltrován. Koncentrování filtrátu poskytlo viskózní olej, který byl purifikován chromatografií na koloně (hexan : ethylacetát = 4:1) za získání 5,0 mg (7,6%) 4-(4-cis-benzoyloxycyklohexyl)-amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu. MS (ES): 441,3 (M+1). Reakce také poskytla 50,0 mg (84%) 4-(3-cyklohexyl)-amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu. MS (ES): 319,2 (M+1).

Příklad 3

Do roztoku 4-(4-cis-benzoyloxycyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrolo[2,3d]pyrimidinu (5,0 mg, 0,0114 mmol) v ethanolu (1,0 ml) bylo přidáno 10 kapek 2M hydroxidu sodného. Po 1 hodině byla reakční směs extrahována s ethylacetátem (3 x 5,0 ml) a organická vrstva byla sušena a koncentrována ve vakuu do sucha. Zůstatek byl podroben chromatografii na koloně (hexan:ethylacetát = 4:1) za získání 3,6 mg (94 %) 4-(4-cis-hydroxycyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrolo[2,3d]pyrimidinu. MS (ES): 337,2 (M+1).

Následující sloučeniny byly získány podobným způsobem jako v příkladu 3:

4-(3-N,N-dimethyl-3-oxopropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 2.01 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.73 (t, 2H), 2.97 (s, 6H), 4.08 (m, 2H), 6.09 (t, 1H), 7.41-7.48 (m, 3H), 8.43 (m, 2H), 10.46 (s, 1H); MS (ES): 338.2 (M+1).

4-(2-formylaminoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 2.26 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 3.59-3.78 (m, 2H), 3.88-4.01 (m, 2H), 5.48-5.60 (m, 1H), 7.38-7.57 (m, 3H), 8.09 (s, 1H), 8.30-8.45 (m, 2H), 8.82 (s, 1H); MS (ES): 310.1 (M+1).

4-(3-acetylaminopropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin. MS (ES): 338.2 (M+1).

Příklad 4

4-(3-terc.butyloxy-3-oxopropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]-pyrimidin (70,0 mg, 0,191 mmol) byl rozpuštěn v kyselině trifluoroctové : dichlormethanu (1:1, 5,0 ml). Získaný roztok byl míchán při teplotě místnosti po 1 hodinu a potom byl refluxován po 2 hodiny. Po ochlazení na teplotu místnosti byla směs koncentrována ve vakuu do sucha. Zůstatek byl podroben preparativní chromatografii na tenké vrstvě (EtOAc:hexan:AcOH = 7:2,5:0,5) za získání 40,0 mg (68%) 4-(3-hydroxy-3-oxopropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidinu.

^1H NMR (200 MHz, CD_3OD) δ 2,32 (s, 3H), 2,38 (s, 3H), 2,81 (t, 2H), 4,01 (t, 2H), 7,55 (m, 3H), 8,24 (m, 2H); MS (ES): 311.1 (M+1).

Následující sloučenina byla získána podobným způsobem jako v příkladu 4:

4-(3-aminopropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

MS (ES): 296.1 (M+1), 279.1 (M - NH_3).

Příklad 5

4-(3-hydroxy-3-oxopropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin (50,0 mg, 0,161 mmol) byl rozpuštěn ve směsi N,N-dimethylformamidu (0,50 ml), dioxanu (0,50 ml) a vody (0,25 ml). Do tohoto roztoku byl přidán methylamin (0,02 ml, 40 % hmotn. ve vodě), triethylamin (0,085 ml) a N,N,N', N'-tetramethyl-uronium tetrafluorborát (61,2 mg, 0,203 mmol). Po míchání při teplotě místnosti po 10 min byl roztok koncentrován a zůstatek byl podroben preparativní chromatografii na tenké vrstvě (EtOAc) za získání 35,0 mg (67 %) 4-(3-N-methyl-3-oxopropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.92 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 2.65 (t, 2H), 4.08 (t, 2H), 5.90 (t, 1H), 6.12 (m, 1H), 7.45 (m, 3H), 8.41 (m, 2H), 10.68 (s, 1H); MS (ES): 311.1 (M+1).

Následující sloučeniny byly získány podobným způsobem jako v příkladu 5:

4-(2-cyklopropankarbonylaminoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin. MS (ES): 350.2 (M+1).

4-(2-isobutyrylaminoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin. MS (ES): 352.2 (M+1).

4-(3-propionylaminoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.00-1.08 (t, 3H), 1.71-2.03 (m, 4H), 2.08 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 3.26-3.40 (m, 2H), 3.79-3.96 (m, 2H), 5.53-5.62 (m, 1H), 6.17-6.33 (m, 1H), 7.33-7.57 (m, 3H), 8.31-8.39 (m, 2H), 9.69 (s, 1H); MS (ES): 352.2 (M+1).

4-(2-methylsulfonylaminoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 2.18 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.92 (s, 3H), 3.39-3.53 (m, 2H), 3.71-3.88 (m, 2H), 5.31-5.39 (m, 1H), 6.17-6.33 (m, 1H), 7.36-7.43 (m, 3H), 8.20-8.25 (m, 2H), 9.52 (s, 1H); MS (ES): 360.2 (M+1).

Příklad 6

Směs 4-chlor-5,6-dimethyl-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu (0,70 g, 2,72 mmol) a 1,2-diaminoethanu (10,0 ml, 150 ml) byla refluxována pod inertní atmosférou po 6 hodin. Přebytek aminu byl odstraněn ve vakuu, zůstatek byl promyt postupně etherem a hexanem za získání 0,75 g (98 %) 4-(2-aminoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu. MS (ES); 282.2 (M+1), 265.1 (M - NH_3).

Příklad 7

Do roztoku 4-(2-aminoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidinu (70,0 mg, 0,249 mmol) a triethylaminu (50,4 mg, 0,498

mmol) v dichlormethanu (2,0 ml) byl přidán propionylchlorid (25,6 mg, 0,024 ml, 0,274 mmol) při 0 °C. Po 1 hodině byla směs koncentrována ve vakuu a zůstatek byl podroben preparativní chromatografii na tenké vrstvě (EtOAc) za získání 22,0 mg (26 %) 4-(2-propionylaminoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu. MS (ES): 338,2 (M + 1).

Následující sloučeniny byly získány podobným způsobem jako v příkladu 7:

4-(2-N'-methylureaethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 2.13 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 3.53 (d, 3H), 3.55 (m, 2H), 3.88 (m, 2H), 4.29 (m, 1H), 5.68 (t, 1H), 5.84 (m, 1H), 7.42 (m, 3H), 8.36 (dd, 2H), 9.52 (s, 1H); MS (ES): 339.3 (M+1).

4-(2-N'-ethylureaethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin. MS (ES): 353.2 (M+1).

Příklad 8

Do roztoku 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu hydrochloridu (41,1 mg, 0,215 mmol), dimethylaminopyridinu (2,4 mg, 0,020 mmol) a kyseliny pyrohroznové (18,9 mg, 0,015 ml, 0,215 mmol) v dichlormethanu (2,0 ml) byl přidán 4-(2-aminoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin (55,0 mg, 0,196 mmol). Směs byla míchána při teplotě místnosti po 4 hodiny. Obvyklé zpracování a chromatografie na koloně (EtOAc) potom poskytly 10,0 mg (15 %) 4-(2'-pyruvylamidoethyl)-amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu. MS (ES): 352.2 (M+1).

Příklad 9

Do roztoku 4-(2-aminoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu (60,0 mg, 0,213 mmol) v dichlormethanu (2,0 ml) byl přidán N-trimethylsilyl isokyanát (43,3 mg, 0,051 ml, 0,320 mmol). Směs byla

míchána při teplotě místnosti po 3 hodiny, následovalo přidání vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Po filtrování přes malé množství silikagelu byl filtrát koncentrován ve vakuu do sucha za získání 9,8 mg (14 %)

4-(2-ureathyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu. MS (ES): 325.2 (M+1).

Následující sloučeniny byly získány podobným způsobem jako v příkladu 9:

dl-4-(2-acetylaminopropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H- pyrrol[2,3d]-pyrimidin.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.28-1.32 (d, J=8 Hz, 3H), 1.66 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 3.76-3.83 (m, 2H), 4.10-4.30 (m, 1H), 5.60-5.66 (t, J=6 Hz, 1H), 7.40-7.51 (m, 3H), 8.36-8.43 (m, 2H), 10.83 (s, 1H); MS (ES): 338.2 (M+1).

(R)-4-(2- acetylaminopropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H- pyrrol[2,3d]-pyrimidin.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.31 (d, 3H), 1.66 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 3.78-3.83 (m, 2H), 4.17-4.22 (m, 1H), 5.67 (t, 1H), 7.38 (7.5 (m, 3H), 8.39 (m, 2H), 10.81 (s, 1H); MS (ES): 338.2 (M+1).

(R)-4-(1-methyl-2-acetylaminoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H- pyrrol-[2,3d]pyrimidin.

¹H NMR(200 MHz, CDCl₃) δ 1.41 (d, 3H), 1.68 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 3.46-3.52 (br, m, 2H), 4.73 (m, 1H), 5.22 (d, 1H), 7.41-7.46 (m, 3H), 8.36 (8.40 (m, 2H), 8.93 (s, 1H); MS (ES): 338.2 (M+1).

(S) -4-(2- acetylaminopropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H- pyrrol[2,3d]-pyrimidin.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.31 (d, 3H), 1.66 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.35 (s, 3H), 3.78-3.83 (m, 2H), 4.17-4.22 (m, 1H), 5.67 (t, 1H), 7.38-7.5 (m, 3H), 8.39 (m, 2H), 8.67 (s, 1H); MS (ES): 338.2 (M+1).



(S)-4-(1-methyl-2-acetylaminoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H- pyrrol-[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.41 (d, 3H), 1.68 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 3.46-3.52 (m, 2H), 4.73 (m, 1H), 5.22 (d, 1H), 7.41-7.46 (m, 3H), 8.36-8.40 (m, 2H), 10.13 (s, 1H); MS (ES): 338.2 (M+1).

Příklad 10

Reakce 4-chlor-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu se směsí *dl*-1-amino-2-(1,1-dimethylethoxy)karbonylamino-propanu a *dl*-2-amino-1-(1,1-dimethylethoxy)karbonylamino-propanu probíhala stejným způsobem jako v příkladu 1. Reakce poskytla směs *dl*-4-(1-methyl-2-(1,1-dimethylethoxy)karbonylamino)ethylamino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidinu a *dl*-4-(2-methyl-2-(1,1-dimethylethoxy)karbonyl-amino)-ethylamino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu, který byl oddělen chromatografií na koloně (EtOAc:hexan = 1:3). První frakcí byl *dl*-4-(1-methyl-2-(1,1-dimethylethoxy)karbonylaminoethyl)amin-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H- pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.29-1.38 (m, 12H), 1.95 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 3.34-3.43 (m, 2H), 4.62-4.70 (m, 1H), 5.36-5.40 (d, $J=8\text{Hz}$, 1H), 5.53 (br, 1H), 7.37-7.49 (m, 3H), 8.37-8.44 (m, 2H), 10.75 (s, 1H). MS 396.3 (M+1); Druhou frakcí byl *dl*-4-(2-(1,1-dimethylethoxy)karbonylaminopropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H- pyrrol[2,3d]pyrimidin:

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.26-1.40 (m, 12H), 2.00 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 3.60-3.90 (m, 2H), 3.95-4.10 (m, 1H), 5.41-5.44 (d, $J=6.0\text{ Hz}$, 1H), 5.65 (br, 1H), 7.40-7.46 (m, 3H), 8.37-8.44 (m, 2H), 10.89 (s, 1H); MS (ES): 396.2 (M+1).

Následující sloučeniny byly získány podobným způsobem jako v příkladu 10:

(S,S)-4-(2-acetylamino-cyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H- pyrrol-[2,3d]pyrimidin:

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.43 (m, 4H), 1.60 (s, 3H), 1.83 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.30 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 3.73 (br, 1H), 4.25 (br, 1H), 5.29 (d, 1H), 7.43-7.48 (m, 3H), 8.35-8.40 (m, 2H), 9.05 (s, 1H).

4-(2-methyl-2-acetylaminopropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin:

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.51 (s, 6H), 1.56 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.36 (s, 3H), 3.76 (d, 2H), 5.78 (t, 1H), 7.41-7.48 (m, 3H), 7.93 (s, 1H), 8.39 (m, 2H), 10.07 (s, 1H); MS (ES): 352.3 (M+1).

Příklad 11:

dl-4-(1-methyl-2-(1,1-dimethylethoxy)karbonylaminoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin (60,6 mg, 0,153 mmol) byl zpracován s kyselinou trifluoroctovou (0,5 ml) v dichlormethanu (2,0 ml) po 14 hodin. Organické rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu do sucha. Zůstatek byl rozpuštěn v *N,N*-dimethylformamidu (2,0 ml) a triethylaminu (2,0 ml). Do roztoku při 0 °C byl přidán acetanhydrid (17,2 mg, 0,016 , 0,169 mmol). Výsledná směs byla míchána při teplotě místnosti po 48 hodin a potom koncentrována ve vakuu do sucha. Zůstatek byl podroben preparativní chromatografii na tenké vrstvě (EtOAc) za získání 27,0 mg (52 %) *dl*-4-(1-methyl-2-acetylaminooethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]-pyrimidinu.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.38-1.42 (d, $J=8$ Hz, 3H), 1.69 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 3.38-3.60 (m, 2H), 4.65-4.80 (m, 1H), 5.23-5.26 (d, $J=6$ Hz, 1H), 7.40-7.51 (m, 3H), 8.37-8.43 (m, 2H), 10.44 (s, 1H); MS (ES): 338.2 (M+1).

Příklad 12:

(*R,R*)-4-(2-aminocyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimidin, připravený podobným způsobem jako v příkladu 1 z 4-chlor-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu (0,15 g, 0,583 mmol) a (1*R*,2*R*)-(-)-1,2-diaminocyklohexanu (0,63 g, 5,517 mol), byl zpracován

s triethylaminem (0,726 g, 7,175 mmol) a acetanhydridem (0,325 g, 3,18 mmol) v N,N-dimethylformamidu (10,0 ml) při teplotě místnosti po 2 hodiny. Po odstranění rozpouštědla ve vakuu byly přidány do zbytku ethylacetát (10,0 ml) a voda (10,0 ml). Směs byla rozdělena a vodná vrstva byla extrahována ethylacetátem (2 x 10,0 ml). Spojený ethylacetátový roztok byl sušen (MgSO_4) a filtrován. Filtrát byl koncentrován ve vakuu do sucha a zůstatek byl podroben chromatografii na koloně (EtOAc : Hexan = 1:1) za získání 57,0 mg (26%) (R,R)-4-(2-acetylaminocyklohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.43 (m, 4H), 1.60 (s, 3H), 1.84 (m, 2H), 2.22 (s, 3H), 2.30 (m, 2H), 2.33 (s, 3H), 3.72 (br, 1H), 4.24 (br, 1H), 5.29 (d, 1H), 7.43-7.48 (m, 3H), 8.35-8.39 (m, 2H), 8.83 (s, 1H); MS (ES): 378.3 ($\text{M}+1$).

Příklad 13:

Do roztoku 4-(2-hydroxyethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu (40,0 mg, 0,141 mmol) v pyridinu (1,0 ml) byl přidán acetanhydrid (0,108 g, 1,06 mmol) při 0 °C. Směs byla míchána při teplotě místnosti po 4 hodiny a rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu. Zůstatek byl podroben preparativní chromatografii na tenké vrstvě (EtOAc:hexan = 1:1) za získání 32,3 mg (71 %) 4-(2-acetyloxyethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.90 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 4.05 (m, 2H), 4.45 (t, 2H), 5.42 (m, 1H), 7.41-7.49 (m, 3H), 8.42 (m, 2H), 11.23 (s, 1H).

Příklad 14:

Roztok Fmoc- β -Ala-OH (97,4 mg, 0,313 mmol) a oxalylchloridu (39,7 mg, 27,3 μl , 0,313 mmol) v dichlormethanu (4,0 ml) s 1 kapkou N,N-dimethylformamidu byl míchán při 0 °C po 1 hodinu, následovalo přidání 4-(2-aminoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu (80,0 mg, 0,285 mmol) a triethylaminu (57,6 mg, 79,4 μl , 0,570 mmol) při 0 °C. Po

6 hodinách byla směs koncentrována ve vakuu a zůstatek byl zpracován s roztokem 20% piperidinu v N,N-dimethylformamidu (2,0 ml) po 0,5 h. Po odstranění rozpouštědla ve vakuu byl zůstatek promyt diethyletherem : hexanem (1:5) za získání 3,0 mg (3%) 4-(6-amino-3-aza-4-oxohexyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu. MS (ES): 353,2 (M + 1).

Příklad 15:

Roztok 4-(2-aminoethyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidinu (70,0 mg, 0,249 mmol) a sukcinanhydridu (27,0 mg, 0,274 mmol) v dichlormethanu (4,0 ml) s 1 kapkou N,N-dimethylformamidu byl míchán při teplotě místnosti po 4 hodiny. Reakční směs byla extrahována 20% hydroxidem sodným (3 x 5,0 ml). Vodný roztok byl okyselen s 3 M hydrochloridu na pH 7,0. Celá směs byla extrahována ethylacetátem (3 x 10 ml). Spojený organický roztok byl sušen (MgSO₄) a filtrován. Filtrát byl koncentrován ve vakuu do sucha za získání 15,0 mg (16%) 4-(7-hydroxy-3-aza-4,7-dioxoheptyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidinu. MS (ES): 382,2 (M + 1).

Příklad 16:

Do 10 ml dimethylformamidu (DMF) při teplotě místnosti bylo přidáno 700 mg 4-cis-3-hydroxycyklopentyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-5,6-dimethyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidinu, následovalo 455 mg N-Boc glycinu, 20 mg N,N-dimethylaminopyridinu (DMAP), 293 mg hydroxybenzotriazolu (HOBT) a 622 mg 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarboimidu hydrochloridu (EDCI). Reakční směs byla ponechána míchat přes noc. DMF byl potom odstraněn za sníženého tlaku a reakční směs byla rozdělena mezi 20 ml ethylacetátu a 50 ml vody. Vodný díl byl extrahován dále 2 x 20 ml ethylacetátu a spojené organické části byly promyty solankou, sušeny nad bezvodým síranem sodným, filtrovány a koncentrovány. Purifikace na silikagelu, promývání ethylacetátem/ hexanem poskytlo 410 mg požadovaného produktu: 4-(cis-3-(N-terc.butoxykarbonyl-2-aminoacetoxy)cyklopentyl)amino-2-fenyl-5,6-dimethyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidu, MS (ES) (M+1)=480.2.

Potom byl ester zpracován s 5 ml 20% trifluoroctové kyseliny v dichlormethanu při teplotě místnosti, ponechán přes noc a potom koncentrován. Rozetření s ethylacetátem poskytlo 300 mg téměř bílé pevné látky; sůl 4-(cis-3-(2-aminoacetoxy)cyklopentyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimid trifluoroctové kyseliny, MS (ES) (M+1) = 380.1.

Odborník z dané oblasti techniky bude očekávat, že následující sloučeniny mohou být syntetizovány metodami popsánymi výše:

4-(cis-3-hydroxycyklopentyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin. MS (ES) (M+1)=323.1

4-(cis-3-(2-aminoacetoxy)cyklopentyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]pyrimid trifluoroctová kyselina, sůl MS (ES) (M+1)=380.1.

4-(3-acetamido)piperidiny-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin MS (ES) (M+1)=364.2.

4-(2-N'-methylureapropyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin, MS (ES) (M+1)=353.4.

4-(2-acetamidobutyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin, MS (ES) (M+1)=352.4.

4-(2-N'-methylureabutyl)amino-5,6-dimethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin, MS (ES) (M+1)=367.5

4-(2-aminocyklopropylacetamidoethyl)amino-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]-pyrimidin. MS (ES) (M+1) = 309.1.

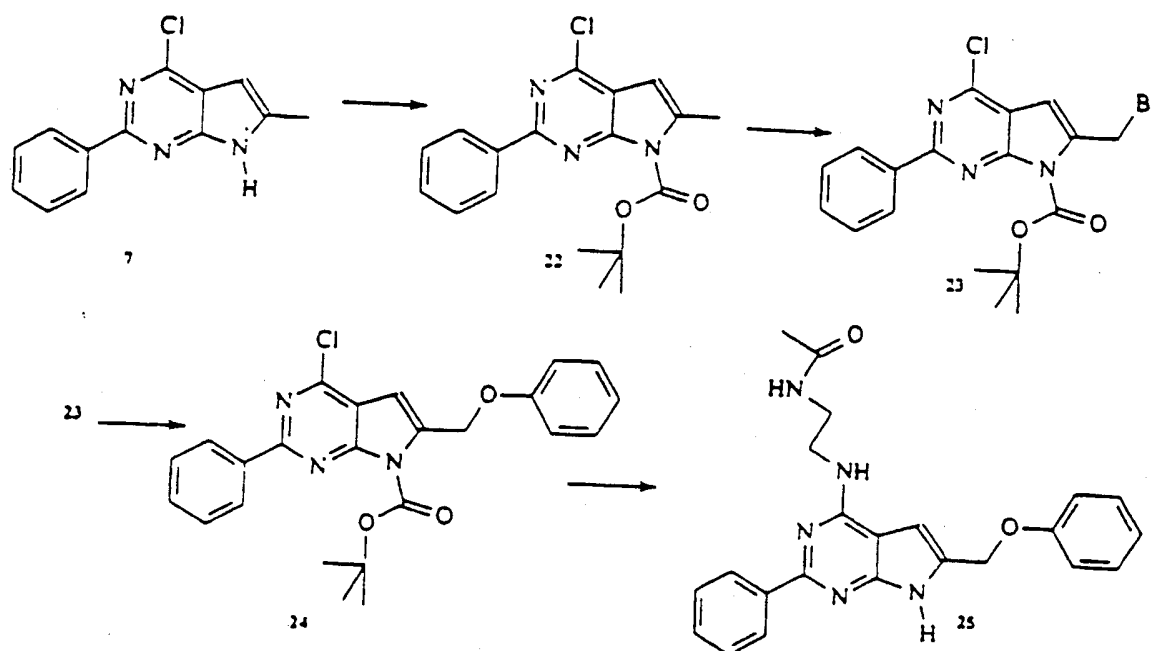
4-(trans-4-hydroxycyklohexyl)amino-2-(3-chlorfenyl)-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin. MS (ES) (M+1) = 342.8.

4-(trans-4-hydroxycyklohexyl)amino-2-(3-fluorofenyl)-7H-pyrrol[2,3d]-pyrimidin. MS (ES) (M+1) = 327.2.

4-(trans-4-hydroxycyklohexyl)amino-2-(4-pyridyl)-7H-pyrrol[2,3d]pyrimidin
MS (ES) (M+1) = 310.2.

Příklad 17

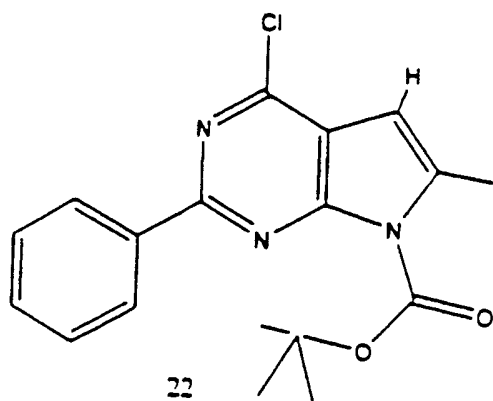
Schéma IX



Pyrrolový dusík ze (7) (schéma IX) byl chráněn di-*t*-butyldikarbonátem za bázičských podmínek za získání odpovídajícího karbamátu (22). Radikální bromace (22) probíhala regioselektivně za získání bromidu (23). Obecně sloučenina (23) sloužila jako klíčový elektrofilní meziprodukt pro různé nukleofilní kuplovací partnery. Přemístění alkylbromidu se sodným fenolátem trihydrátem poskytlo sloučeninu (24). Následné přemístění arylchloridu a

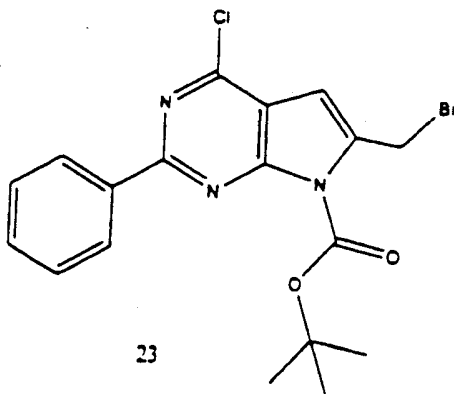
odstranění t-butylkarbamátové chránící skupiny se vyskytlo v jednom kroku za získání požadované sloučeniny (25).

Podrobná syntéza sloučenin (22) – (25) v souladu se schématem IX



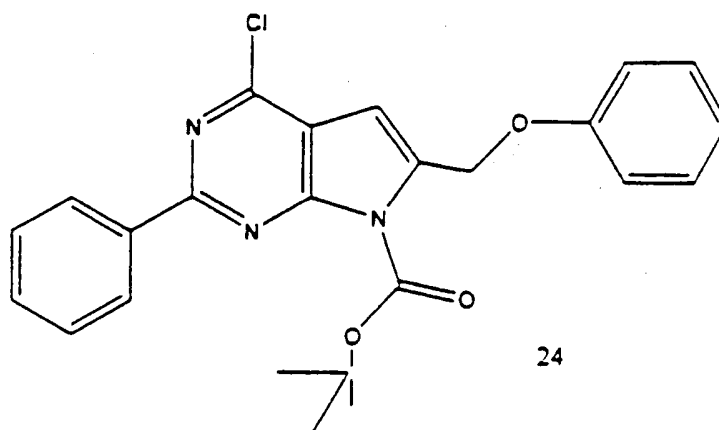
Di-terc.butyl dikarbonát (5,37 g, 24,6 mmol) a dimethyl aminopyridin (1,13 g, 9,2 mmol) byly přidány do roztoku obsahujícího (7) (1,50 g, 6,15mmol) a pyridin (30 ml). Po 20 h byla reakční směs koncentrována a zůstatek byl rozdělen mezi CH_2Cl_2 a vodu. CH_2Cl_2 vrstva byla oddělena, sušena nad MgSO_4 , filtrována a koncentrována za získání černé pevné látky. Mžiková chromatografie (SiO_2 ; 1/9 EtOAc / hexan, R_f 0,40) poskytla výtěžek 1,70 g (80 %) bílé pevné látky (22).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 8,50 (m, 2H, Ar-H), 7,45 (m, 3H, Ar-H), 6,39 (s, 1H, pyrrol-H), 2.66 (s, 3H, pyrrol- CH_3), 1.76 (s, 9H, karbamát- CH_3); MS ($M+1$) = 344,1; T.t. 175 – 177 °C.



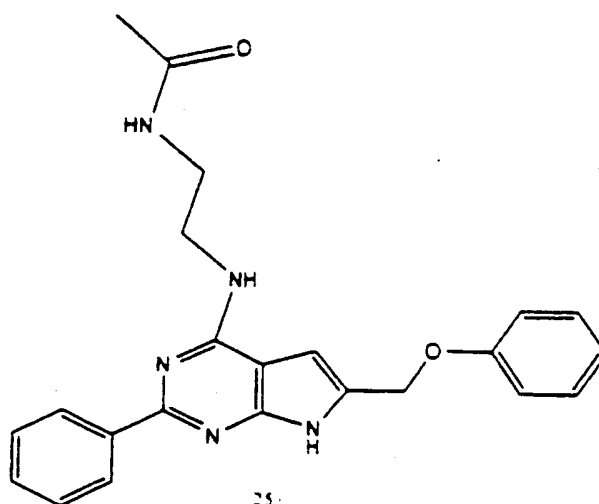
N-Bromosukcinimid (508 mg, 2,86 mmol) a AIBN (112 mg, 0,68 mmol) byly přidány do roztoku obsahujícího (22) (935 mg, 2,71 mmol) a CCl_4 (50 ml). Roztok byl zahříván k refluxu. Po 2 h byla reakční směs ochlazena na teplotu místnosti a koncentrována ve vakuu za získání bílé pevné látky. Mžiková chromatografie (SiO_2 ; 1/1 CH_2Cl_2 /hexan, R_f 0,30) poskytla výtěžek 960 mg (84 %) bílé pevné látky (23).

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 8,52 (m, 2H, Ar-H), 7,48 (m, 3H, Ar-H), 6,76 (s, 1H, pyrrol-H), 4,93 (s, 2H, pyrrol- CH_2Br), 1,79 (s, 9H, karbamát- CH_3); MS ($M+1$) = 423,9; T.t. 155 – 157 °C.



Fenoxid sodný trihydrát (173 mg, 1,02 mmol) byl přidán v jednom dílu do roztoku bromidu (23) (410 mg, 0,97 mmol) rozpuštěného v CH_2Cl_2 (5 ml) a DMF (10 ml). Po 2 h byl reakční roztok rozdělen mezi CH_2Cl_2 a vodu. Vodná vrstva byla extrahována s CH_2Cl_2 . Spojené CH_2Cl_2 vrstvy byly promyty vodou, sušeny nad MgSO_4 , filtrovány a koncentrovány za získání žluté pevné látky. Mžiková chromatografie (SiO_2 ; 1/6 EtOAc/hexan, R_f 0,30) poskytla výtěžek 210 mg (50 %) bílé pevné látky.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 8,53 (m, 2H, Ar-H), 7,48 (m, 3H, Ar-H), 7,34 (m, 2H, Ar-H), 7,03 (m, 3H, Ar-H), 6,38 (s, 1H, pyrrol-H), 5,5 (s, 2H, ArCH_2O), 1,76 (s, 9H, karbamát- CH_3); MS, M^+ = 436,2.



Roztok obsahující (24) (85 mg, 0,20 mmol), N-acetylethylendiamin (201 mg, 1,95 mmol) a DMSO (3 ml) byl zahříván při 100 °C. Po 1 h byla teplota zvýšena na 130 °C. Po 3 h byla reakční směs ochlazená na teplotu místnosti a rozdělena mezi EtOAc a vodu. Vodná vrstva byla extrahována EtOAc (2x). Spojené EtOAc vrstvy jsou promyty vodou, sušeny nad MgSO₄, filtrovány a koncentrovány. Mžiková chromatografie (SiO₂; 1/10 EtOAc/CHCl₃, R_f 0,30) poskytla výtěžek 73 mg (93 %) bílé pěnové látky.

¹H NMR (200 MHz, DMSO- d₆) δ 11,81 (br s, 1H, N-H), 8,39 (m, 2H, Ar-H), 8,03 (br t, 1H, N-H), 7,57 (br t, 1H, N-H), 7,20 – 7,50 (m, 5H, Ar-H), 6,89 – 7,09 (m, 3H, Ar-H), 6,59 (s, 1H, pyrrol-H), 5,12 (s, 2H, ArCH₂O), 3,61 (m, 2H, N-CH₃), 3,36 (m, 2H, NCH₃), 1,79 (s, 3H, COCH₃); MS, M+1 = 402,2.

Následující sloučeniny byly získány způsobem podobným jako v příkladu 17:

4-(2-acetylaminoethyl)amino-6-fenoxymethyl-2-fenyl-7H-pyrrolo[2,3d]-pyrimidin. T.t. 196-197 °C; MS (ES): 401,6 (M+1).

4-(2-acetylaminoethyl)amino-6-(fluorofenoxy)methyl-2-fenyl-7H-pyrrolo[2,3d]pyrimidin ; MS (ES): 420,1 (M+1).

4-(2-acetylaminoethyl)amino-6-(4-chlorfenoxy)methyl-2-fenyl-7H-pyrrolo[2,3d]-pyrimidin. MS (ES): 436,1 (M+1).

4-(2-acetylaminoethyl)amino-6-(4-methoxyfenoxy)methyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]-pyrimidin. MS (ES): 432,1 (M+1).

4-(2-acetylaminoethyl)amino-6-(N-pyridin-2-on)methyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]-pyrimidin. MS (ES): 403,1 (M+1).

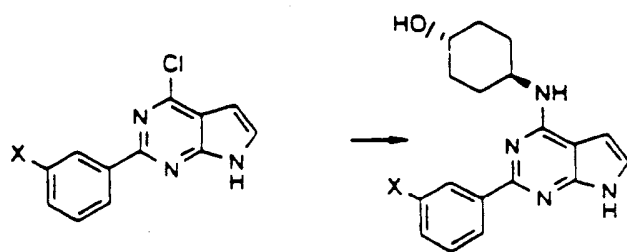
4-(2-acetylaminoethyl)amino-6-(N-fenylamino)methyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]-pyrimidin. MS (ES): 400,9 (M+1).

4-(2-acetylaminoethyl)amino-6-(N-methyl-N-fenylamino)methyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]-pyrimidin. MS (ES): 414,8 (M+1).

4-(2-N'-methylureaethyl)amino-6-fenoxymethyl-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3d]-pyrimidin. MS (ES): 416,9 (M+1).

Příklad 18: Syntéza antagonistů adenosinu A₁

Sloučenina 1319 a sloučenina 1320 (tabulka 13 dále) mohou být syntetizovány zde popsáním obecným postupem.



Slouč.26 X = F

Slouč.1319

Slouč.27 X = Cl

Slouč.1320

Sloučenina 1319 (81%)

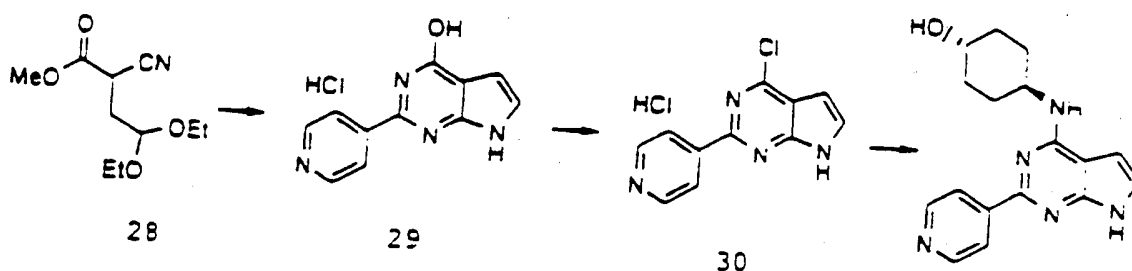
$^1\text{H-NMR}$ ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 1,37 (m, 4H), 1,93 (m, 2H), 2,01 (m, 4H), 4,11 (m, 2H), 4,11 (br s, 1H), 4,61 (d, 1H, $J = 4,4$ Hz), 6,59 (m, 1H), 7,09 (m, 1H), 7,21 (m, 2H), 7,48 (dd, 1H, J 8Hz, 14 Hz), 8,03 (m, 1H), 8,18 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 11,55 (br s, 1H), MS (ES): 327,0 ($\text{M}+1$).

Sloučenina 1320 (31 %)

MS (ES): 343,1 ($\text{M}+1$)

Příklad 19: Syntéza antagonisty adenosinu A_1

Sloučenina 1321 (tabulka 13 dále) může být syntetizována obecným postupem uvedeným dále.



Slouč. 1321

Sloučenina 28 (10,93 g, 50,76 mmol) byla rozpuštěna v DMF (67 ml). Postupně byly přidány 4-amidinopyridin hydrochlorid (8,05 g, 50,76 mmol) a DBU (15,4 g, 101,5 mmol) a reakční směs byla zahřívána na 85 °C. Po 22 h byla reakční směs ochlazená na teplotu místnosti a DMF byl odstraněn ve vakuu. Tmavý olej byl zředěn 2M HCl (80 ml). Reakce byla ponechána ustát. Po 2 hodinách byl roztok ochlazen na 10 °C a filtrován. Pevná látka byla promyta studenou vodou a sušena za získání 7,40 g žluté pevné látky, sloučeniny 29 (69%).

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 6,58 (s, 1H), 7,27 (s, 1H), 8,53 (d, 2H, $J = 5,6$), 9,00 (d, 2H, $J = 5,2$ Hz), 12,53 (br s, 1H), MS (ES): 212,8 ($\text{M}+1$).

Sloučenina 29 (7,4 mmol, 29,8mmol) byla zředěna s POCl_3 a zahřívána na 105 °C. Po 18 hodinách je reakční směs ochlazená na teplotu místnosti a POCl_3 je odstraněn ve vakuu. Hustý tmavý olej je zředěn MeOH (75 ml), následuje ether (120 ml). Amorfni červená pevná látka je filtrována a promyta etherem za získání 3,82 g červené pevné látky. Surový pevný produkt má přibližně 80% čistotu a je použit bez další purifikace v další reakci.

MS (ES): 230,7 (M+1).

Sloučenina 1321

^1H -NMR (15%) (200 MHz, d_6 -DMSO) δ 1,38 (m, 4H), 1,92 (br s, 2H), 2,02 (br s, 2H), 3,44 (br s, 1H), 4,14 (br s, 1H), 4,56 (d, 1H, $J = 4$ Hz), 6,63 (m, 1H), 7,15 (m, 1H), 7,32 (d, 1H, $J = 6,2$ Hz), 8,20 (d, 2H, $J = 4,4$ Hz), 8,65 (d, 2H, $J = 4,4$ Hz), 11,67 (br s, 1H). MS (ES): 310,2 (M+1).

Sloučenina 1501 (tabulka 15 dále)

^1H -NMR (70%) (200 MHz, CD_3OD) δ 1,84 (s, 3H), 3,52 (t, 2H, $J = 6,0$ Hz), 3,83 (t, 2H, $J = 6,0$ Hz), 6,51 (d, 1H, $J = 3,4$ Hz), 7,06 (d, 1H, $J = 3,8$ Hz), 7,42 (m, 3H), 8,36 (m, 2H). MS (ES): 296,0 (M+1).

Sloučenina 1502 (tabulka 15 dále)

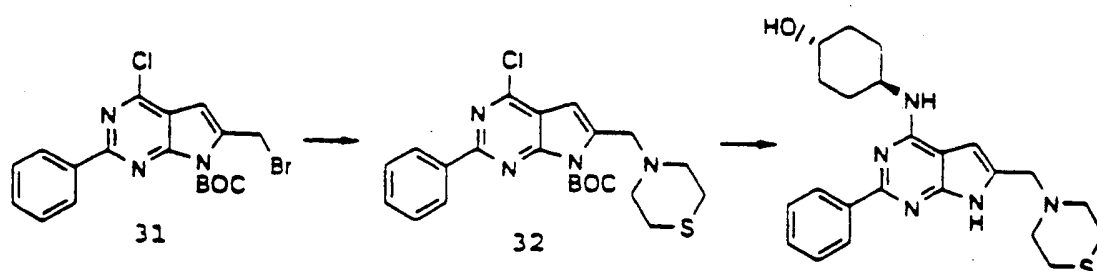
MS (ES): 345,0 (M+1).

Sloučenina 1500 (tabulka 15 dále)

^1H -NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1,40-1,80 (m, 6H), 1,85 – 2,10 (m, 2H), 2,18 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,50 (d, 3H), 3,90 – 4,10 (m, 2H), 4,76 (m, 1H), 5,50 (d, 1H), 6,03 (m, 1H), 7,40 (m, 3H), 8,37 (m, 2H), 9,15 (br s, 1H). MS (ES): 393,3 (M+1).

Příklad 20: Syntéza antagonisty adenosinu A_1

Sloučenina 1504 (tabulka 15 dále) může být syntetizována obecným postupem uvedeným dále.



Slouč. 1504

Sloučenina 31 (200 mg, 0,47 mmol) byla rozpuštěna v DCM (4 ml). Postupně byly přidány triethylamin (51 mg, 0,05 mmol) a thiomorfolin (52 mg, 0,5 mmol). Roztok byl mísen po několik minut a ponechán stýát po 72 hodiny. Reakce byla zředěna DCM a H₂O a vrstvy byly odděleny. Vodná vrstva byla extrahována DCM. Spojené DCM vrstvy byly sušeny nad MgSO₄, filtrovány a koncentrovány. Do surového vzorku byl přidán ethylether a získaná pevná látka byla filtrována za získání 100 mg bílé pevné látky, 32 (62%).

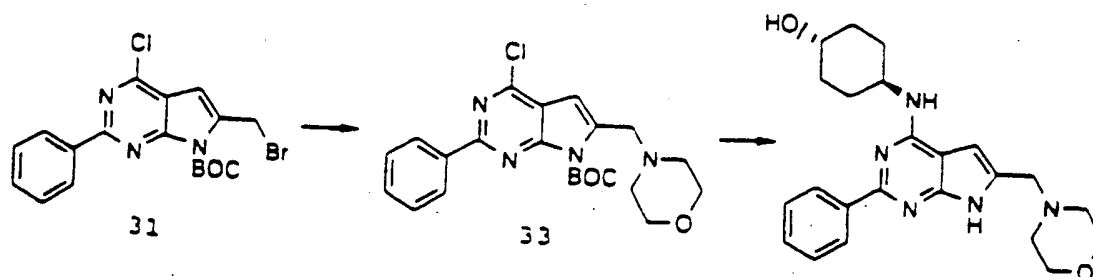
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) d, 1,76 (s, 9H), 2,66 (br s, 2H), 2,79 (br s, 2H), 3,86 (s, 2H), 7,46 (m, 3H), 8,50 (m, 2H).

Sloučenina 32 byla spojena s DMSO (3 ml) a trans-4-amino-cyklohexanolem (144 mg, 1,25 mmol) a zahřívána na 130 °C po 4 hodiny. Reakční směs byla ochlazená na teplotu místnosti a zředěna EtOAc a H₂O. Vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla extrahována EtOAc (2x). Spojené organické vrstvy byly promyty H₂O a solankou, sušeny nad MgSO₄, filtrovány a koncentrovány. Chromatografie (silika, 8:1 CHCl₃/EtOH) poskytla 32 mg hnědavého oleje. Ethylether byl přidán a získaná pevná látka byla filtrována za získání 5 mg bílé pevné látky (9%). OSIC-148265:

¹H.NMR (200 MHz, CD₃OD): d 1,44 (brm, 4H), 2,03 (brm, 2H), 2,21 (brm, 2H), 2,70 (brm, 8H), 3,63 (m, 4H), 3,92 (m, 1H), 4,23 (br s, 1H), 6,42 (s, 1H), 7,42 (m, 3H), 8,33 (m, 2H).

Příklad 21: Syntéza antagonisty adenosinu A₁

Sloučenina 1503 (tabulka 15 dále) může být syntetizována obecným postupem uvedeným dále.



Slouč. 1503

Bromid, sloučenina 31 (220 mg, 0,47 mmol) byla rozpuštěna v1:1 DMF:dichlormethanu (5 ml). Byl přidán K₂CO₃ (71 mg, 0,52 mmol) a morfolin (0,047 ml, 0,47 mmol). Směs byla ponechána míchat při teplotě místnosti přes noc. Rozpouštědla byla odstraněna ve vakuu a zůstatek byl rozdělen mezi H₂O a dichlormethan. Organická vrstva byla sušena s MgSO₄, filtrována a koncentrována za získání téměř bílé pevné látky, která během trituratione s etherem/hexanem poskytla 175 mg bílé látky, 33 (84%).

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): 1,9 (9H, s), 2,54 (4H, s), 3,65 (4H, s), 3,85 (1H, s), 6,59 (1H, s), 7,45 (3H, m), 8,5 (2H, m).

Sloučenina 33 (50 mg, 0,11 mmol) a trans-4-amino-cyklohexanol (105 mg, 0,91 mmol) byly odebrány do DMSO (2 ml). Získaný roztok byl propláchnut dusíkem a potom zahříván na 100 °C v olejové lázni a míchán přes noc. Surová reakční směs byla nalita do vody a extrahována dvakrát ethylacetátem (50 ml). Spojené organické vrstvy byly promyty H₂O. Po sušení nad MgSO₄ a filtrování byla organická vrstva koncentrována ve vakuu za získání oranžové pevné látky (33%).

¹H.NMR (200 MHz, CDCl₃): d 1,24 – 1,62 (4H, m), 1,85 (m, 2H), 2,10 (m, 2H), 2,26 (m, 4H), 3,53 (m, 4H), 4,22 (m, 1H), 4,73 (m, 1H), 5,85 (d, 1H), 6,15 (s, 3H), 7,25 (m, 3H), 8,42 (2H, m), 10,0 (1H, s). MS (ES): 408 (M+1).

Sloučeniny 1500, 1501 a 1502 mohou být syntetizovány použitím podobných kroků přípravy z příkladu 20 zpracování sloučeniny 32 s vhodně substituovaným aminem.

Testy kvasinkovým β -galaktosidasa reporterovým genem na lidské A_1 a A_{2a} adenosin receptory:

Kvasinkové kmeny (*S. cerevisiae*) byly transformovány lidským adenosinem A_1 (A_1R ; CADUS strain CY12660) nebo lidským adenosinem A_{2a} (A_{2a} ; CADUS strain CY8362) a přidáním *lacZ*(β -galaktosidasa) reporterovým genem pro využití jako funkční výstup. Úplná deskripce transformací je uvedena dále (viz kvasinkové kmeny). NECA (5'-N-ethylkarboxamidoadenosin), potentní agonista adenosin receptoru s podobnou afinitou pro A_2 a A_{2a} receptory byl použit jako ligand pro všechny testy. Testované sloučeniny byly zkoumány při 8 koncentracích (0,1 – 10 000 nM) na schopnost inhibovat NECA-indukovanou β -galaktosidasa aktivitu pomocí CY12660 nebo CY8362.

Příprava kvasinkových zásobních roztoků:

Každý z konkrétních kvasinkových kmenů, CY12660 a CY8362, byly nastříkány na LT agarovou plotnu a inkubovány při 30 °C, až byly pozorovány kolonie. Kvasinky z těchto kolonií byly přidány do LT kapaliny (pH 6,8) a kultivovány přes noc při 30 °C. Každý kvasinkový kmen byl potom zředěn na $OD_{600} = 1,0- 2,0$ (přibližně $1-2 \times 10^6$ buněk/ml), jak bylo stanoveno spektrofotometricky (molekulární zařízení VMAX). Na každých 6 ml kvasinkové kapalně kultury byly přidány 4 ml 40% glycerolu (1:1,5 obj.:obj.) („kvasinko/glycerolová zásoba“). Z této kvasinko / glycerolové zásoby bylo připraveno deset 1ml podílů a uloženo při –80 °C do doby, kdy budou požadovány pro testování.

Test kvasinek A_1R a $A_{2a}R$:

Po jedné zkumavce, každá s CY8362 a CY12660 kvasinko / glycerolovým roztokem, bylo rozmrazeno a použito pro inokulaci doplněného kapalného média LT, pH 6,8 (92 ml LT kapaliny, do níž je přidáno: 5 ml 40% glukosy, 0,45 ml 1M KOH a 2,5 ml, pH 6,8). Kapalně kultury byly kultivovány 16-18 hodin (přes noc) při 30 °C. Alikvoty nočních kultur potom byly zředěny v LT mediu, obsahujícím 4U/ml adenosin deaminasy (typ VI nebo VII z telecí intestinální mukosy, Sigma), za získání $OD_{600} = 0,15$ ($1,5 \times 10^6$ buněk/ml) pro CY8362 (A2aR) a $OD_{600} = 0,50$ (5×10^6 buněk/ml) pro CY12660 (A1R).

Testy byly prováděny s finálním objemem 100 ul v 96-miskových mikrotitračních plotnách tak, že byla získána finální koncentrace 2 % DMSO v každé misce. Pro primární screening byly použity 1-2 koncentrace testovaných sloučenin (10 uM, 1 μ .) U profilovaných sloučenin bylo testováno 8 koncentrací (10000, 1000, 500, 100, 50, 10, 1 a 0,1 nM). Do každé mikrotitrační plotny bylo do misek označených „kontrolní“ a „celkové“ přidáno 10 ul 20% DMSO, zatímco do misek „neznámé“ bylo přidáno 10 ul testované sloučeniny (ve 20% DMSO). Následně bylo 10 ul NECA (5 uM pro A₁R, 1 uM pro A_{2a}R) přidáno do misek „celkové“ a „neznámé“; 10 ul PBS bylo přidáno do misek „kontrolní“. V závěrečném doplnění bylo do každé misky přidáno 80 ul kvasinkového kmene CY8362 nebo CY12660. Všechny desky potom byly krátce třepány (LabLine orbitální třepačka 2-3 min.) a ponechány inkubovat po 4 h při 30 °C v suché peci.

Aktivita β -galaktosidasy může být kvantifikována použitím kolorimetrických (jako ONPG, CPRG), luminiscenčních (jako Galacton.Star) nebo fluorometrických substrátů (jako FDG, Resorufin). Běžně se dává přednost fluorescenční detekci na bázi vyššího poměru signál:zvuk, relativně bez interference a za nízkou cenu. Fluorescenční digalaktopyranosid (FDG, Molecular Probes or Marker Gene Technologies), substrát fluorescenční β -galaktosidasy byl přidán do každé misky v množství 20 ul/misku (finální koncentrace = 80 uM). Plotny byly třepány po 5-6 sec

(LabLine orbitální třepačka) a potom inkubovány při 37 °C po 90 min (95% O₂/5% CO₂ inkubátor). Na konci 90 min inkubační periody byla aktivita β -galaktosidasy zastavena použitím 20 μ l/misku 1M Na₂CO₃ a všechny plotny byly třeseny po 6-6 sek. Plotny potom byly třepány po 6 sec a byla stanovena relativní fluorescenční intenzita použitím fluorometru (Tecan Spectrafluor; excitace = 485 nm, emise = 535 nm).

Výpočty:

Hodnoty relativní fluorescence pro „kontrolní“ misky byly interpretovány jako podklad a odečteny od hodnot z „celkové“ a „neznámé“. Profily sloučenin byly analyzovány pomocí logaritmické transformace (osa x: koncentrace sloučeniny), a následně jednostrannou kompetitivní aproximací křivky, aby se vypočítaly hodnoty IC₅₀ (graphPad Prism).

Kvasinkové kmeny:

Byly vyvinuty kmeny *Saccharomyces cerevisiae* CY12660 [far1*1442 tbt1-1 fus1-HIS3 can1 ste14: :trp1: :LYS2 ste3*1156 gpa1 (41)-G α i3 lys2 ura3 leu2 trp1: his3; LEU2 PGKp-Mf α 1Leader-hA1R-PHO5term 2mu-orig REP3 Ampr] a

CY8362 [gpa1p-rG α sE10K far1*1442 tbt1-1 fus1-HIS3 can1 ste14: :trp1: :LYS2 ste3*1156 lys2 ura3 leu2 trp1 his3; LEU2 PGKp-hA2aR 2mu-orig REP3 Ampr].

LT média:

LT (Leu-Trp doplňkové) medium je složeno ze 100 g DIFCO kvasinkové dusíkové báze, doplněno následujícími: 1,0 g valinu, 1,0 g kyseliny aspartamové, 0,75 g fenylalaninu, 0,9 g lysinu, 0,45 g tyrosinu, 0,45 g isoleucinu, 0,3 g methioninu, 0,6 g adeninu, 0,4 g uracilu, 0,3 g serinu, 0,3 g prolinu, 0,3 g cysteinu, 0,3 g argininu, 0,9 g histidinu a 1,0 g threoninu.

Konstrukce kvasinkových kmenů exprimujících lidský A₁ adenosin receptor

V tomto příkladu je popsána konstrukce kvasinkových kmenů exprimujících lidský A₁ adenosin receptor funkčně integrovaný do dráhy kvasinkového feromonového systému.

I. Konstrukce vektoru exprese

Aby se vytvořil kvasinkový expresní vektor pro lidský A₁ adenosin receptor, byl A₁ adenosin receptor cDNA získán reversní transkriptasou PCR lidského hippocampu mRNA, použitím označených primerů, založený na zveřejněné sekvenci lidského A₁ adenosin receptoru a standardních technikách. PCR produkt byl subklonován na NcoI a XbaI místa kvasinkového expresního plasmidu pMP15.

Plasmid pMP15 byl vytvořen z pLPXt následně:

XbaI místo na YEP51 (Broach, J. R. a kol., (1983) „Vectors for high-level, inducible expression of cloned genes in yeast“, str. 83-117 v M. Inouye (ed.), *Experimental Manipulation of Gene Expression*. Academic Press, New York) bylo eliminováno digescí, konečným plněním a religací, aby se vytvořil Yep51NcoDXba. Další XbaI místo bylo vytvořeno na BamHI místě digescí s BamHI, konečným plněním, linkerem (New England Biolabs, č. 1081), ligací, XbaI digescí a re-ligací, aby se generoval YEP51NcoXt. Tento plasmid byl digestován s Esp31 a NcoI a ligován na Leu2 a PGKp fragmenty generované pomocí PCR. Produkt 2 kb Leu2 PCR byl generován amplifikací z YEP51Nco použitím primerů obsahujících místa Esp31 a BglII. Pár báze 660 PGKp PCR produkt byl generován amplifikací z pPGKas (Kang, Y.-S. a kol., (1990) *Mol. Cell. Biol*, 10:2582-2590) s PCR primery obsahujícími BglII a NcoI místa. Výsledný plasmid je nazván pLPXt. Tento pLPXt byl modifikován inzercí kódujícího regionu α -faktoru prepro leaderu do NcoI místa. Prepro leader byl inzertován tak, že NcoI klonovací místo bylo uchováno na 3'konci leaderu, ale nebylo generováno

na 5'konci. Tímto způsobem mohou být receptory klonovány digescí plasmidu s NcoI a XbaI. Výsledný plasmid je nazván pMP15.

Plasmid pMP15, do nějž byl inzertován lidský A₁ adenosin receptor cDNA byl označen p5095. V tomto vektoru je receptor cDNA fúzovaný na 3'konec kvasnicového a-faktor prepro leaderu. V průběhu proteinové maturace jsou prepro peptidové sekvence štěpeny, aby se vytvořil maturovaný receptor o plné délce. K tomu dojde v během úpravy receptoru prostřednictvím kvasinkové sekreční dráhy. Tento plasmid je udržován Leu selekcí (tedy růstem na mediu prostém leucinu). Byla určena sekvence klonovaného kódujícího regionu a bylo zjištěno, že je ekvivalentní publikované literatuře (GenBank přístupové číslo S45235 a S56143).

II. Konstrukce kvasinkového kmenu

Aby se vytvořil kvasinkový kmen exprimující lidský A₁ adenosin receptor, byl použit kvasinkový kmen CY7967 jako výchozí zárodečný kmen. Genotyp CY7967 je následující:

MAT α gpaD1163 gpa1(41)G α i3 far1D1442 tbt-1 FUS1-HIS3 can1
ste14::trp1::LYS2 ste3D1156 lys2 ura3 leu2 trp1 his3

Genetické markery jsou shrnuty dále:

MAT α	párový typ a
Gpa1D1163.....	Endogenní kvasinkový G-protein GPA1 byl deletován.
Gpa1(41)G α i3.....	gpa1(41)-Gai3 byl integrován do genomu kvasinky. Tento chimérický Ga protein je složen z prvních 41 aminokyselin endogenní kvasinkové Ga subjednotky GPA1 fúzované do savčího G-proteinu Gai3, v němž analogické N-terminální aminokyseliny byly deletovány.

Far1D1442.....	FAR1 gen (zodpovědný za zastavení buněčného cyklu) byl deletován (tím bránění zastavení buněčného cyklu při aktivaci dráhy odezvy feromonu).
tbt-1.....	Kmen s vysokou transformační účinností elektroporací.
FUS1-HIS3.....	fúze mezi FUS1 promoterem a HIS3 kódujícím regionem (tím vytvoření feromonem indukovatelného HIS3 genu).
can 1.....	arginin/canavinin permeasa.
stel14: :trp1: :LYS2...	genová disrupce STE13, C-farnesyl methyltransferasa (tím snížení bazální signalizace ve feromonové dráze).
ste3D1156.....	Endogenní kvasinkový STR, faktor feromon receptoru (STE3) byl porušen.
lys2.....	defekt na 2-aminoapitat reduktase, kvasinka potřebuje ke kultivaci lysin.
ura3.....	defekt na orotidin-5'-fosfát dekarboxylase, kvasinka potřebuje ke kultivaci uracil.
leu2.....	defekt na b-isopropylmalat dehydrogenase, kvasinka potřebuje ke kultivaci leucin.
trp1.....	defekt na fosforibosylanthranilatu, kvasinka potřebuje ke kultivaci tryptofan.
his3.....	defekt na imidazolglycerolfosfát dehydrogenase, kvasinka potřebuje ke kultivaci histidin.

Dva plasmidy byly transformovány na kmen CY7967 elektroporací: plasmid p5095 (kódující lidský A₁ adenosin receptor; popsáný výše) a plasmid p1584, který je plasmid FUS1- β -galaktosidasa reporterového genu. Plasmid p1584 byl odvozen z plasmidu pRS426 (Christianson, T. W. a kol. (1992) Gene 110:119-1122). Plasmid pRS426 obsahuje polylinkerové místo na nukleotidech 2004-2016. Fúze mezi FUS1 promoterem a β -galaktosidasovým genem byla vložena na místech restrikce EagI a XhoI,

aby se vytvořil plasmid p1584. Plasmid p1584 je udržován Trp selekcí (tedy růstem na mediu postrádajícím leucin).

Vytvořený kmen nesoucí p5095 a p1584, označený jako CY12660, exprimuje lidský A_1 adenosin receptor. Pro kultivaci tohoto kmene v kapalině nebo na agarových plotnách bylo použito minimální množství media postrádajícího leucin a tryptofan. K uskutečnění testu kultivace na plotnách (testování FUS1-HIS3) byly plotny při pH 6,8 a obsahovaly 0,5-2,5 mM 3-amino-1,2,4-triazolu a postrádaly leucin, tryptofan a histidin. Jako kontrolní vzorky přesnosti byly do všech experimentů zahrnuty porovnání s jedním nebo více dalšími, na kvasinkách založenými, sedmi sítí transmembránových receptorů.

Konstrukce kvasinkových kmenů exprimujících lidský A_{2a} adenosin receptor

V tomto příkladu je popsána konstrukce kvasinkových kmenů exprimujících lidský A_{2a} adenosin receptor funkčně integrovaný do dráhy kvasinkového feromonového systému.

I. Konstrukce vektoru exprese

Aby se vytvořil kvasinkový expresní vektor pro lidský A_{2a} adenosin receptor, byl lidský A_{2a} receptor cDNA získán od Dr. Phil Murphy (NIH). Při příjmu tohoto klonu byl inzert A_{2a} receptoru sekvenován a bylo zjištěno, že je identický s publikovanou sekvencí (GenBank č. S46950). Receptor cDNA byl excidován z plasmidu prostřednictvím PCR s VENT polymerasou a klonován na plasmid pLPBX, který řídí expresi receptoru konstitutivní fosfoglycerat kinasa (PGK) promoteru ve kvasinkách. Sekvence celého inzertu byla ještě jednou sekvenována a bylo zjištěno, že je identická s publikovanou sekvencí. Nicméně z důvodu použité klonovací strategie zde byly tři aminokyseliny navěšené na karboxy-zakončení receptoru, GlySerVal.

II. Konstrukce kvasinkového kmene

Aby se vytvořil kvasinkový kmen exprimující lidský A_{2a} adenosin receptor, byl použit kvasinkový kmen CY8342 jako výchozí zárodečný kmen. Genotyp CY8342 je následující:

MATa far1D1442 tbt1-1 lys2 ura3 leu2 trp1 his3 fus1-HIS3 can1
ste3D1156 gpaD1163 ste14: :trp1: : LYS2 gpalp-rG α sE10K (nebo
gpalp-rG α sD229S nebo gpalp-rG α sE10K+D229S).

Genetické markery jsou stejné, jako jsou popsány v příkladu 1, s výjimkou variace G-proteinu. Pro expresi lidského A_{2a} receptoru byly použity kvysinkové kmeny, v nichž byl endogenní kvasinkový G protein deletován a nahrazen savčím G α s. Byly použity tři krysí G α s mutanty. Tyto varianty obsahují jeden nebo dva body mutací, které je konvertují na proteiny, které se účinně spojují na $\beta\gamma$ kvasinky. Jsou identifikovány jako G α sE10K (v nichž glutamová kyselina na pozici deset je nahrazena lysinem), G α sD229S (v nichž kyselina aspartamová na pozici 229 je nahrazena serinem) a rG α sE10K+D229S (které obsahují oba body mutací.)

Kmen CY8342 (nesoucí jeden ze tří mutantních G α s krysích proteinů) byl transformován buď se zárodečným vektorem pLPBX (Receptor⁻) nebo pLPBX-A2a (Receptor⁺). Byl přidán plasmid s FUS1 promoterem fúzovaným na β -galaktosidasu kódující sekvence (popsané výše), aby se stanovila velikost aktivace dráhy odezvy feromonu.

Funkční test využívající kvasinkové kmeny exprimující lidský A_1 adenosin receptor

V tomto příkladu je popsán průběh testu screeningu funkčnosti u kvasinek pro moduátory lidského A_1 adenosin receptoru.

I. Ligandy použité v testu

Adenosin, přirozený agonista pro tento receptor, stejně jako dva další syntetické agonisty byly použity pro průběh tohoto testu. Adenosin, označený, že má hodnotu EC_{50} přibližně 75 nM, a (-)-N⁶-(2-fenylisopropyl)-adenosin (PIA) s afinitou uváděnou přibližně 50 nM byly použity v řadě experimentů. 5'-N-ethylkarboxamidoadenosin (NECA) byl použit ve všech kultivačních testech. Aby se zabránilo přenosu signálu díky přítomnosti adenosinu v kultivačních médiích, byla do všech testů přidána adenosin deaminasa (4U/ml).

II. Biologická odezva kvasinek

Schopnost A₁ adenosin receptoru funkčně kuplovat v heterologním kvasinkovém systému byla posuzována zavedením A₁ receptor expresního vektoru (p5095, popsáný výše) do řady kvasinkových kmenů, které exprimovaly různé G proteinové subjednotky. Většina těchto transformantů exprimovala G_α subjednotky z G_{α1} nebo G_{αO} subtypu. Další proteiny G_α byly také testovány na možnou identifikaci náhodného kuplování receptor-G_α proteinu. V různých kmenech byly STE18 nebo chiméřní STE18-Gγ2 konstrukty integrovány do genomu kvasinek. Kvasinkové kmeny přechovávaly defektní HIS3 gen a integrovaly kopii FUS1-HIS3, a tím umožnily selekci v selektivním mediu obsahujícím 3-amino-1,2,4-triazol (testovaný při 0,2, 0,5 a 1,0 mM) a postrádajícím histidin. Transformanty byly izolovány a monovrstvy byly připraveny na mediu obsahujícím 3-amino-1,2,4-triazol, 4 U/ml adenosin deaminasy a bez histidinu. Bylo použito pět mikrolitrů různých koncentrací ligandu (jako NECA při 0, 0,1, 1,0 a 10 mM). Kultivace byla monitorována po 2 dny. Odezvy růstu dependentním na ligandu byly testovány tímto způsobem v různých kvasinkových kmenech. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 3 dále. Symbol (-) znamená, že aktivace ligand-dependentního receptoru nebyla detekována, zatímco (+) označuje odezvu dependentní na ligandu. Termín „LIRMA“ označuje aktivaci zprostředkovanou receptorem nezávislým na ligandu.

Tabulka 3

Yeast strain	G α subunit	G γ subunit	Strain Variants	Result
CY1316	GPA $_1$	STE18		-
	GPA41-G $_{\alpha 11}$			-
	GPA41-G $_{\alpha 12}$			+
	GPA41-G $_{\alpha 13}$			+
	GPA41-G $_{\alpha 12}$ -G $_{\alpha 05}$			LIRMA
	GPA41-G $_{\alpha 5E10K}$			-
	GPA41-G $_{\alpha 5D229S}$			-
CY7967	GPA41-G $_{\alpha 13}$ - integrated	STE18		+++
CY2120	GPA $_1$	STE18	sst2 Δ	+
	GPA41-G $_{\alpha 11}$			+
	GPA41-G $_{\alpha 12}$			+
	GPA41-G $_{\alpha 13}$			+
	GPA41-G $_{\alpha 12}$ -G $_{\alpha 05}$			LIRMA
	GPA41-G $_{\alpha 5E10K}$			-
	GPA41-G $_{\alpha 5D229S}$			-
CY9438	GPA $_1$	STE18-G $\gamma 2$		-
	GPA41-G $_{\alpha 11}$			+
	GPA41-G $_{\alpha 12}$			+
	GPA41-G $_{\alpha 13}$			+
	GPA41-G $_{\alpha 12}$ -G $_{\alpha 05}$			LIRMA
	GPA41-G $_{\alpha 5E10K}$			-
	GPA41-G $_{\alpha 5D229S}$			-
CY10560	GPA $_1$ -integrated	STE18-G $\gamma 2$	sst2 Δ	++

Kde znamená:

„Yast strain“ kvasinkový kmen; „G α , G γ subunit“ G α , G γ subjednotka; „Strain variants“ varianty kmene; „Results“ výsledek.

Jak je uvedeno v tabulce 3, bylo zjištěno, že se nejvýraznější přenos signálu vyskytuje u kvasinkového kmene exprimujícího chiméru GPA $_1$ (41)-G $_{\alpha 13}$.

III. Testování fus1-LacZ

Aby bylo možné charakterizovat aktivaci dráhy feromonové odezvy ještě lépe, byla měřena syntéza β -galaktosidasy přes fus1LacZ v odezvě na stimulaci agonisty. Pro provedení β -galaktosidasové zkoušky byly do mid-log kultury lidského A₁ adenosin receptoru exprimované v kvasinkovém kmeni ko-exprimujícím STE18-G γ 2 chiméru a GPA₄₁-G α _{i3} přidány zvýšené koncentrace ligandu. Transformanty byly izolovány a kultivovány přes noc za přítomnosti histidinu a 4 U/ml adenosin deaminasy. Po pěti hodinách inkubace se 4 U/ml adenosin deaminasy a ligandu byla měřena indukce β -galaktosidasy použitím CPRG jako substrátu pro β -galaktosid. V testu bylo použito 5×10^5 buněk.

Výsledky získané s NECA stimulací indikovaly, že při koncentraci NECA 10^{-8} M byl dosažen přibližně dvojnásobek stimulace β -galaktosidasové aktivity. Navíc, stimulační index přibližně desetinásobný byl pozorován při koncentraci NECA 10^{-5} .

Užitečnost tohoto testu byla rozšířena ověřením aktivity antagonistů na tomto kmeni. Dva známé adenosinové antagonisty, XAC a DPCPX byly testovány na jejich schopnost bojovat proti NECA (při 5 mM), na aktivitu v β -galaktosidasovém testu. V tomto testu byla indukce β -galaktosidasy měřena použitím FDG jako substrátu a $1,6 \times 10^5$ buněk na test. Výsledky naznačovaly, že oba XAC a DPCPX sloužily jako potentní antagonisté kvasinkami exprimovaného A₁ adenosin receptoru, s hodnotami IC₅₀ 44 nM a 49 nM.

Aby se stanovilo, zda byl tento inhibiční efekt specifický pro A₁ subtyp, byla provedena řada komplementárních experimentů s testem na bázi kvasinek A₂ receptoru (popsaný v příkladu 4). Výsledky získané s A_{2a} testem založeným na kvasinkách indikovaly, že XAC byl relativně aktivní antagonist A_{2a} receptoru, což bylo v souladu s publikovanými zprávami. Naproti tomu DPCPX byl relativně inertní jako tento receptor, jak bylo možno očekávat z publikovaných zpráv.

IV. Vazebnost radioligandu (radioaktivně značeného ligandu)

Testování A_1 adenosin receptoru bylo dále charakterizováno měřením vazebných parametrů receptorových radioligandů. Vytěšňování vazebnosti $[^3H]CPX$ řadou referenčních sloučenin adenosinového receptoru, XAC, DPCPX a CGS, bylo analyzováno použitím membrán připravených z kvasnic exprimujících lidský A_1 adenosin receptor. Výsledky s kvasnicovými membránami exprimujícími lidský A_1 adenosin receptor byly porovnány s výsledky z kvasnicových membrán exprimujících lidský A_{2a} adenosin receptor nebo lidský A_3 receptor, aby se prozkoumala specifika vazby. K provedení tohoto testu bylo inkubováno padesát mg membrán s 0,4 nM $[^3H]CPX$ a zvýšenými koncentracemi ligandů adenosin receptoru. Inkubace byla v 50 mM Tris-HCl, pH 7,4, 1 mM EDTA, 10 mM $MgCl_2$, 0,25 % BSA a 2 U/ml adenosin deaminasy za přítomnosti proteasových inhibitorů po 60 minut při teplotě místnosti. Vazebnost byla zakončena přidáním ledově chladné 50 mM Tris-HCl, pH 7,4 plus 10 mM $MgCl_2$, s následnou rychlou filtrací přes GF/B filtry předem nasáklé 0,5% polyethyleniminem, použitím Packard 96-miskového sklízeče. Údaje byly analyzovány nelineární metodou nejmenších čtverců aproximací křivky použitím software Prism 2,01. Hodnoty IC_{50} získané v tomto experimentu jsou shrnuty v tabulce 4 dále.

Tabulka 4

Sloučenina	IC_{50} [nM]		
	<u>hA1R</u>	<u>hA2aR</u>	<u>hA3R</u>
XAC	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
Alloxazine	1072.0	1934.0	8216.0

Tyto údaje indikují, že referenční sloučeniny mají afinity konzistentní s těmi uvedenými v literatuře. Data dále naznačují, že testy založené na kvasinkách jsou dostatečné citlivosti, aby rozeznaly specifiku subtypu receptoru.

Funkční test využívající kvasinkové kmeny exprimující lidský A_{2a} adenosin receptor

V tomto příkladu je popsán průběh testu screeningu funkčnosti u kvasinek pro modulátory lidského A_{2a} adenosin receptoru.

I. Ligandy použité v testu

Přirozený ligand adenosin, stejně jako další průběžně charakterizované a komerčně dostupné ligandy byly použity pro studii lidského A_{2a} receptoru funkčně exprimovaného v kvasinkách. Tři ligandy byly použity v průběhu této zkoušky. Ty zahrnují:

<u>Ligand</u>	<u>Označený K_i</u>	<u>Funkce</u>
Adenosin	500 nM	agonista
5'-N-ethylkarboxamidoadenosin (NECA)	10-15 nM	agonista
(-)-N6-(2-fenylisopropyl)- adenosin (PIA)	100-125 nM	agonista

Aby se zabránilo přenosu signálu, díky přítomnosti adenosinu v kultivačním mediu, byla přidána adenosin deaminasa (4U/ml) do všech testů.

II. Biologická odezva kvasinek

Agonisté A_{2a} receptoru byly testovány na schopnost stimulovat dráhu feromonové odezvy v kvasinkách transformovaných plasmidem A_{2a} receptoru exprese a exprimující buď G_{αs}E10K, G_{αs}D229S nebo

G_{as}E10K+D229S. Schopnost ligandu stimulovat dráhu feromonové odezvy v receptoru dependentním postupem byla indikována alterací v kvasinkovém fenotypu. Aktivace receptoru modifikovala fenotyp z histidinové autotrofie na histidinovou prototrofii (aktivace fus1-HIS3). Byly izolovány tři nezávislé transformanty a byly kultivovány přes noc za přítomnosti histidinu. Buňky byly promyty, aby se odstranil histidin, a zředěny na 2×10^6 buněk/ml. 5 μ l každého transformantu bylo nakapáno na neselektivní medium (obsahující histidin) nebo selektivní médium (1 mM AT) za nepřítomnosti nebo přítomnosti 4 U/ml adenosin deaminasy. Plotny byly kultivovány při 30 °C po 24 hodiny. Za přítomnosti histidinu byly oba, Receptor ⁺(R⁺) a Receptor ⁻(R⁻) kmeny schopné růstu. Nicméně za nepřítomnosti histidinu pouze R⁺ buňky rostly. Jelikož nebyl přidán žádný ligand do těchto ploten, byla možná dvě vysvětlení tohoto výsledku. Jedním možným vysvětlením bylo, že receptor nesoucí kvasinky byly ve výhodě kultivace vzhledem k „Ligand Independent Receptor Mediated Activation“ (LIRMA). Alternativně by kvasinky mohly syntetizovat ligand adenosin. K rozlišení mezi těmito dvěma možnostmi, enzym, který degraduje ligand, adenosin deaminasa (ADA), byl přidán do kultivujících kvasinek a ploten. Za přítomnosti adenosin deaminasy, R⁺ buňky dále nerostly v nepřítomnosti histidinu, což indikuje, že kvasinky byly vskutku syntetizujícím ligandem.

Tato interpretace byla potvrzena testem A2a růstu v kapalině. V tomto experimentu byly R⁺ kvasinky (G_{as}E10K kmen exprimující A2a receptor) naočkovány ve třech hustotách (1×10^6 buněk/ml, 3×10^5 buněk/ml, nebo 1×10^5 buněk /ml) za přítomnosti nebo absence adenosin deaminasy (4 U/ml). Přísnost testu byla zvýšena se zvýšením koncentrací (0, 0,1, 0,2, nebo 0,4 nM) 3-amino-1,2,4-triazolu /AT), kompetitivního antagonisty imidazolglycerol-P dehydratasy, proteinového produktu HIS3 genu. Za přítomnosti adenosin deaminasy a 3-amino-1,2,4-triazolu rostly kvasinky méně intenzivně. Nicméně za nepřítomnosti 3-amino-1,2,4-triazolu měla adenosin deaminasa menší efekt. Tudíž adenosin deaminasa sama o sobě neměla přímý vliv na dráhu odezvy feromonu.

Alternativním přístupem k měření růstu, a který může být miniaturizován pro vysoce výkonnostní screening, je „A2a receptor ligand spot“ test. Kmen $G_{\alpha s}E10K$ exprimující A2a receptor (AA2aR+) nebo bez receptoru (R-) byl kultivován přes noc za přítomnosti histidinu a 4 U/ml adenosin deaminasy. Buňky byly promyty pro odstranění histidinu a zředěny na 5×10^6 buněk/ml. 1×10^6 buněk bylo nastříkáno na selektivní plotny obsahující 4 U/ml adenosin deaminasy a 0,5 nebo 1,0 mM 3-amino-1,2,4-triazolu (AT) a ponecháno sušit po 1 hodinu. 5 μ l následujících reagens bylo aplikováno na monovrstvu: 10 mM adenosinu, 38,7 mM histidinu, dimethylsulfoxid (DMSO), 10 mM PIA nebo 10 mM NECA. Buňky byly kultivovány 24 hodiny při 30 °C. Výsledky ukazovaly, že buňky bez receptory mohly růst pouze tehdy, když byl přidán do media histidin. Naproti tomu, R^+ buňky rostly pouze na plochách, kde byly nastříkány A2a receptor ligandy PIA a NECA. Jelikož plotny obsahovaly adenosin deaminasu, nedostatek v růstu, kde byl nanesen adenosin potvrdily, že adenosin deaminasa byla aktivní.

III.fus1 LacZ test

Pro kvantifikace aktivace párové dráhy kvasinek byla měřena syntéza β -galaktosidasy přes fus1LacZ. Kvasinkové kmeny exprimující $G_{\alpha s}E10K$, $G_{\alpha s}D229S$ nebo $G_{\alpha s}E10K+D229S$ byly transformovány s plasmidem kódujícím lidský A2a receptor (R+) nebo s plasmidem s chybějícím receptorem (R-). Transformanty byly izolovány a kultivovány přes noc za přítomnosti histidinu a 4 U/ml adenosin deaminasy. 1×10^7 buněk bylo zředěno na 1×10^6 buněk/ml a vystaveno zvýšeným koncentracím NECA po 4 hodiny, s následnou determinací aktivity β -galaktosidasy v buňkách. Výsledky doložily, že v podstatě žádná aktivita β -galaktosidasy nebyla detekována v R- kmenech, zatímco zvýšené hodnoty aktivity β -galaktosidasy byly detekovány v R+ kmenech exprimujících buď $G_{\alpha s}E10K$, $G_{\alpha s}D229S$ nebo $G_{\alpha s}E10K+D229S$, jak se koncentrace NECA zvyšovala, indikující zvýšení závislá na dávce v jednotkách β -galaktosidasy, detekovaných jako odezva na exponování zvýšeným koncentracím ligandů.

Tato závislost na dávce byla pouze pozorována v buňkách exprimujících A2a receptor. Mimoto nejvíce účinným $G_{\alpha s}$ konstruktem pro A2a receptor byl $G_{\alpha s}E10K$. Konstrukť $G_{\alpha s}D229S$ byl druhým účinným $G_{\alpha s}$ konstruktem pro A2a receptor, zatímco $G_{\alpha s}E10K+D229S$ konstrukť byl nejméně účinný ze tří testovaných $G_{\alpha s}$ konstrukťů, ačkoliv dokonce $G_{\alpha s}E10K+D229S$ konstrukť stimuloval snadno detekovatelná množství β -galaktosidasové aktivity.

Pro další popis uvedených testů viz patentovou přihlášku č. US 09/088985, s názvem: Functional Expression of Adenosine Receptors in Yeast“, podaná 2. Června 1988 /zástupce Docket č. CPI-093), jejíž celý obsah je sem zahrnut formou odkazu.

Farmakologická charakterizace lidských adenosin receptor subtypů

Materiály a metody

Materiály:

$[^3H]$ DPCPX [cyklopentyl-1,3-dipropylxantin, 8-[dipropyl-2,3- $^3H(N)$]/120,0 Ci/mmol); $[^3H]$ CGS 21680, [karboxyethyl- $^3H(N)$] (30 Ci/mmol) a $[^{125}I]$ -AB-MECA ($[^{125}I]$ -4-aminobenzyl-5'-N-methylkarboxymido-adenosin) (2200 Ci/mmol) byly získány od New England Nuclear (Boston, MA), XAC (xantine amine congener); NECA (5'-N-ethyl-karboxamidoadenosin); a IB-MECA od Research Biochemicals International (RBI, Natick, MA). Adenosin deaminasa a tablety kompletního proteasa inhibitorového kokteilu byly dodány od Boehringer Mannheim Corp. (Indianapolis, IN). Membrány z HEK-293 buněk stabilně exprimujících lidský adenosin 2a [RB-HA2a]; adenosin 2b [RB-HA2b] nebo adenosin 3 [RB-HA3] receptor subtypy byly dodány od Receptor Biology (Beltsville, MD). Regens buněčných kultur byly od Life Technologies (Grand Island, NY) s výjimkou séra, které bylo od Hyclon (Logan, UT).

Kvasinkové kmeny:

Kmeny *Saccharomyces cerevisiae* CY12660 [far1*1442 tbt1-1 fus1-HIS3 can1 ste14: :trp1: :LYS2 ste3*1156 gpa1 (41)-Gai3 lys2 ura3 leu2 trp1: his3; LEU2 PGKp-Mfa1Leader-hA1R-PHO5term 2mu-orig REP3 Ampr] a CY8362 [gpa1p-rGαsE10K far1*1442 tbt1-1 fus1-HIS3 can1 ste14: :trp1: :LYS2 ste3*1156 lys2 ura3 leu2 trp1 his3; LEU2 PGKp-hA2aR 2mu-orig REP3 Ampr] byly vytvořeny, jak je popsáno výše.

Kvasinková kultura:

Transformované kvasinky byly kultivovány v Leu-Trp (LT) mediu (pH5,4) doplněném 2% glukosou. Pro přípravu membrán bylo 250 ml LT media naočkováno s výchozím titrem $1-2 \times 10^6$ buněk/ml z 30 ml kultury kultivované přes noc a inkubováno při 30 °C za stálého okysličování rotací. Po 16 h kultivace byly buňky sklizeny odstředěním a membrány byly připraveny, jak je popsáno dále.

Savčí tkáňové kultury:

Buňky HEH-293 stabilně exprimované lidským adenosin 2a receptor subtypem (Cadus klon č.5) byly kultivovány v Dulbecco minimálním základním mediu (DMEM) doplněném 10% fetálním hovězím sérem a 1Xpenicilin/streptomycinem za zvoleného tlaku použitím 500 mg/ml G418 antibiotik, při 37 °C ve zvlhčené 5% CO₂ atmosféře.

Přípravy membrán z kvasinkových buněk:

250 ml kultur bylo sklizeno po noční inkubaci odstředěním při 2000x g v centrifuze Sorvall RT6000. Buňky byly promyty v ledově studené vodě, odstředěny při 4 °C a peleta byla resuspendována v 10 ml ledové chladného lýzového pufru [5 mM Tris-HCl, pH 7,5; 5 mM EDTA; a 5 mM EGTA] doplněného tabletami kokteilu inhibitoru proteasy (1 tableta na 25 ml pufru). Do suspenze byly přidány skleněné kuličky (17 g; Mesh 400-600; Sigma) a buňky byly rozbity intenzivním vířením při 4 °C po 5 min. Homogenát byl zředěn dalšími 30 ml lýzového pufru plus proteasovými inhibitory a odstředěn při 3000 x g po 5 min. Následně byly membrány peletovány při 36000 x g (Sorvall RC5B, rotot typ SS34) po 45 min.

Získaná membránová peleta byla resuspendována v 5 ml membránového pufru [5 mM Tris-HCl, pH 7,5; 0,6 mM EDTA; a 5 mM MgCl₂] doplněného tabletami kokteilu proteasového inhibitoru (1 tableta na 50 ml pufru) a uložena při –80 °C pro další experimenty.

Příprava savčí buněčné membrány:

HEK-293 buněčné membrány byly připraveny jak je popsáno výše (Duzic E. a kol., *J. Biol. Chem.*, 267, 9844-9851, 1992). Stručně, buňky byly promyty PBS a sklizeny pomocí pryže. Buňky byly peletovány při 4 °C 200 x g v odstředivce Sorvall RT6000. Peleta byla resuspendována v 5 ml/nádobu lýzového pufru při 4 °C (5 mM Tris-HCl, pH 7,5; 5 mM EDTA; 5 mM EGTA; 0,1 mM fenylmethanolsulfonyl chloridu, 10 mg/ml pepstatinu A; a 10 mg/ml aprotininu) a homogenizována v Dounce homogenizeru. Buněčný lyzát byl potom odstřeďován při 36,000 x g (Sorvall RC5B, typ rotoru SS34) po 45 min a peleta byla resuspendována v 5 ml membránového pufru (50 mM Tris-HCl, pH 7,5; 0,6 mM EDTA; 5 mM MgCl₂; 0,1 mM fenylmethanolsulfonyl fluoridu, 10 mg/ml pepstatinu A; a 10 mg/ml aprotininu) a uložena při – 80 °C pro další experimenty.

Testovací kity Bio-Rad proteinu, založené na Bradford-barvicím vazebném postupu, (Bradford, M., *Anal. Biochem*, 71:248 (1976)) byly použity ke stanovení celkové koncentrace proteinu v kvasinkách a savčích membránách.

Saturace adenosin 1 receptor subtypu a kompetitivní radioligandová vazebnost:

Saturace a kompetitivní vazebnost na membránách z kvasinkových buněk transformovaných s lidským A₁ receptor subtypem byly prováděny použitím antagonisty [³H] DPCPX jako radiokativním ligandem. Membrány byly rozředěny ve vazebném pufru (50 mM Tris-HCl, pH 7,4; obsahující 10 mM MgCl₂; 1,0 mM EDTA; 0,25 % BSA; 2 U/ml adenosin deaminasy a 1 tableta koktejlu proteasového inhibitoru /50 ml) v koncentracích 1,0 mg/ml.

Při saturaci byly vazebné membrány (50 µg/misku) inkubovány se zvyšujícími se koncentracemi [³H] DPCPX (0,05 – 25 nM) ve finálním objemu 100 µl vazebného pufru při 25 °C po 1 h za absence a přítomnosti 10 µM neoznačeného XAC v 96-miskových mikrotitračních plotnách.

Při soutěžení byly vazebné membrány (50 µg/misku) inkubovány s [³H] DPCPX (1,0 nM) ve finálním objemu 100 µl vazebného pufru při 25 °C po 1 h za absence a přítomnosti 10 µM neoznačeného XAC nebo zvýšením koncentrací soutěžících sloučenin v 96-miskové mikrotitrační plotně.

Kompetitivní vazebnost radioligandu adenosin 2a receptor subtypu

Konkurenční vazebnosti na membránách z HEK293 buněk stabilně exprimujících lidský A2a receptor subtyp byly prováděny použitím agonisty [³H] CGC-21680 jako radioaktivního ligandu. Membrány byly naředěny vazebným pufrům (50 mM Tris.HCl, pH 7,4; obsahující 10 mM MgCl₂; 1,0 mM EDTA; 0,25% BSA; 2 U/ml adenosin deaminasy a 1 tabletu kokteilu proteasového inhibitoru/50 ml) při koncentracích 0,2 mg/ml. Membrány 10 µg/misku byly inkubovány s [³H] CGC-21680 (100 nM) ve finálním objemu 100 µl vazebného pufru při 25 °C po 1 hodinu za absence nebo přítomnosti 50 µM neoznačené NECA nebo zvýšením koncentrací soutěžících sloučenin v 96-miskové mikrotitrační plotně.

Kompetitivní vazebnost radioligandu adenosin 3 receptoru:

Byly prováděny testy konkurence vazebnosti na membránách z HEK293 buněk exprimujících lidský A3 receptor subtyp použitím [¹²⁵I] AB-MECA jako radioaktivního ligandu. Membrány byly naředěny ve vazebném pufru [50 mM Tris-HCl, pH7,4; obsahující 10 mM MgCl₂; 1,0 mM EDTA; 0,25% BSA; 2 U/ml adenosin deaminasy a 1 tabletu kokteilu proteasového inhibitoru/50 ml] při koncentracích 0,2 mg/ml. Membrány (10 µg/misku) byly inkubovány s [¹²⁵I] AB-MECA (0,75 nM) ve finálním objemu 100 µl vazebného pufru při 25 °C po 1 h za nepřítomnosti i

přítomnosti 10 μM neoznačeného IB-MECA nebo se zvyšujícími se koncentracemi konkurenčních sloučenin v 96-miskové mikrotitrační plotně.

Na konci inkubace byly testy vazebnosti radioligandů A_1 , A_{2a} a A_3 receptor subtypů zakončeny přidáním ledově chladných 50 mM Tris-HCl (pH 7,4) pufru, doplněných 10 mM MgCl_2 , s následnou rychlou filtrací přes filtry se skleněnými vlákny (96-miskové GF/B UniFiltre, Packard), předběžně nasáklé v 0,5% polyethyleniminu ve 196 miskovém sklízeči (Packard). Filtrační plotny byly sušeny, potaženy 50 μl / misku scintilační kapalinou (MicroScint -20, Packard) a spočteny v TopCount (Packard). Testy se prováděly třikrát. Nespecifická vazebnost byla ve vazebném testu $5,6 \pm 0,5 \%$, $10,8 \pm 1,4 \%$ a $15,1 \pm 1,6\%$ z celkové vazebnosti u A_{1R} , A_{2aR} resp. A_{3R} .

Kompetitivní vazebnost radioligandu subtypu adenosin 2b receptoru:

Byly prováděny testy konkurence vazebnosti na membránách z HEK293 buněk exprimujících lidský A_{2b} receptor subtyp použitím antagonisty receptoru A_1 [^3H] DPCPX jako radioaktivního ligandu. Membrány byly naředěny ve vazebném pufru [50 mM Hepes-KOH, pH 7,4; obsahující 1,0 mM EDTA; 0,1 mM benzamidinu a 2 U/ml adenosin deaminasy] při koncentracích 0,3 mg/ml. Membrány (15 μg /misku) byly inkubovány s [^3H] DPCPX (15 nM) ve finálním objemu 100 μl vazebného pufru při 25 °C po 1 h za nepřítomnosti i přítomnosti 10 μM neoznačeného XAC nebo se zvyšujícími se koncentracemi konkurenčních sloučenin v 96-miskové mikrotitrační plotně.

Na konci inkubace byly testy zakončeny přidáním ledově chladných 10 mM Hepes-KOH (pH 7,4) pufru s následnou rychlou filtrací přes filtry se skleněnými vlákny (96-miskové GF/B UniFiltre, Packard), předběžně nasáklé v 0,5% polyethyleniminu ve 196 miskovém sklízeči (Packard). Filtrační plotny byly sušeny, potaženy 50 μl / misku scintilační kapalinou (MicroScint -20, Packard) a spočteny v TopCount (Packard). Testy se

prováděly třikrát. Nespecifická vazebnost byla ve vazebném testu $14,3 \pm 2,3$ % z celkové vazebnosti.

Specifická vazebnost [^3H] DPCPX:

[^3H] CGS-21680 a [^{125}I] AB-MECA byla definována jako rozdíl mezi celkovou vazebností a nespecifickou vazebností. Procentická inhibice sloučenin byla vypočtena proti celkové vazebnosti. Odpovídající data byla analyzována iterativní aproximací křivky na jednostranném modelu, a hodnoty K_I byly vypočteny z hodnot IC_{50} (Cheng and Prusof, Biochem. Pharmacol. 22, 3099-3109, 1973) použitím GraphPrizm 2,01 software.

Výsledky

Primární funkcí některých receptorů buněčných povrchů je rozpoznávat příslušné ligandy. Proto jsme stanovili afinity ligandových vazeb pro zjištění funkční integrity subtypu Adenosin 1 receptoru exprimovaného v kvasinkách. Surové membrány připravené ze *Saccharomyces cerevisiae* transformované s konstruktem subtypu lidského adenosin 1 receptoru vykazovaly specifickou nasýtitelnou vazebnost [^3H] DPCPX s K_D $4,0 \pm 0,19$ nM. Hodnoty K_D a $B_{\max}$ byly vypočteny ze saturační isothermy a Scatchardova transformace údajů indikovala jedinou třídu vazebných míst. Hustoty vazebných míst adenosinu v přípravcích z kvasnicové membrány byly stanoveny na $716,8 \pm 43,4$ fmol/mg membránového proteinu.

Charakteristiky farmakologického subtypu rekombinantních kvasnicových buněk transformovaných se subtypem lidského A_1 receptoru byly zkoumány se subtypem selektivních adenosinových ligandů (XAC, DPCPX, CGS-15943; Sloučenina 600, sloučenina 1002; NECA, (R)-PIA; IB-MECA a Alloxazin), které „soutěžily“ s [^3H]DPCPX v očekávaném pořadí. Substituční křivky (přemístění) zaznamenané s těmito sloučeninami vykazují typickou strmost pro všechny ligandy, a údaje pro každý z ligandů by mohl být vzorem. Zjevné disociační konstanty odhadnuté z křivek pro

jednotlivou sloučeninu (tabulka 5) jsou konzistentní s hodnotou publikovanou pro receptor získaný z jiných zdrojů.

Tabulka 5

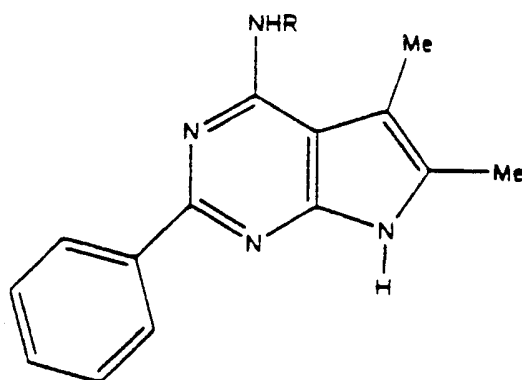
Hodnoty K_i pro membrány z kvasnicových buněk transformovaných s lidským A1 receptor subtypem

Ligandy	K_i (nM)
XAC	5,5
DPCPX	7,1
CGS-1594	10,8
NECA	179,6
(R)-PIA	56,3
IB-MECA	606,5
Alooxazin	894,1
Sloučenina 600	13,9
Sloučenina 1002	9,8

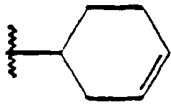
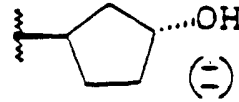
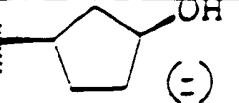
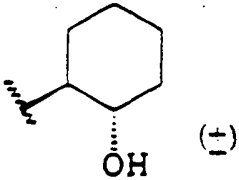
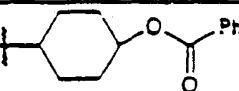
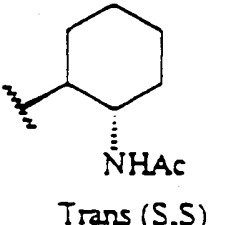
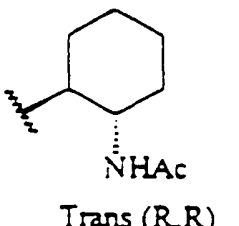
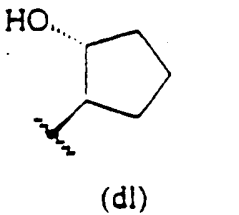
Tabulky 6 až 12 demonstrují profily účinnosti a strukturní aktivity deazapurinů podle vynálezu. Tabulky 13 a 14 demonstrují selektivitu, které je možno dosáhnout pro místa lidského adenosin receptoru modulací funkčnosti (funkčních skupin) kolem deazapurinové struktury. Tabulka 14 rovněž dokládá překvapivé zjištění, že sloučeniny zde uvedené mají subnanomolární aktivitu a vyšší selektivitu pro A_{2b} receptor ve srovnání se sloučeninami v tabulce 13.

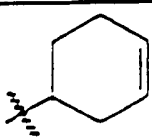
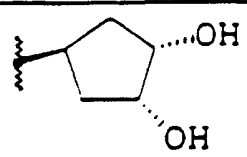
V tabulkách dále značí: „Compound“ sloučenina; „Yeast“ kvasnice, „binding“ vazebnost, vazba.

Tabulka 6

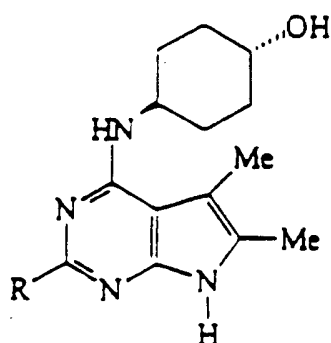
Vliv N₆-substituentu

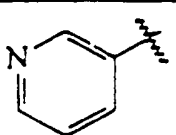
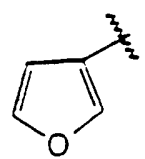
Slouč.	R	A1	
		vazebnost K _i (nM)	Kvasinky IC ₅₀ (nM)
600		13.9	97.2
601		1423	>10.000
602		483.5	>10.000
603		196.6	4412.0
604		>10.000	>10000
605		>10000	>10000
606		297.9	>10000

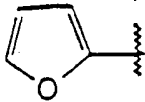
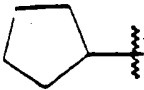
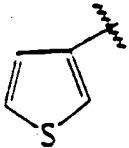
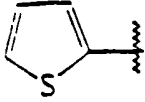
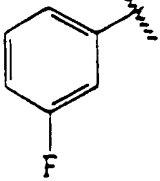
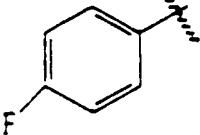
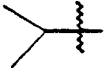
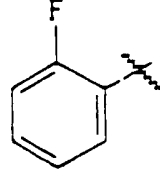
607		309.7	>10000
608		29.1	
609		193.9	
610		411.5	
611		785.6	>10000
612		64.8	
613		6726.0	
614		32.1	

615	 (dl)	816.9	2577.0
616		34.3	

TABULKA 7

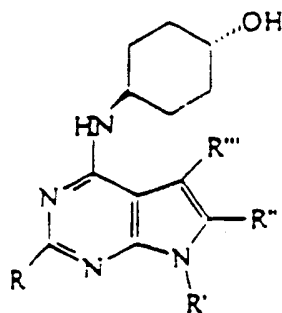
Vliv C₂-substituentu

Slouč.	R	A1	
		vazebnost K _i (nM)	Kvasinky IC ₅₀ (nM)
700		604.5	>10000
701		157.7	763.1

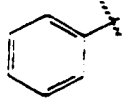
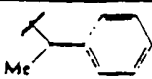
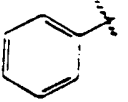
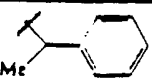
702		198.5	2782.5
703		443.6	>10000
704		61.1	297.0
705		30.1	194.7
706		19.9	
707		62.8	
708		2145	
709		48.7	

TABULKA 8

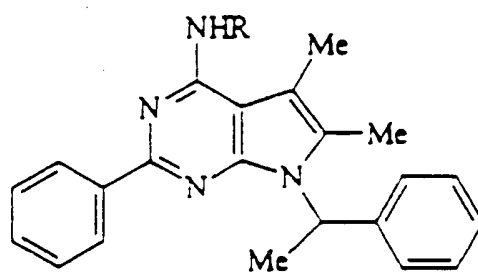
Vliv substituentů pyrrolového kruhu

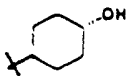
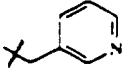
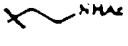
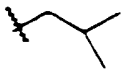


Slouč.	R	R'	R''	R'''	A1	
					vazeb. K _i (nM)	Kvasinky IC ₅₀ (nM)
800		Me	Me	Me	3311	>10000
801		H	Me	H	22.3	148.3
802		H	H	Me	8.9	
803			Me	Me	2210	>10000
804			Me	Me	863.1	
805			Me	Me	4512	

806			Me	Me	8451	
807			Me	Me	35.3	

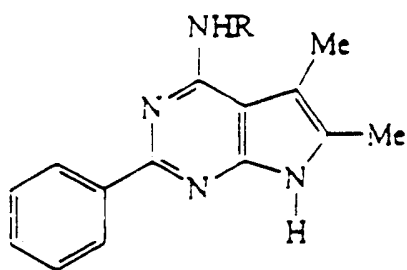
Tabulka 9



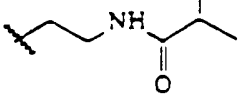
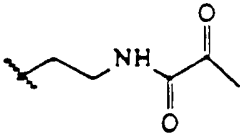
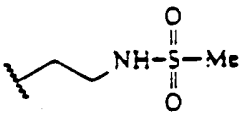
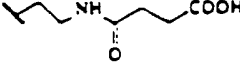
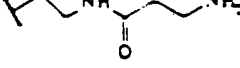
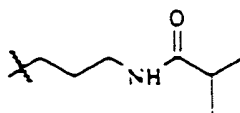
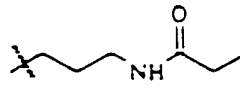
		Al	
Slouč.	R	vazeb. Ki (nM)	Kvasinky IC50 (nM)
900		863.1	
901		4512	
902		8451	
903		35.3	

TABULKA 10

Vliv N-6 substituentu

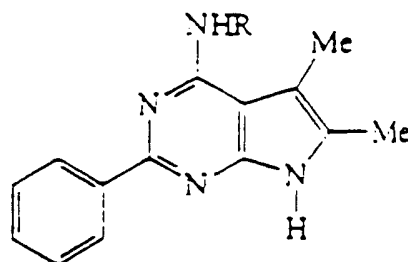


		A1	
Slouč.	R	vazebnost Ki (nM)	Kvasinky IC50 (nM)
1000		1789	>10000
1001		54.4	1865
1002		9.8	82.8
1003		26.7	195.7
1004		32.8	545.8

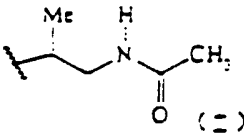
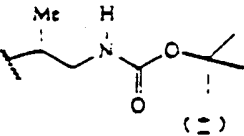
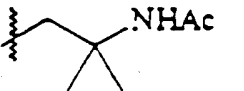
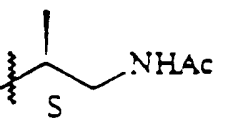
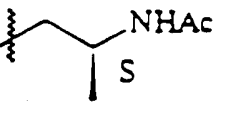
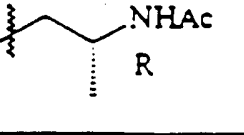
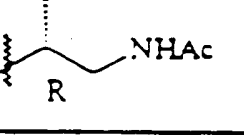
1005		147.5	3972
1006		151.7	2918
1007		692.5	>10000
1008		93.1	3217
1009		475.3	>10000
1010		674.9	9376.0
1011		121.9	2067.5
1012		233.9	3462
1013		270.1	3009.5
1014		384.9	2005
1015		179.3	3712
1016		176.1	5054

TABULKA 11

Vliv N-6 substituentu

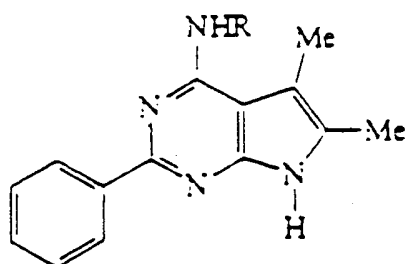


Slouč.	R	A)	
		vazebnost Ki (nM)	Kvasinky IC50 (nM)
1100		9.8	115.4
1101		53.9	551.0
1102		10.3	101.3
1103		71.1	3217
1104		6.5	58.7
1105		105.4	472.1

1106		27.8	162.4
1107		126.5	1297.0
1108		2.5	
1109		9.0	
1110		17.5	
1111		2.5	
1112		215	

TABULKA 12

„Retro-amid“ analogy



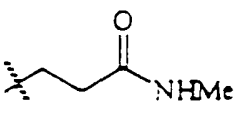
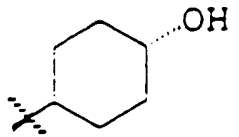
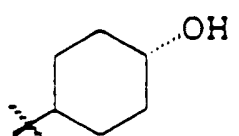
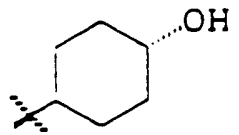
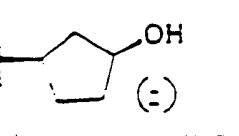
Slouč.	R	A1	
		vazebnost K _i (nM)	Kvasinky IC ₅₀ (nM)
1200		16.5	189.4
1201		7.4	45.7
1202		95.8	3345.0
1203		529.1	4040.0
1204		1060.0	>10000

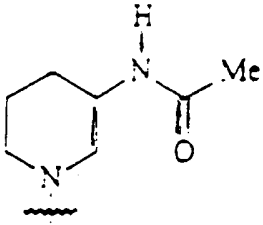
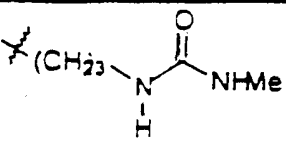
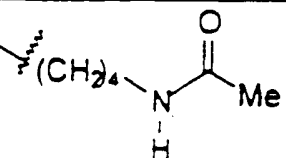
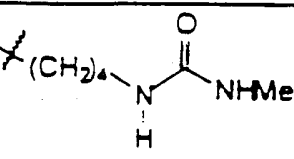
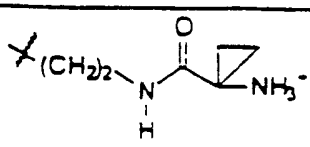
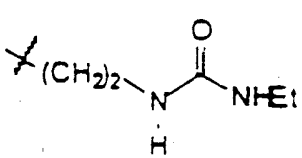
1205		1272	>10000
1206		50.8	4028
1207		48.5	701.5

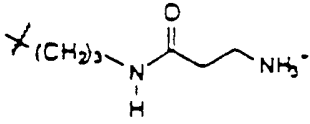
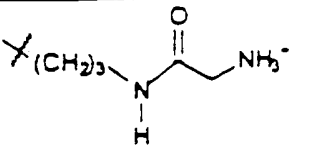
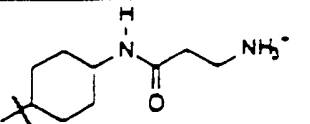
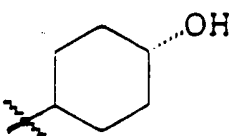
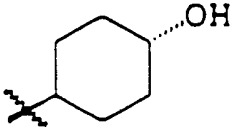
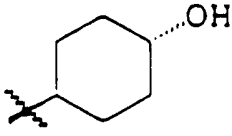
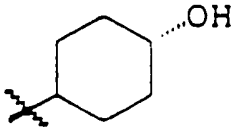
TABULKA 13

Profil selektivních adenosin antagonistů

		vazebnost K_i (nM)			
Slouč.	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

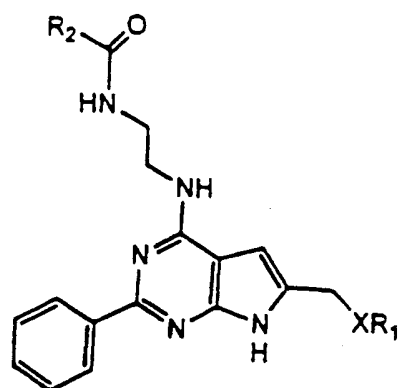
1303		17.4	111.3	120.6	44.6
1304		13.9- 30.9	933.7	138.0	21.5
1305		46.6	730.9	30%	9.9
1306		16.4	766.3	168.3	71.7
1307	 (dl)	29.1	190.6	1143.0	3.1
1308	 (=)	180	230	670	1.0

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		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 ¹		3.7±0.5	630± 56.4	2307± 926	630±76
1319 ^{4,5}		1.8	206	802	270
1320 ^{4,5}		8.0	531	530	419
1321 ^{4,7}		8.0	131	1031	54% ⁸

¹ 2-thienyl-2-yl; ² C₅-H; ³ ve vodě rozpustný; ⁴ R₅ a R₆ jsou vodík; ⁵ R₃ je 3-fluorfenyl; ⁶ R₃ je 3-chlorfenyl; ⁷ R₃ je 4-pyridyl; ⁸ % aktivity při 10 μM.

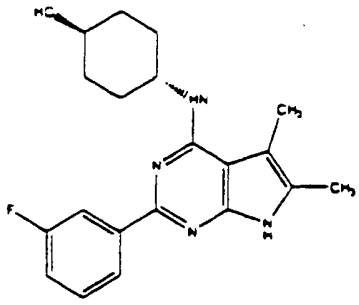
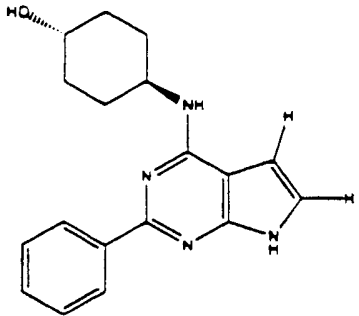
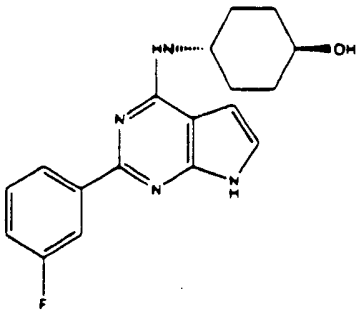
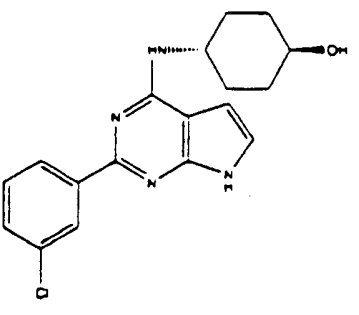
TABULKA 14

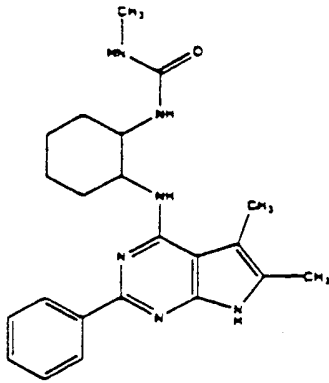
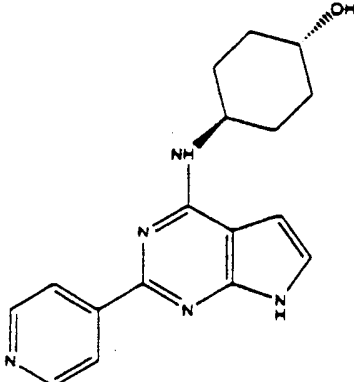
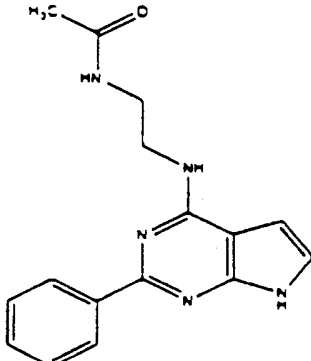
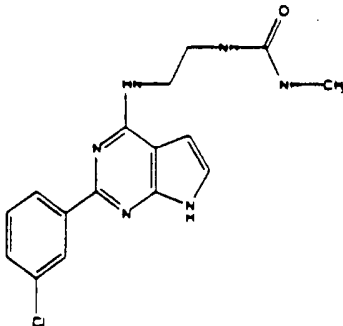
Profil selektivních A_{2b} antagonistů

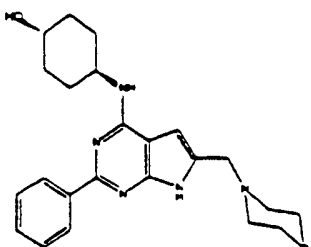
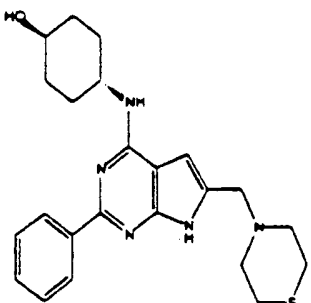
Sloučenina	XR ₁	R ₂	data vazebnosti K _i (nM)			
			A ₁	A _{2a}	A _{2b}	A ₃
1400	-O-Ph	Me	41.7	21	10.3	14.6
1401	-O-Ph(p)F	Me	33	58	8.8	18
1402	-O-Ph(p)Cl	Me	825	591	22	60
1403	-N-pyridin- 2-one	Me	60	41	18	48
1404	-NH-Ph	Me	49	31	4.6	57

TABULKA 15: Selektivní sloučeniny adenosin A1 receptoru

*alespoň desetkrát více selektivní než ostatní tři subtypy

sloučenina	struktura	Ki-A ₁	Relat. Ki-A _{2a}	Relat Ki-A _{2b}	Relat Ki-A ₃
706		*			
1318		*			
1319		*			
1320		*			

1500		*			
1321		*			
1501		*			
1502		*			

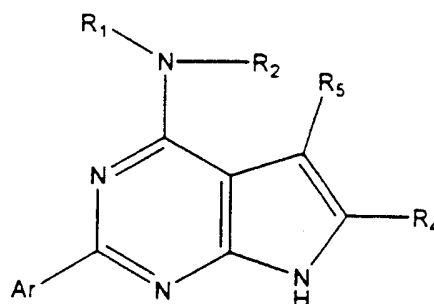
1503					
1504					

Následující strany se týkají sloučenin specifických k A_{2a} receptoru

Podstata vynálezu

Předložený vynález je také založen na sloučeninách, které se selektivně vážou na adenosin A_{2a} receptor, a tím na léčení nemoci spojené s adenosin A_{2a} receptorem u subjektu, podáváním subjektu terapeuticky účinného množství takových sloučenin. Nemoci, které mají být léčeny, jsou spojeny například s poruchami centrálního nervového systému, kardiovaskulárními chorobami, chorobami ledvin, zánětlivými chorobami, gastrointestinálními poruchami, očními chorobami, alergickými onemocněními nebo respiračními chorobami.

Vynález se také týká sloučeniny mající strukturu:



(VI)

kde NR_1R_2 je substituovaný nebo nesubstituovaný 4-8 členný kruh;

kde Ar je substituovaný nebo nesubstituovaný čtyř- až šesti-členný kruh;

kde R_4 je H, alkyl, substituovaný alkyl, aryl, arylalkyl, amino, substituovaný aryl, přičemž uvedeným substituovaným alkylem je $-C(R_8)(R_9)XR_6$, kde X je O, S nebo NR_7 , kde R_8 a R_9 jsou každý nezávisle H nebo alkyl, přičemž R_6 a R_7 jsou každý nezávisle alkyl nebo cykloalkyl,

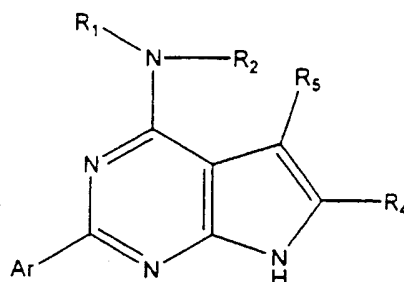
nebo R_6 , R_7 a dusík dohromady tvoří substituovaný nebo nesubstituovaný kruh s počtem mezi 4 a 7 členy;

kde R_5 je H, alkyl, substituovaný alkyl nebo cykloalkyl;

s tím, že NR_1R_2 není 3-acetamido piperadino, 3-hydroxy pyrrolidino, 3-methyloxy karbonylmethyl pyrrolidino, 3-aminokarbonylmethyl, nebo pyrrolidino; s tou podmínkou, že NR_1R_2 je 3-hydroxymethyl piperadino, pouze když Ar je 4-pyridyl.

Tento vynález se také týká způsobu inhibice aktivity A_{2a} adenosin receptoru v buňce, který zahrnuje uvedení do kontaktu uvedené buňky s výše zmíněnými sloučeninami.

Tento vynález také poskytuje sloučeninu mající strukturu:



(VI)

kde NR_1R_2 je substituovaný nebo nesubstituovaný 4 -8 členný kruh;

kde Ar je substituovaný nebo nesubstituovaný čtyř- až šesti-členný kruh;

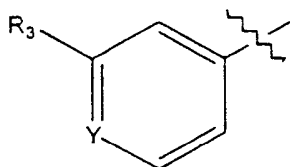
kde R_4 je H, alkyl, substituovaný alkyl, aryl, arylalkyl, amino, substituovaný aryl, přičemž uvedeným substituovaným alkylem je $-C(R_8)(R_9)XR_6$, kde X je O, S nebo NR_7 , kde R_8 a R_9 jsou každý nezávisle H nebo alkyl, přičemž R_6 a R_7 jsou každý nezávisle alkyl nebo cykloalkyl,

nebo R_6 , R_7 a dusík dohromady tvoří substituovaný nebo nesubstituovaný kruh s počtem mezi 4 a 7 členy;

kde R_5 je H, alkyl, substituovaný alkyl nebo cykloalkyl;

s tím, že NR_1R_2 není 3-acetamido piperadino, 3-hydroxy pyrrolidino, 3-methyloxy karbonylmethyl pyrrolidino, 3-aminokarbonylmethyl, nebo pyrrolidino; s tou podmínkou, že NR_1R_2 je 3-hydroxymethyl piperadino, pouze když Ar je 4-pyridyl.

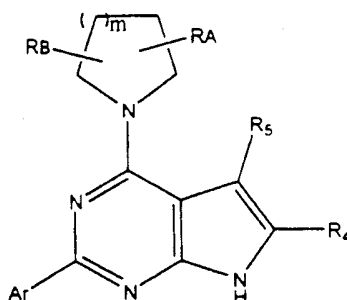
V jednom provedení sloučeniny Ar je substituovaný nebo nesubstituovaný čtyř až šesti členný kruh, fenyl, pyrrol, thiofen, furan, thiazol, imidazol, pyrazol, 1,2,4-triazol, pyridin, 2(1H)-pyridon, 4(1H)-pyridon, pyrazin, pyrimidin, pyridazin, isothiazol, isoxazol, oxazol, tetrazol, naftalen, tetralin, naftyridin, benzofuran, benzothiofen, indol, 2,3-dihydroindol, 1H-indol, indolin, benzopyrazol, 1,3-benzodioxol, benzoxazol, purin, kumarin, chromon, chinolin, tetrahydrochinolin, isochinolin, benzimidazol, chinazolin, pyrido[2,3-b]pyrazin, pyrido[3,4-b]pyrazin, pyrido[3,2-c]pyridazin, purido[3,4-b]-pyridin, 1H-pyrazol[3,4-d]pyrimidin, pteridin, 2(1H)-chinolon, 1(2H)-isochinolon, 1,4-benzisoxazin, benzothiazol, chinoxalin, chinolin-N-oxid, isochinolin-N-oxid, chinoxalin-N-oxid, chinazolin-N-oxid, benzoxazin, ftalazin, cinolin, nebo mající strukturu:



kde Y je uhlík nebo dusík;

kde R_3 je H, substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, substituovaný nebo nesubstituovaný aryl, halogen, methoxy, methylamino, methylthio;

V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:

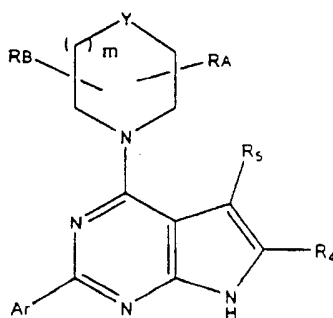


kde m je 1 nebo 2;

kde R_A a R_B jsou každý nezávisle H, -OH, -CH₂OH, -CH₂CH₂OH, -C(=O)NH₂, heteroatom, nebo -C(=O)NR₃R₃'; kde R_3 je aryl, substituovaný aryl nebo heteroaryl; kde R_3' je alkyl, nebo XR₃'', kde X je O, nebo N a R'' je substituovaný alkyl nebo aryl.

V jiném provedení sloučeniny R_1R_2N je (D)-2-aminokarbonyl pyrrolidino, (D)-2-hydroxymethyl pyrrolidino, (D)-2-hydroxymethyl-trans-4-hydroxy pyrrolidino, piperazino nebo 3-hydroxymethyl piperadino.

V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:

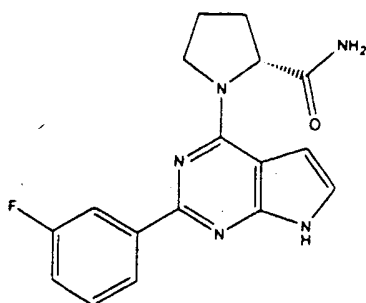


kde m je 0, 1, 2 nebo 3;

kde Y je O, S nebo NR ,

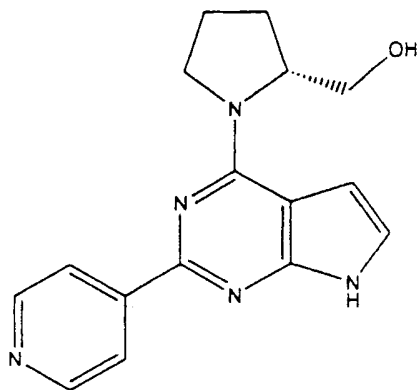
přičemž R je R_A nebo R_B , kde R_A a R_B jsou každý nezávisle H, -OH, -CH₂OH, -CH₂CH₂OH, -C(=O)NH₂, heteroatom, nebo -C(=O)NR₃R₃'; kde R_3 je aryl, substituovaný aryl nebo heteroaryl; kde R_3' je alkyl, nebo XR₃'', kde X je O, nebo N a R'' je substituovaný alkyl nebo aryl.

V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



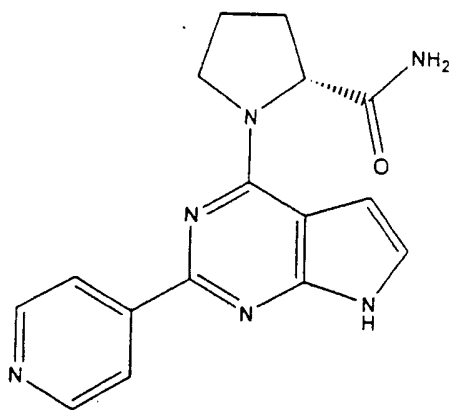
(sloučenina 1600)

V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



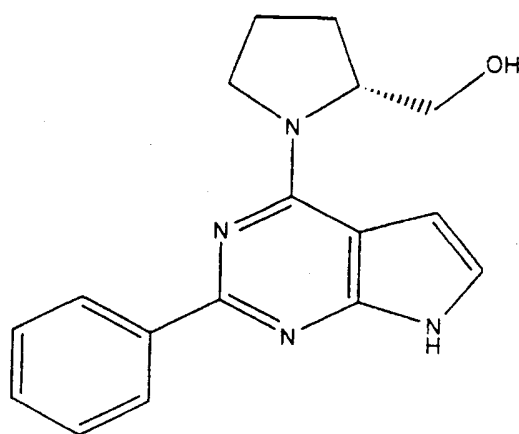
(sloučenina 1601)

V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



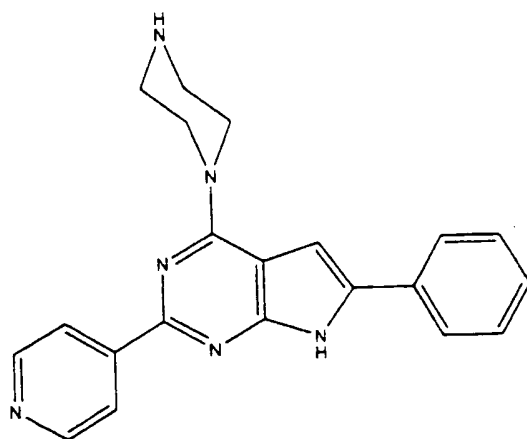
(sloučenina 1602)

V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



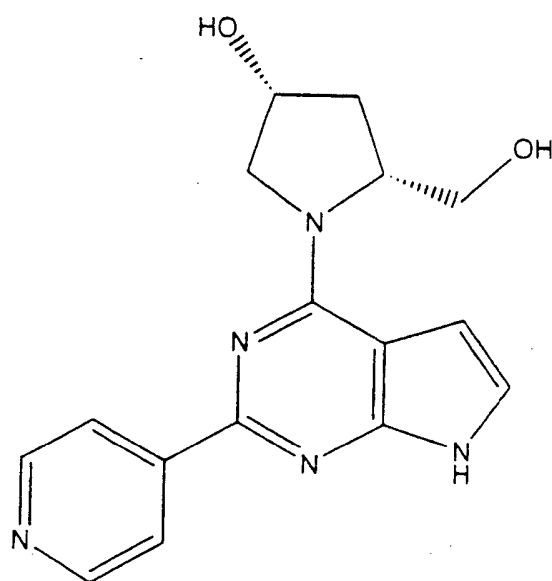
(sloučenina 1603)

V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



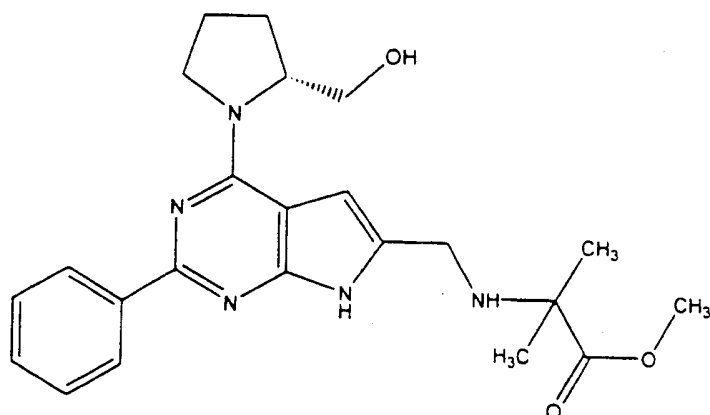
(sloučenina 1604)

V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



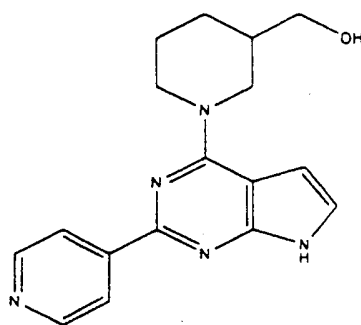
(sloučenina 1605)

V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



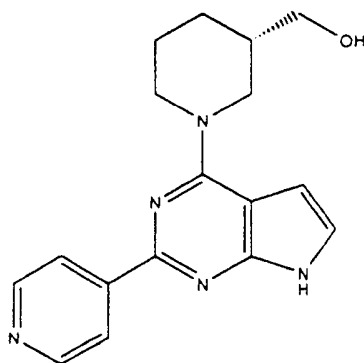
(sloučenina 1606)

V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:

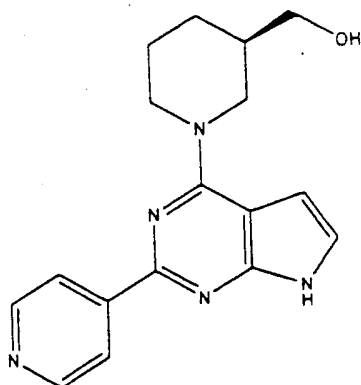


(sloučenina 1607)

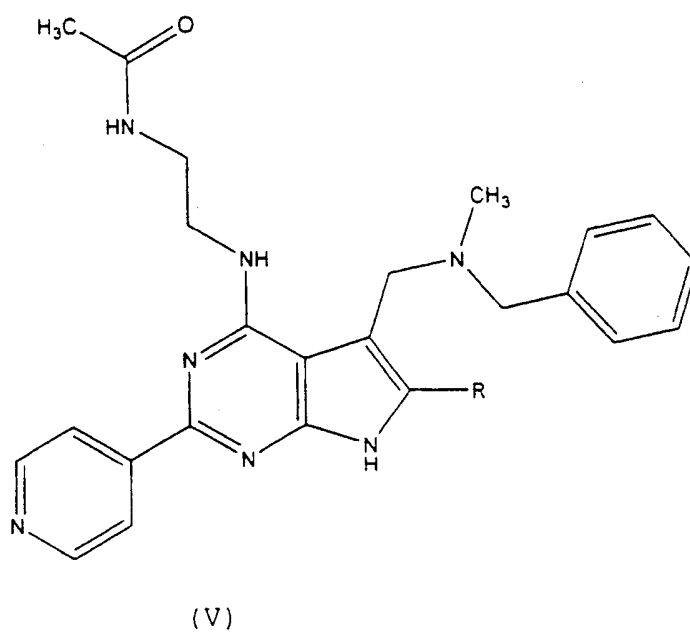
V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:

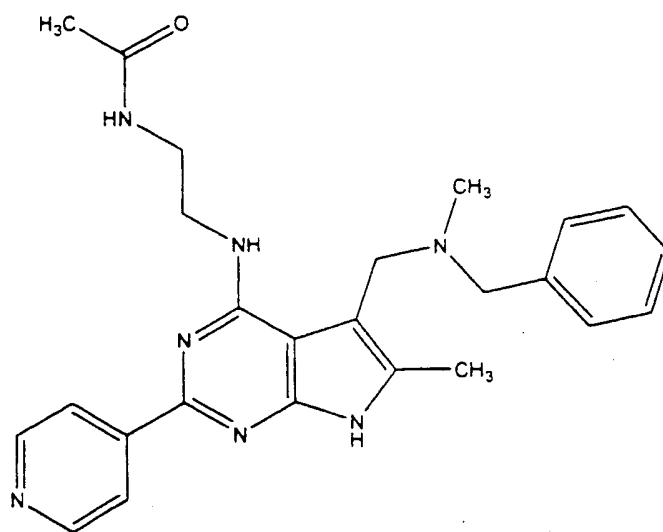


Tento vynález se dále týká sloučeniny mající strukturu (V):



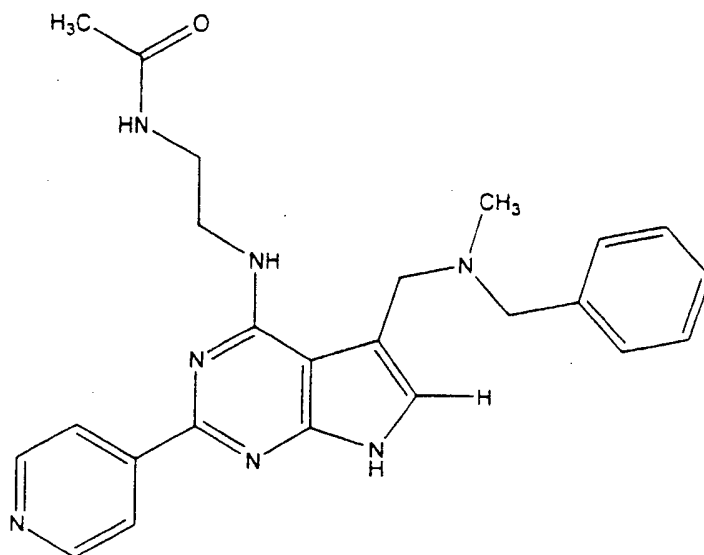
kde R je H, nebo methyl.

V jednom provedení sloučeniny V má sloučenina strukturu:

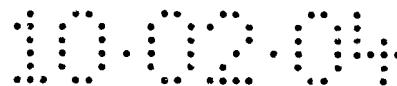


(sloučenina 1608)

V ještě dalším provedení sloučeniny V má sloučenina strukturu:



Tento vynález dále poskytuje u subjektu způsob léčení nemocí spojených s A₂ adenosin receptorem, zahrnující podávání subjektu terapeuticky účinného množství sloučeniny mající vzorec IV nebo V.



V jednom provedení postupu léčí sloučenina uvedené nemoci stimulací adenylat cyklasy.

V jednom provedení postupu je subjektem savec.

V jiném provedení postupu je savcem člověk.

V jiném provedení postupu je uvedený A_{2a} adenosin receptor spojený s Parkinsonovou nemocí a nemocemi spojenými s pohybovou aktivitou, vasodilatací, inhibicí destiček, neutrofilní generací hyperoxidu, kognitivní chorobou nebo senilní demencí.

Nemoci spojené s adenosin A_1 , A_2 a A_3 receptory jsou popsány ve WO 1999/006053 a WO-09822465, WO-09705138, WO-09511681, WO-09733879, JP-09291089, PCT/US1998/016053 a patentu US 5 516 894, jejichž obsah je zde zcela začleněn formou odkazu.

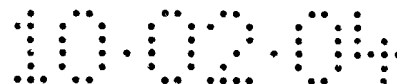
Tento vynález rovněž poskytuje ve vodě rozpustná proléčiva sloučenin majících struktury IV nebo V, kde uvedená ve vodě rozpustná proléčiva jsou metabolizována *in vivo* za vzniku aktivního léčiva, které selektivně inhibuje A_{2a} adenosin receptor.

V jednom provedení proléčiva je uvedené proléčivo metabolizováno *in vivo* hydrolýzou, která je katalyzovaná esterásou.

Tento vynález také poskytuje farmaceutický prostředek zahrnující proléčivo a farmaceuticky přijatelný nosič.

Tento vynález dále poskytuje způsob inhibice aktivity A_{2a} adenosin receptoru v buňkách, který zahrnuje uvedení do kontaktu zmíněných buněk se sloučeninami majícími vzorec IV nebo V.

V jednom provedení postupu je sloučeninou antagonistu uvedeného A_{2a} adenosin receptoru.



V jiném provedení farmaceutického prostředku je uvedeným farmaceutickým prostředkem oftalmická formulace.

V dalším provedení farmaceutického prostředku je uvedený farmaceutický prostředek periokulární, retrobulbární nebo intraokulární injekční formulace.

V dalším provedení farmaceutického prostředku je uvedeným farmaceutickým prostředkem systémická formulace.

Tento vynález dále poskytuje u subjektu způsob léčení gastrointestinálních nemocí, zahrnující podávání subjektu terapeuticky účinného množství sloučenin vzorce IV nebo V.

V jednom provedení metody je uvedenou nemocí průjem.

V jiném provedení metody je subjektem člověk.

V dalším provedení metody je sloučeninou antagonistu A_{2a} adenosin receptorů.

Tento vynález také poskytuje u subjektu způsob léčení respiračních chorob, zahrnující podávání subjektu terapeuticky účinného množství sloučenin vzorce IV nebo V.

V jednom provedení metody je uvedenou nemocí astma, chronická obstrukční plicní nemoc, alergická rýma, nebo choroby horních dýchacích cest.

V jiném provedení metody je subjektem člověk.

V dalším provedení metody je uvedenou sloučeninou antagonistu A_{2a} adenosin receptorů.



Tento vynález dále poskytuje u subjektu způsob léčení zranění očí u subjektu, zahrnující podávání subjektu terapeuticky účinného množství sloučenin vzorce IV nebo V.

V jednom provedení metody uvedené poranění zahrnuje poškození sítnice a optického nervu.

V jiném provedení metody je uvedené poškození akutní nebo chronické.

V jiném provedení metody je uvedené poškození důsledkem glaukomu, edemu, ischemie, hypoxie nebo traumatu.

V jiném provedení metody je subjektem člověk.

V dalším provedení metody je sloučeninou antagonisty A₁ adenosin receptorů.

Tento vynález také poskytuje farmaceutický prostředek obsahující terapeuticky účinné množství sloučenin vzorce IV nebo V a farmaceuticky přijatelný nosič.

V jiném provedení farmaceutického prostředku je terapeuticky účinné množství účinné pro léčení Parkinsonovy nemoci a nemocí spojených s pohybovou aktivitou, vasodilatací, inhibicí destiček, neutrofilní generací hyperoxidu, kognitivní chorobou nebo senilní demencí.

V jiném provedení farmaceutického prostředku je uvedeným farmaceutickým prostředkem oftalmická formulace.

V dalším provedení farmaceutického prostředku je uvedený farmaceutický prostředek periokulární, retrobulbární nebo intraokulární injekční formulace.

V dalším provedení farmaceutického prostředku je uvedeným farmaceutickým prostředkem systémická formulace.

V ještě dalším provedení farmaceutického prostředku je uvedeným farmaceutickým prostředkem chirurgický výplachový roztok.

Tento vynález také poskytuje kombinační terapii pro Parkinsonovu nemoc, zahrnující sloučeniny IV a V, a kterýkoliv z dopaminových enhancerů.

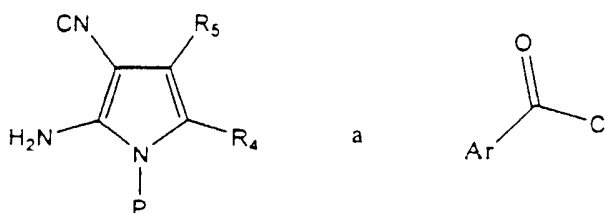
Tento vynález dále poskytuje kombinační terapii pro rakovinu, zahrnující sloučeniny IV a V, a kterýkoliv z cytotoxických agens.

Tento vynález také poskytuje kombinační terapii pro glaukom, zahrnující sloučeniny IV a V, a agonist prostaglandinu, muskrinního agonistu nebo b-2 antagonistu.

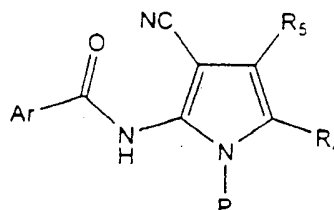
Tento vynález také poskytuje balený farmaceutický prostředek pro léčení nemocí spojených s A_{2a} adenosin receptorem u subjektu, zahrnující: (a) kontejner nesoucí terapeuticky účinné množství sloučenin IV nebo V; a (b) instrukce pro použití uvedené sloučeniny při léčení uvedené nemoci u subjektu.

Tento vynález rovněž poskytuje způsob přípravy sloučeniny mající strukturu IV, zahrnující kroky:

a) reakci

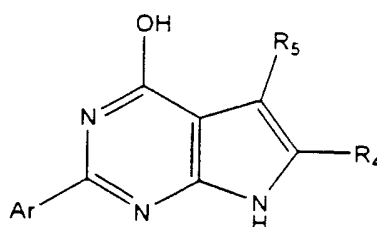


za získání

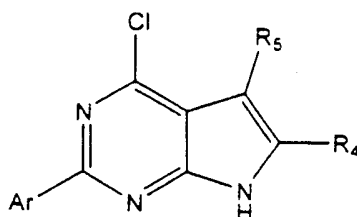


kde P je odstranitelná chránicí skupina;

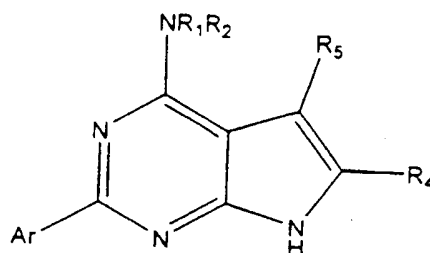
b) zpracování produktu z kroku a) za podmínek cyklizace za získání



c) zpracování produktu z kroku b) za vhodných podmínek za získání



d) zpracování chlorovaného produktu z kroku c) s NH_2R_1 za získání



kde NR_1R_2 je substituovaný nebo nesubstituovaný 4-8 členný kruh;

kde Ar je substituovaný nebo nesubstituovaný čtyř až šesti členný kruh,

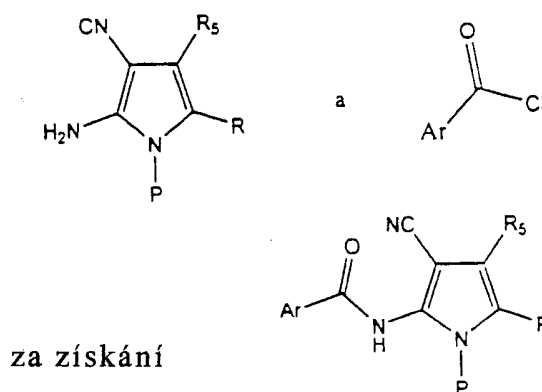
kde R_4 je H, alkyl, substituovaný alkyl, aryl, arylalkyl, amino, substituovaný aryl, přičemž uvedeným substituovaným alkylem je $-C(R_8)(R_9)XR_6$, kde X je O, S nebo NR_7 , kde R_8 a R_9 jsou každý nezávisle H nebo alkyl, přičemž R_6 a R_7 jsou každý nezávisle alkyl nebo cykloalkyl, nebo R_6 , R_7 a dusík dohromady tvoří substituovaný nebo nesubstituovaný kruh s počtem mezi 4 a 7 členy;

kde R_5 je H, alkyl, substituovaný alkyl nebo cykloalkyl;

s tím, že NR_1R_2 není 3-acetamido piperadino, 3-hydroxy pyrrolidino, 3-methoxy karbonylmethyl pyrrolidino, 3-aminokarbonylmethyl, nebo pyrrolidino; s tou podmínkou, že NR_1R_2 je 3-hydroxymethyl piperadino, pouze když Ar je 4-pyridyl.

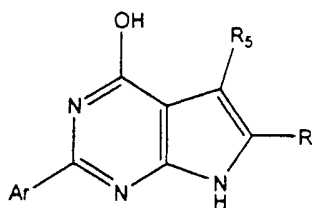
Tento vynález dále poskytuje způsob přípravy sloučeniny V, zahrnující kroky:

a) reakci

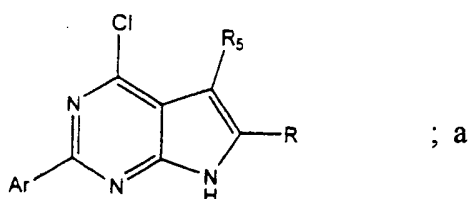


kde P je odstranitelná chránící skupina;

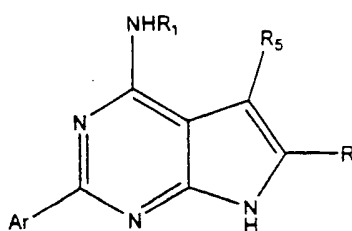
b) zpracování produktu z kroku a) za podmínek cyklizace za získání



c) zpracování produktu z kroku b) za vhodných podmínek za získání



d) zpracování chlorovaného produktu z kroku c) nejprve s dimethylaminem a formaldehydem, potom s N-methylbenzylaminem a nakonec s NH_2R_1 za získání



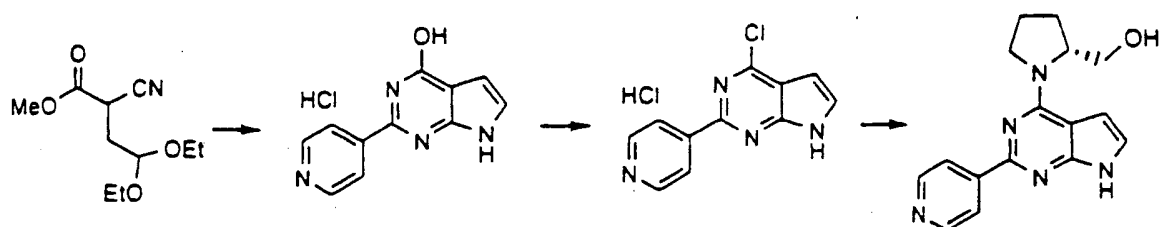
kde R_1 je acetamido ethyl; kde Ar je 4-pyridyl; kde R je H nebo methyl; kde R_5 je N-methyl-N-benzylaminomethyl.

Jak se zde používá, výraz „sloučenina je A_{2a} selektivní“ znamená, že sloučenina má vazebnou konstantu na adenosin A_{2a} receptor alespoň pětinasobně vyšší než na adenosin A_1 , A_{2b} nebo A_3 .

Vynález je dále doložen následujícími příklady, které by neměly být v žádném případě omezující. Obsah všech odkazů, souvisejících patentových přihlášek a zveřejněných patentových přihlášek, citovaných v této přihlášce, včetně těch, které jsou odkazovány v sekci „background“, jsou zahrnuty jako odkaz. Mělo by být zřejmé, že modely použité v příkladech jsou akceptované modely a že doložení účinků na těchto modelech je prognózou pro účinky na lidech.

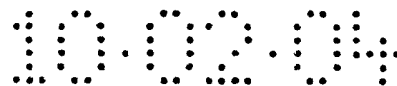
Tento vynález bude lépe pochopen z experimentálních detailů uvedených dále. Nicméně odborník v dané oblasti techniky snadno zhodnotí, že konkrétní diskutované postupy a výsledky jsou pouze ilustrativní pro vynález, jak je úplně popsán v nárocích, které následují.

Příklad 22 Syntéza adenosin A_{2a} antagonistů, sloučenin 1601, 1602 a 1603



Sloučenina 26 sloučenina 27 sloučenina 28 sloučenina 1601

Sloučenina 26 (10,39 g, 50,76 mmol) byla rozpuštěna v DMF (67 ml). Postupně byly přidány 4-aminopyridin hydrochlorid (8,0 g, 50,76 mmol) a DBU (15,4 g, 101,5 mmol) a reakční směs byla zahřívána na 85 °C. Po 22 hodinách byla reakční směs ochlazena na teplotu místnosti a DMF byl odstraněn ve vakuu. Temný olej byl zředěn s 2M HCl (80 ml). Reakční směs byla ponechána stát. Po 2 hodinách byl roztok ochlazen na 10 °C a filtrován. Pevná látka byla promyta ledovou vodou a sušena za získání 7,40 g žluté pevné látky, sloučeniny 27 (69%).



^1H NMR (200 MHz, d_6 -DMSO) δ 6,58 (s, 1H), 7,27 (s, 1H), 8,53 (d, 2H, J = 5,6), 9,00 (d, 2H, J = 5,2 Hz), 12,35 (brs, 1H). MS (ES): 212,8 (M+1).

Sloučenina 27 (7,4 mmol, 29,8 mmol) byla zředěna s POCl_3 a zahřáta na 105 °C. Po 18 hodinách byla reakční směs ochlazena na teplotu místnosti a POCl_3 byl odstraněn ve vakuu. Tmavý hustý olej byl zředěn s MeOH (75 ml) a následně etherem (120 ml). Amorfni červená pevná látka je filtrována a promyta etherem za získání 3,82 g červené pevné látky. Surová pevná látka, sloučenina 28, je přibližně 80 % čistá a je použita bez další purifikace v další reakci.

^1H NMR (200 MHz, d_6 -DMSO) δ 6,58 (s, 1H), 7,27 (s, 1H), 8,53 (d, 2H, J = 5,6), 9,00 (d, 2H, J = 5,2 Hz), 12,35 (brs, 1H). MS (ES): 212,8 (M+1).

Sloučenina 1601: DMSO (5 ml) a D-prolinol (500 mg, 4,94 mmol) byly přidány do sloučeniny 28 (500 mg, 2,17 mmol). Reakce byla zahřívána na 120 °C. Po 18 h byla reakční směs ochlazena na teplotu místnosti a zředěna s EtOAc a H_2O . Vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla extrahována s EtOAc (2x). Spojené organické vrstvy byly promyty s H_2O (2x), solankou, sušeny nad MgSO_4 , filtrovány a koncentrovány za získání 200 mg hnědavé pevné látky. Pevná látka rekrystalizovala z EtOAc za získání 82 mg hnědavé pevné látky (13%).

^1H NMR (200 MHz, d_6 -DMSO) δ 2,05 (m, 4H), 3,43 (m, 1H), 3,70 – 4,00 (m, 3H), 4,50 (brs, 1H), 4,92 (brs, 1H), 6,62 (m, 1H), 7,22 (m, 1H), 8,22 (d, 2H, J = 6,0 Hz), 6,64 (d, 2H, J = 6,2 Hz). MS (ES): 296,0 (M+1).
t.t. = 210-220 °C (dekom.).

Sloučenina 1602: Chromatografie (silika, 9:1 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) poskytla výtěžek 10 mg hnědavé pevné látky (2%).

^1H -NMR (d -DMSO) δ 2,00-2,50 (m, 4H), 4,05 (m, 1H), 4,21 (m, 1H), 6,71 (d, 1H, J = 3,2 Hz), 7,18 (d, 1H, J = 3,2 Hz), 8,37 (d, 2H, J = 4,8 Hz), 8,56 (d, 2H, J = 5,0 Hz). MS (ES): 309,1 (M+1).

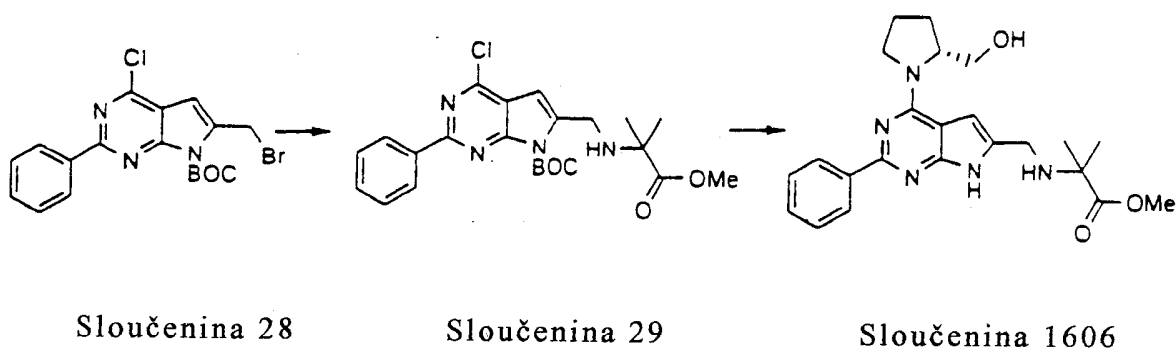
Sloučenina 1603: Chromatografie (silika, 20:1 hexan/EtOAc) poskytla výtěžek 135 mg hnědavé pevné látky (53%).

$^1\text{H-NMR}$ (d-DMSO) δ 2,00 (m, 4H), 3,43 (brs, 1H), 3,74 (brs, 2H), 3,87 (brs, 1H), 4,49 (brs, 1H), 4,93 (m, 1H), 6,56 (m, 1H), 7,12 (m, 1H), 7,40 (m, 3H), 8,34 (m, 2H), 11,62 (brs, 1H). MS (ES): 295,1 (M+1).

Sloučenina 1605: Do 50 ml RBF bylo rozpuštěno 60 mg 2-(4'-pyridyl)-4-chlor-pyrimidinpyrrolové HCl soli ve 2 ml bezvodého DMSO. Byla přidána 3-(R)-hydroxy-(D)-prolinol THA sůl (380 mg) a 500 mg hydrogenuhlitanu sodného. Směs potom byla propláchnuta plynným dusíkem po 5 min a zahřívána na 130 °C. Po 2 hodinách byla reakční směs ochlazená na teplotu místnosti a DMSO byl odstraněn ve vakuu. Zůstatek byl rozdělen mezi EtOAc (15 ml) a nasycený vodný roztok hydrogenuhlitanu sodného. Organická vrstva byla oddělena a promyta solankou (15 ml) a sušena nad Na_2SO_4 . Po odstranění rozpouštědla byl surový produkt purifikován preparativní TLC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 95/5$) za získání 35 mg (50%).

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) 2,3-2,5 (1H), 3,4-3,8 (3H), 4,4-4,6 (2H), 6,4 (1H), 7,1 (1H), 8,2 (d, 2H), 8,7 (d, 2H), 11,0 (1H). MS (ES): 312 (M+1).

Příklad 23 Syntéza adenosin A_{2a} antagonisty, sloučeniny 1606



Sloučenina 28 (200 mg) byla zpracována s DMF (30 ml) (-dimethylglycin methylesterem (73 mg HCl soli ve 2 ml vody) a 500 mg hydrogenuhlitanu sodného. Po 18 h byl DMF odstraněn ve vakuu. Zůstatek byl rozdělen mezi EtOAc (30 ml) a nasycený vodný roztok hydrogenuhlitanu sodného (15 ml). Organická vrstva byla promyta solankou (15 ml), sušena

nad síranem sodným, filtrována a koncentrována. Chromatografie /silika, 10:4 hexan/EtOAc) poskytla 150 mg čistého produktu, sloučeniny 29, (69%).

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3), 1,4 (s, 6H), 3,8 (s, 3H), 3,9 (s, 2H), 6,4 (s, 1H), 7,4-7,5 (m, 3H), 8,4 (m, 2H), 9,8 (s, 1H).

Sloučenina 1606: Postup je stejný, jako u sloučeniny 1605 (72%).

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3), 1,3 (s, 6H), 1,7-1,9 (m, 2H), 3,05 – 2,30 (m, 2H), 3,6-4,1 (m, 11H), 4,80-4,95 (m, 1H), 6,4 (s, 2H), 7,4-7,6 (m, 3H), 8,3-8,4 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 10 (s, 1H), MS(ES): 424,0 ($\text{M}^+ + 1$).

Následující sloučeniny mohou být syntetizovány stejným způsobem.

Sloučenina 1600: (51%). MS (ES): 326,0 ($\text{M}+1$)-

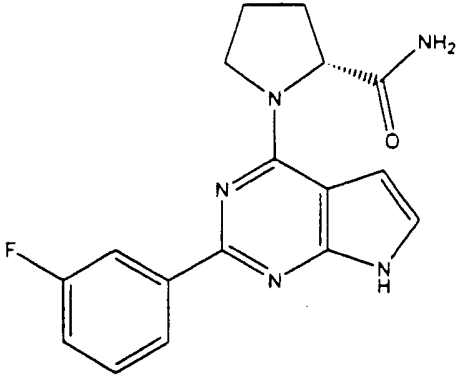
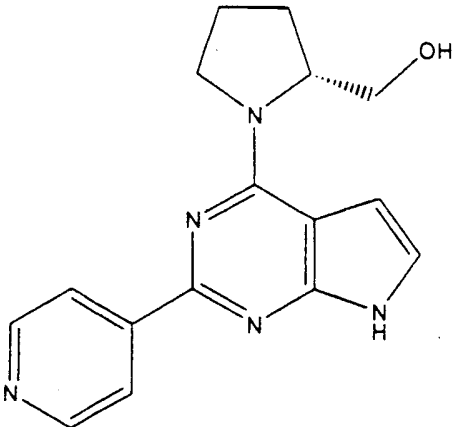
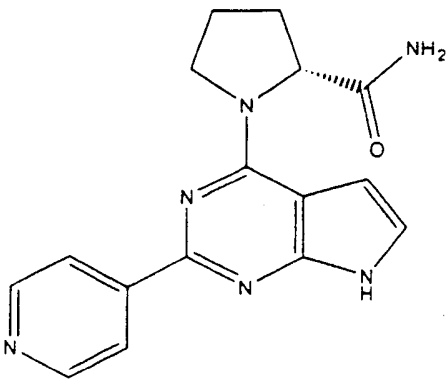
Sloučenina 1607: $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3), 1,40-1,80 (m, 5H), 2,80-3,50 (m, 3H), 4,60 - 4,80 (m, 3H), 6,66 (d, 1H, $J = 6,2$ Hz), 7,26 (m, 1H), 8,21 (d, 2H, $J = 6,3$ Hz), 8,65 (d, 2H, $J = 5,8$ Hz), 11,90 (s, 1H). MS (ES): 310,0 ($\text{M}+1$).

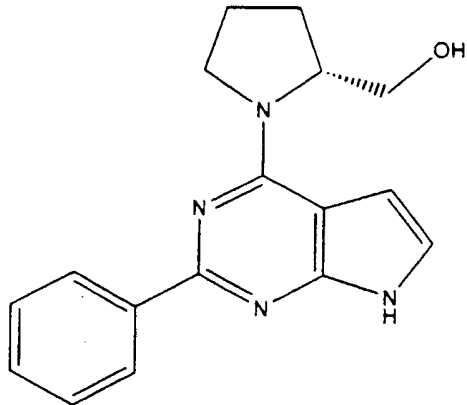
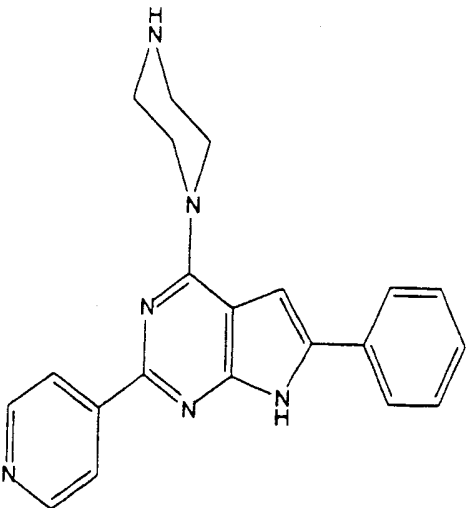
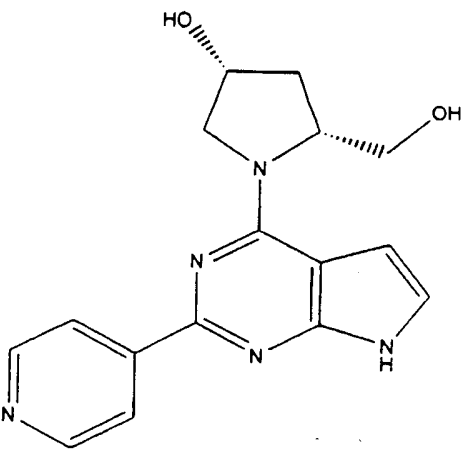
Sloučenina 1608: (64%) $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO), 1,75 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 3,56 (m, 6H), 7,23 - 7,41 (m, 5H), 8,00 (brs, 1H), 8,23 (d, 2H, $J = 6,0$ Hz), 8,63 (d, 2H, $J = 5,4$ Hz), 8,82 (brs, 1H), 11,56 (brs, 1H). MS (ES): 444,0 ($\text{M}+1$).

Sloučenina 1604: $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CD_3OD) 3,40 (m, 4H), 4,29 (m, 4H), 6,99 (s, 1H), 7,5 – 7,3 (m, 3H), 7,90 (d, 2H), 8,39 (d, 3H), 8,61 (d, 2H). MS (ES): 357,0 ($\text{M}^+ + 1$).

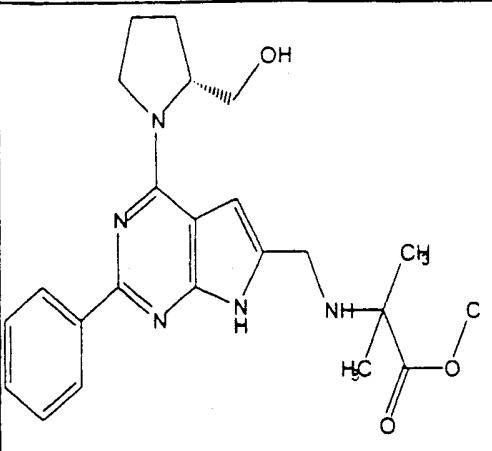
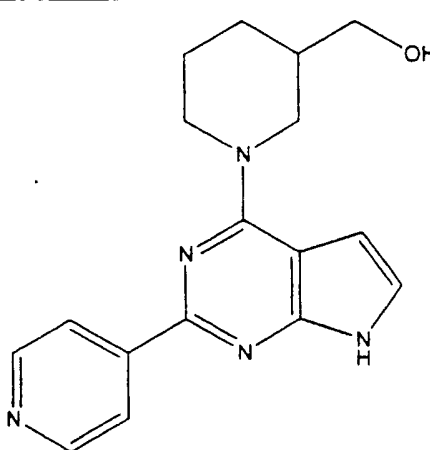
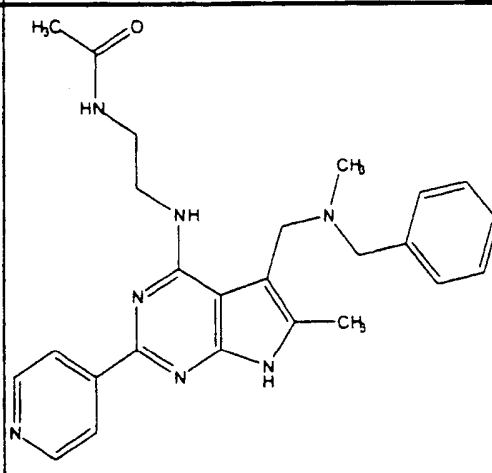
TABULKA 16. Adenosin A_{2a} receptor selektivní sloučeniny.

- alespoň pětinasobně více selektivní než ostatní tři subtypy.

Sloučenina	Struktura	Relativ. Ki-A1	Relativ. Ki-A2a	Relativ. Ki-A2b	Relativ. Ki-A3
1600			*		
1601			*		
1602			*		

1603			*		
1604			*		
1605			*		

10.02.04

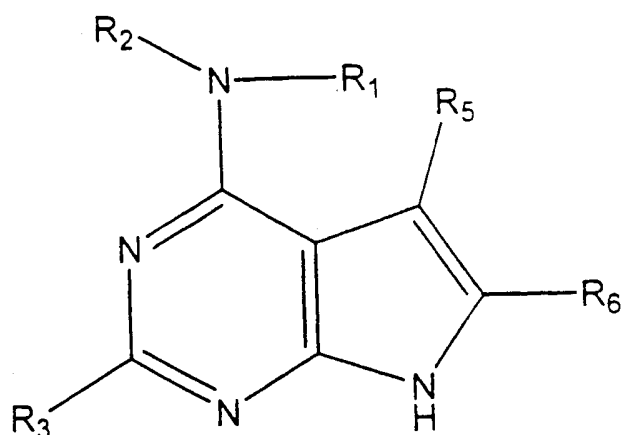
1606	 <chem>CO[C@H](NC(C)C)Cc1nc2c(ncn2C1=CN=C(C=C1)c3ccccc3)C4CCN(C4)CO</chem>		*		
1607	 <chem>OCN1CCN(C1)Cc2nc3c(ncn3C2=CN=C(C=C1)c4cccnc4</chem>		*		
1608	 <chem>CC(=O)NCCNC1=NC2=C(N1)C(=CN=C2C3=CC=CC=C3)C4=CC(=CN=C4)C(C)CN(C)CC5=CC=CC=C5</chem>		*		

Následující strany se týkají sloučenin specifických k A₃ receptoru

Podstata vynálezu

Předložený vynález je také založen na sloučeninách, které se selektivně vážou na adenosin A₃ receptor, a tím na léčení nemoci spojené s adenosin A₃ receptorem u subjektu, podáváním subjektu terapeuticky účinného množství takových sloučenin. Nemoci, které mají být léčeny, jsou spojeny například s astmatem, hypersenzitivitou, rinitidou, sennou rýmou, sérovou nemocí, alergickým zánětem cév, atopickou dermatitidou, dermatitidou, psoriasou, ekzémem, idiopatickou plicní fibrosou, eosinofilní chlorecystitidou, chronickým zánětem dýchacích cest, hypereosinofilními syndromy, eosinofilní gastroenteritidou, edémem, kopřivkou, eosinofilní chorobou myokardu, episodickým angioedemem s eosinofilií, zánětlivou střevní chorobou, vředovitou kolitidou, alergickou granulomatosou, karcinomatosou, eosinofilním granulomem, rodinnou histiocytosou, hypertensí, degranulací žírných buněk, tumorem, srdeční hypoxií, cerebrální eschemií, diurésou, selháním ledvin, neurologickou chorobou, mentální chorobou, kognitivní poruchou, ischemií myokardu, bronchokonstrikcí, artritidou, autoimunní chorobou, Crohnovou nemocí, Graveho nemocí, diabetem, sklerosou multiplex, anemií, psoriasou, poruchami plodnosti, erytematosním lupus, reperfusním poškozením, průměrem mozkové artérie, uvolněním alergických mediátorů, sklerodermií, mrtvicí, celkovou ischemií, poruchami centrální nervové soustavy, kardiovaskulárními chorobami, chorobou ledvin, zánětlivým onemocněním, gastrointestinálním onemocněním, oční chorobou, alergickou nemocí, onemocněním dýchacích cest, nebo imunologickou poruchou.

Tento vynález se také týká sloučeniny mající strukturu:



Kde R_1 a R_2 je cyklopropyl methylamino karbonylethyl, cis-3-hydroxy-cyklopentyl, acetamidobutyl, methylamino karbonylamino butyl, ethylamino karbonylamino propyl, methylamino karbonylamino propyl, 2-acetyl amino-3-butyl, N,N-diethylamino karbonylamino ethyl, thioacetamido ethyl, 3-amino acetyloxy cyklopentyl, 3-hydroxy cyklopentyl, 2-pyrrolyl karbonyl aminoethyl, 2-imidazolidinon ethyl, 1-aminokarbonyl-2-methyl propyl, 1-aminokarbonyl-2-fenylethyl, 3-hydroxy azetidino, 2-imidazolyl ethyl, acetamid ethyl, 1-(R)-fenyl-2-hydroxyethyl, N-methylaminokarbonyl pyridyl-2-methyl,

nebo R_1 , R_2 a dusík dohromady tvoří 3-acetamido piperadino, 3-hydroxypyrrolidino, 3-methyloxy karbonylmethyl pyrrolidino, 3-amino-karbonylmethyl pyrrolidino nebo 3-hydroxymethyl piperadino.

kde R_3 je substituovaný nebo nesubstituovaný čtyř až šesti členný kruh, pyrrol, thiofen, furan, thiazol, imidazol, pyrazol, 1,2,4-triazol, pyridin, 2(1H)-pyridon, 4(1H)-pyridon, pyrazin, pyrimidin, pyridazin, isothiazol, isoxazol, oxazol, tetrazol, naftalen, tetralin, naftyridin, benzofuran, benzothiofen, indol, 2,3-dihydroindol, 1H-indol, indolin, benzopyrazol, 1,3-benzodioxol, benzoxazol, purin, kumarin, chromon, chinolin, tetrahydrochinolin, isochinolin, benzimidazol, chinazolin, pyrido[2,3-b]-pyrazin, pyrido[3,4-b]pyrazin, pyrido[3,2-c]pyridazin, purido[3,4-b]-pyridin, 1H-pyrazol[3,4-d]pyrimidin, pteridin, 2(1H)-chinolon, 1(2H)-isochinolon, 1,4-benzisoxazin, benzothiazol, chinoxalin, chinolin-N-oxid, isochinolin-N-oxid, chinoxalin-N-oxid, chinazolin-N-oxid, benzoxazin, ftalazin nebo cinolin;

kde R_5 je H, alkyl, substituovaný alkyl nebo cykloalkyl;

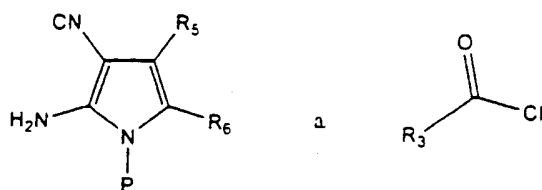
kde R_6 je H, alkyl, substituovaný alkyl, aryl nebo substituovaný aryl.

Tento vynález dále poskytuje způsob inhibice aktivity A_3 adenosin receptoru v buňkách, který zahrnuje uvedení do kontaktu zmíněných buněk s výše zmíněnými sloučeninami.

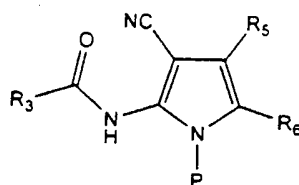
Typická schémata syntéz pro přípravu meziproduktů deazapurinu podle vynálezu jsou uvedena dále ve schématu I.

Tento vynález také poskytuje způsob přípravy sloučeniny IV, zahrnující kroky:

a) reakci

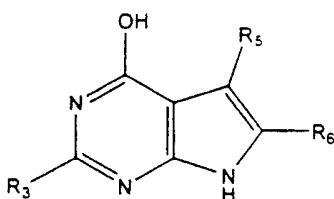


za získání

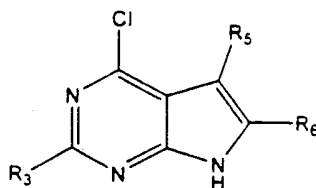


kde P je odstranitelná chránicí skupina;

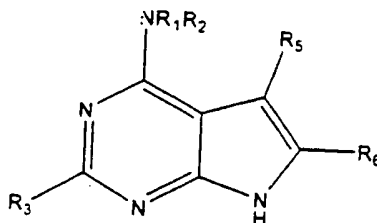
b) zpracování produktu z kroku a) za podmínek cyklizace za získání



c) zpracování produktu z kroku b) za vhodných podmínek za získání



d) zpracování chlorovaného produktu z kroku c) s NH_2R_1 za získání



kde R_1 je H a R_2 je cyklopropyl methylamino karbonylethyl, cis-3-hydroxy-cyklopentyl, acetamidobutyl, methylamino karbonylamino butyl, ethylamino karbonylamino propyl, methylamino karbonylamino propyl, 2-acetyl amino-3-butyl, N,N-diethylamino karbonylamino ethyl, thioacetamido ethyl, 3-amino acetyloxy cyklopentyl, 3-hydroxy cyklopentyl, 2-pyrrolyl karbonyl aminoethyl, 2-imidazolidinon ethyl, 1-aminokarbonyl-2-methyl propyl, 1-aminokarbonyl-2-fenylethyl, 3-hydroxy azetidino, 2-imidazolyl ethyl, acetamid ethyl, 1-(R)-fenyl-2-hydroxyethyl, N-methyl-aminokarbonyl pyridyl-2-methyl,

nebo R_1 , R_2 a dusík dohromady tvoří 3-acetamido piperadino, 3-hydroxypyrrolidino, 3-methyloxy karbonylmethyl pyrrolidino, 3-amino-karbonylmethyl pyrrolidino nebo 3-hydroxymethyl piperadino.

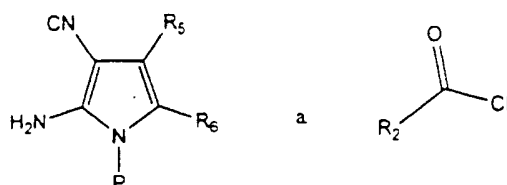
kde R_3 je substituovaný nebo nesubstituovaný čtyř až šesti členný kruh;

kde R_5 je H, alkyl, substituovaný alkyl nebo cykloalkyl;

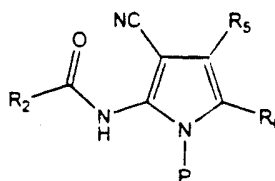
kde R_6 je H, alkyl, substituovaný alkyl, aryl nebo substituovaný aryl.

Tento vynález také poskytuje způsob přípravy sloučeniny V, zahrnující kroky:

a) reakci

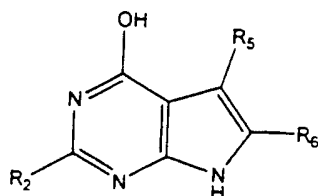


za získání

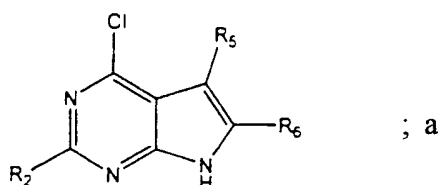


kde P je odstranitelná chránící skupina;

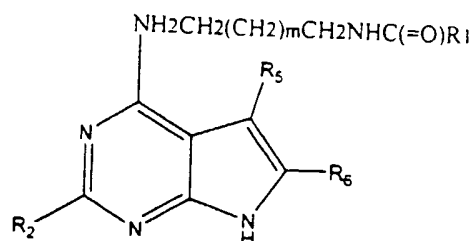
b) zpracování produktu z kroku a) za podmínek cyklizace za získání



c) zpracování produktu z kroku b) za vhodných podmínek za získání



d) zpracování chlorovaného produktu z kroku c) s
 $\text{NH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_m\text{CH}_2\text{NHC}(=\text{O})\text{R}_1$ za získání



kde m je 0, 1, nebo 2;

kde R_1 je cyklopropyl, methyl, methylamino nebo aminomethyl;

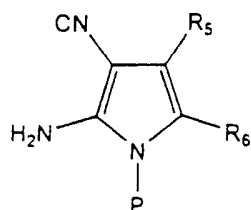
kde R_2 je aryl, substituovaný aryl, heteroaryl;

kde R_5 je H, alkyl, substituovaný alkyl nebo cykloalkyl;

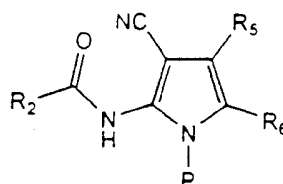
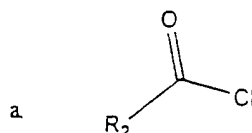
kde R_6 je H, alkyl, substituovaný alkyl, aryl, arylalkyl, amino, substituovaný aryl, přičemž uvedeným substituovaným alkylem je $-\text{C}(\text{R}_9)(\text{R}_{10})\text{NR}_7\text{R}_8$, kde R_9 a R_{10} jsou každý nezávisle H nebo alkyl, přičemž R_7 a R_8 jsou každý nezávisle alkyl nebo cykloalkyl, nebo R_7 , R_8 a dusík dohromady tvoří kruhový systém s počtem mezi 4 a 7 členy.

Tento vynález také poskytuje způsob přípravy sloučeniny VI,
 zahrnující kroky:

a) reakci

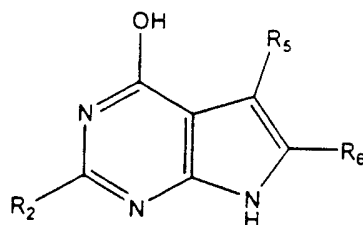


za získání

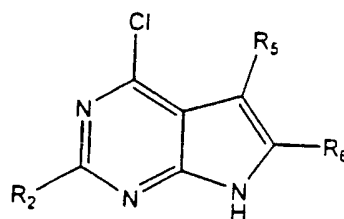


kde P je odstranitelná chránicí skupina;

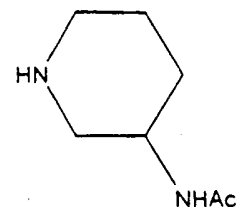
b) zpracování produktu z kroku a) za podmínek cyklizace za získání



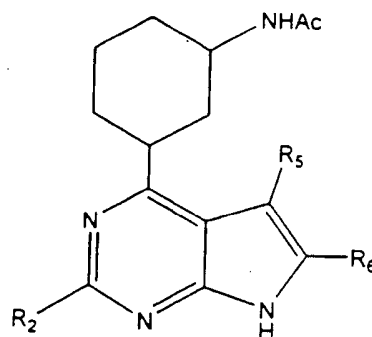
c) zpracování produktu z kroku b) za vhodných podmínek za získání



d) zpracování chlorovaného produktu z kroku c) s



za získání

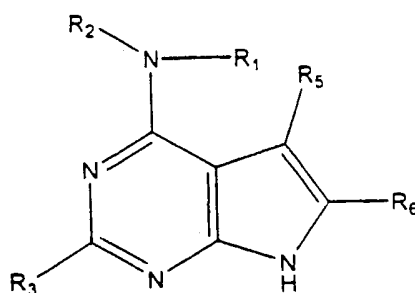


kde R₂ je nesubstituovaný aryl;

kde R₅ je H, alkyl, substituovaný alkyl nebo cykloalkyl;

kde R_6 je H, alkyl, substituovaný alkyl, aryl arylalkyl, amino, substituovaný aryl, přičemž uvedeným substituovaným alkylem je $-C(R_9)(R_{10})NR_7R_8$, kde R_9 a R_{10} jsou každý nezávisle H nebo alkyl, přičemž R_7 a R_8 jsou každý nezávisle alkyl nebo cykloalkyl, nebo R_7 , R_8 a dusík dohromady tvoří kruhový systém s počtem mezi 4 a 7 členy.

Tento vynález také poskytuje sloučeninu mající vzorec IV:



IV

kde R_1 je H a R_2 je cyklopropyl methylamino karbonylethyl, cis-3-hydroxy-cyklopentyl, acetamidobutyl, methylamino karbonylamino butyl, ethylamino karbonylamino propyl, methylamino karbonylamino propyl, 2-acetyl amino-3-methyl butyl, N,N-diethylamino karbonylamino ethyl, thioacetamido ethyl, 3-amino acetyloxy cyklopentyl, 3-hydroxy cyklopentyl, 2-pyrrolyl karbonyl aminoethyl, 2-imidazolidinon ethyl, 1-aminokarbonyl-2-methyl propyl, 1-aminokarbonyl-2-fenylethyl, 3-hydroxy azetidino, 2-imidazolyl ethyl, acetamid ethyl, 1-(R)-fenyl-2-hydroxyethyl, N-methylaminokarbonyl pyridyl-2-methyl,

nebo R_1 , R_2 a dusík dohromady tvoří 3-acetamido piperadino, 3-hydroxypyrrolidino, 3-methyloxy karbonylmethyl pyrrolidino, 3-amino-karbonylmethyl pyrrolidino nebo 3-hydroxymethyl piperadino.

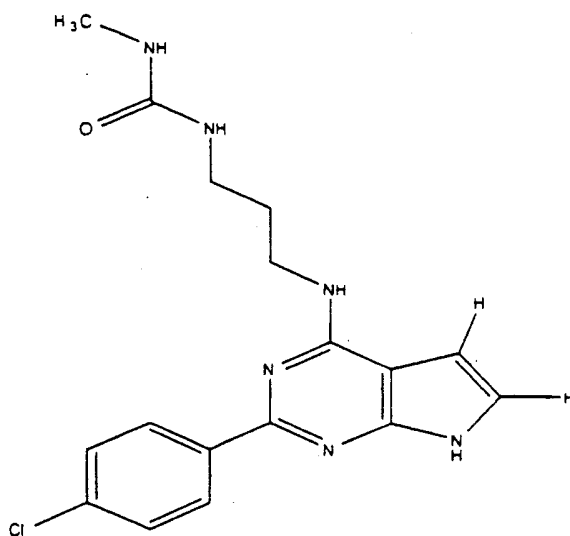
kde R_3 je substituovaný nebo nesubstituovaný benzen, pyrrol, thiofen, furan, thiazol, imidazol, pyrazol, 1,2,4-triazol, pyridin, 2(1H)-pyridon, 4(1H)-pyridon, pyrazin, pyrimidin, pyridazin, isothiazol, isoxazol, oxazol, tetrazol, naftalen, tetralin, naftyridin, benzofuran, benzothiofen, indol, 2,3-dihydroindol, 1H-indol, indolin, benzopyrazol, 1,3-benzodioxol,

benzoxazol, purin, kumarin, chromon, chinolin, tetrahydrochinolin, isochinolin, benzimidazol, chinazolin, pyrido[2,3-b]-pyrazin, pyrido[3,4-b]pyrazin, pyrido[3,2-c]pyridazin, purido[3,4-b]-pyridin, 1H-pyrazol[3,4-d]pyrimidin, pteridin, 2(1H)-chinolon, 1(2H)-isochinolon, 1,4-benzisoxazin, benzothiazol, chinoxalin, chinolin-N-oxid, isochinolin-N-oxid, chinoxalin-N-oxid, chinazolin-N-oxid, benzoxazin, ftalazin nebo cinolin;

kde R₅ je H, alkyl, substituovaný alkyl nebo cykloalkyl;

kde R₆ je H, alkyl, substituovaný alkyl, aryl nebo substituovaný aryl.

V jiném provedení má sloučenina strukturu:

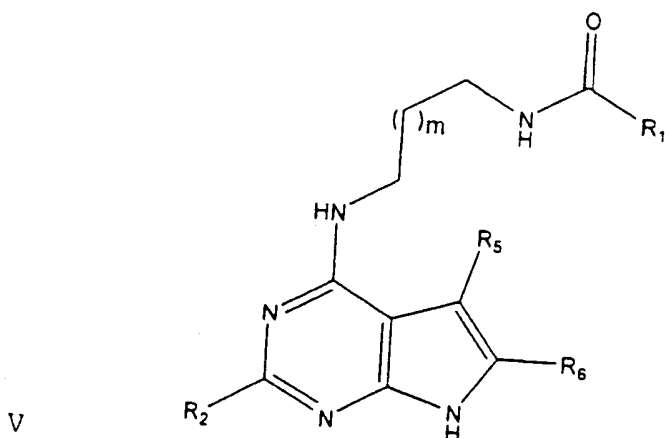


V dalším provedení sloučeniny R₃ je fenyl.

V dalším provedení sloučeniny R₅ je vodík nebo methyl.

V dalším provedení sloučeniny R₆ je vodík, methyl, fenyl, 3-chlor-fenyloxy methyl nebo trans-2-fenylamino methyl pyrrolidino methyl.

Tento vynález dále poskytuje sloučeninu mající strukturu V:



kde m je 0, 1, nebo 2;

kde R_1 je cyklopropyl methyl, methyl, methylamino nebo aminomethyl;

kde R_2 je aryl, substituovaný aryl, heteroaryl;

kde R_5 je H, alkyl, substituovaný alkyl nebo cykloalkyl;

kde R_6 je H, alkyl, substituovaný alkyl, aryl, arylalkyl, amino, substituovaný aryl, přičemž uvedeným substituovaným alkylem je $-C(R_9)(R_{10})NR_7R_8$, kde R_9 a R_{10} jsou každý H nebo alkyl, přičemž R_7 a R_8 jsou každý alkyl nebo cykloalkyl, nebo R_7 , R_8 a dusík dohromady tvoří kruhový systém s počtem mezi 4 a 7 členy.

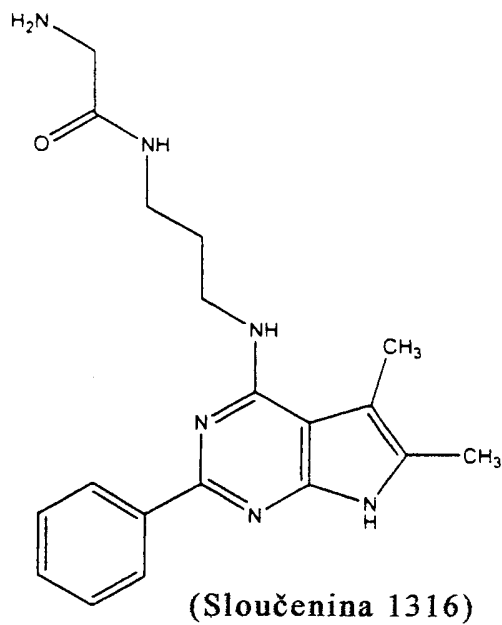
V jednom provedení sloučeniny V, m je 0 a R_2 je fenyl.

V jiném provedení sloučeniny V, m je 1 a R_2 je fenyl.

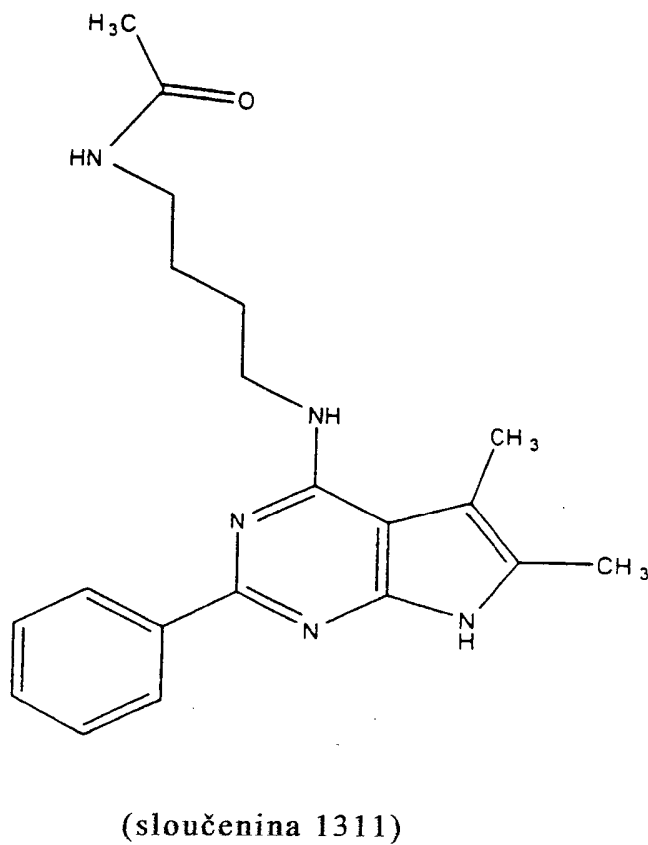
V jiném provedení sloučeniny V, m je 2 a R_2 je fenyl.

V jiném provedení sloučeniny V, R_5 a R_6 jsou methyl.

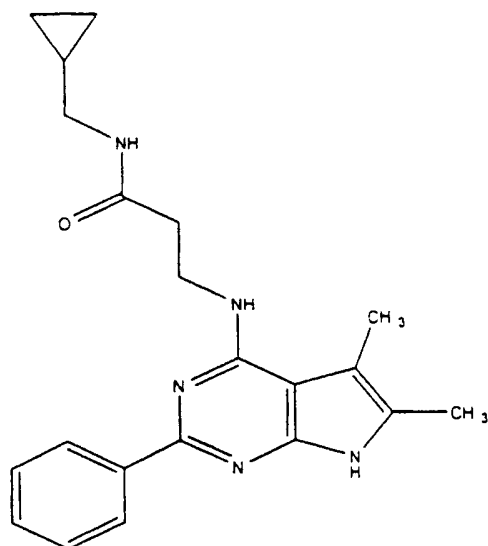
V jiném provedení sloučeniny V, má sloučenina strukturu:



V jiném provedení sloučeniny V, má sloučenina strukturu:

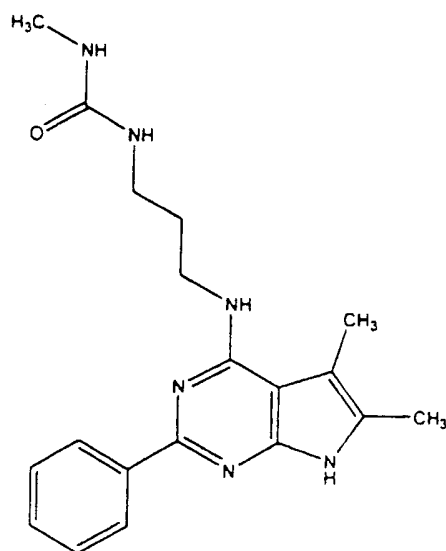


V jiném provedení sloučeniny V, má sloučenina strukturu:



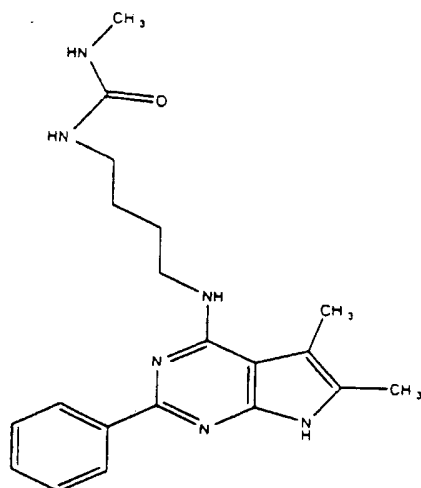
(sloučenina 1202)

V jiném provedení sloučeniny V, má sloučenina strukturu:



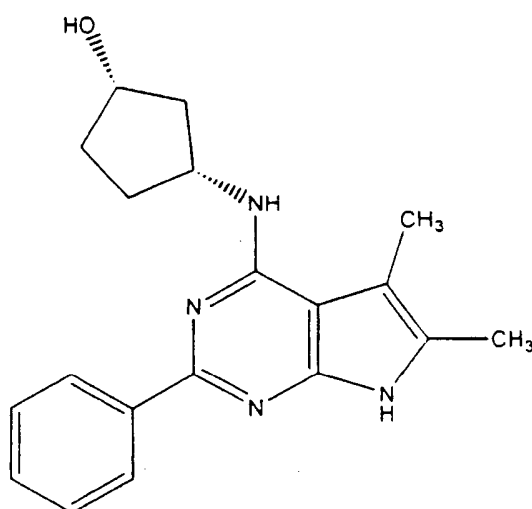
(sloučenina 1310)

V jiném provedení sloučeniny V, má sloučenina strukturu:



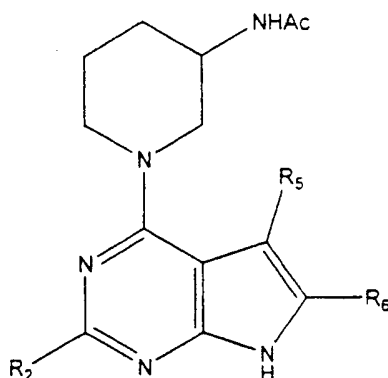
(sloučenina 1312)

V jiném provedení sloučeniny V, má sloučenina strukturu:



(sloučenina 609)

Tento vynález také poskytuje sloučeninu mající strukturu VI:



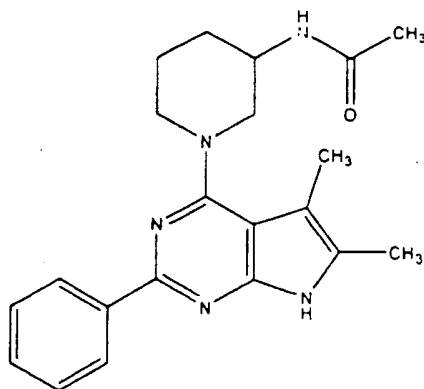
VI

kde R_3 je nesubstituovaný aryl;

kde R_5 je H, alkyl, substituovaný alkyl, nebo cykloalkyl;

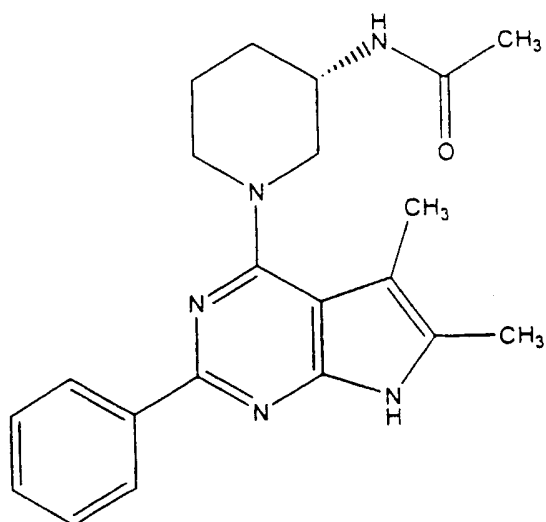
kde R_6 je H, alkyl, substituovaný alkyl, aryl, arylalkyl, amino, substituovaný aryl, přičemž uvedeným substituovaným alkylem je $-C(R_9)(R_{10})NR_7R_8$, kde R_9 a R_{10} jsou každý H nebo alkyl, přičemž R_7 a R_8 jsou každý alkyl nebo cykloalkyl, nebo R_7 , R_8 a dusík dohromady tvoří kruhový systém s počtem mezi 4 a 7 členy.

V jiném provedení sloučeniny VI, má sloučenina strukturu:

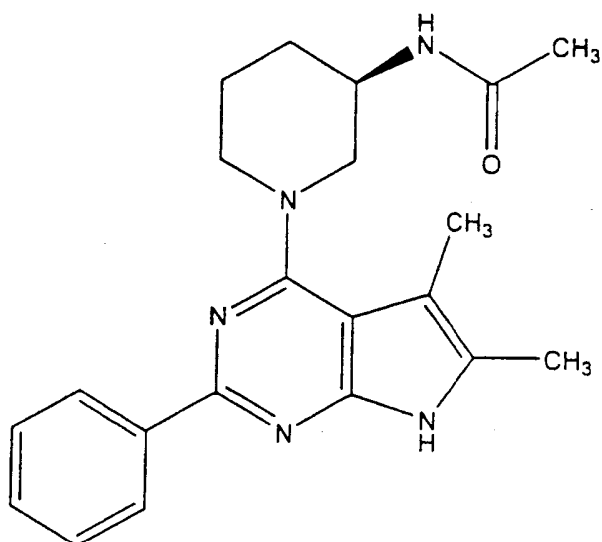


(sloučenina 1309)

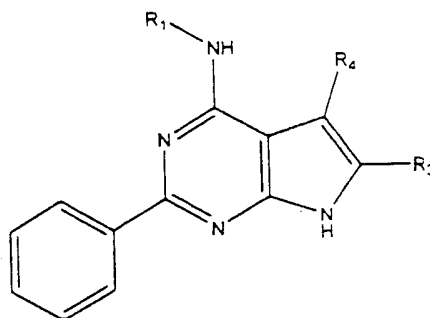
V jiném provedení sloučeniny 1309, má sloučenina strukturu:



V jiném provedení sloučeniny 1309, má sloučenina strukturu:



Tento vynález také poskytuje sloučeninu mající strukturu VII:

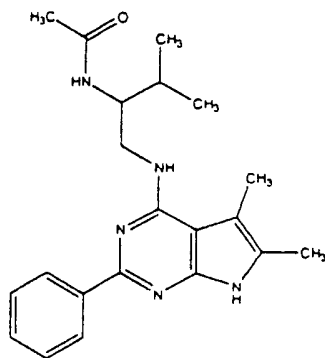


VII

Kde R_1 je 3-hydroxy cyklopentyl, ethylamino karbonylamino propyl, N,N-diethylamino karbonylamino ethyl, thioacetamido ethyl, 3-amino acetyloxy cyklopentyl, 3-hydroxy cyklopentyl, 2-pyrrolyl karbonyl aminoethyl, 2-imidazolidinon ethyl, 1-aminokarbonyl-2-methyl propyl, 1-aminokarbonyl-2-fenylethyl, 3-hydroxy azetidino, 2-imidazolyl ethyl, acetamid ethyl, 1-(R)-fenyl-2-hydroxyethyl nebo N-methyl-aminokarbonyl pyridyl-2-methyl;

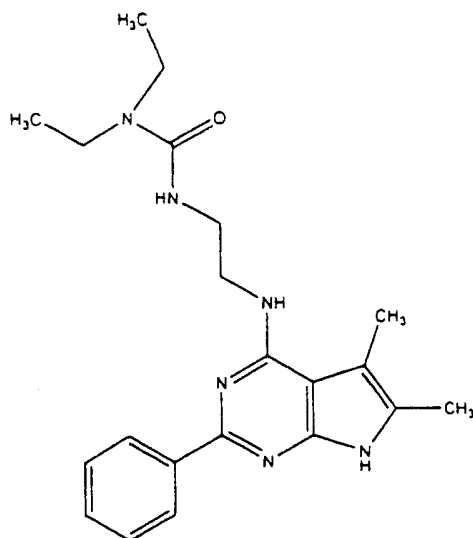
Kde R_3 a R_4 jsou nezávisle H, substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, nebo aryl.

V jednom provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



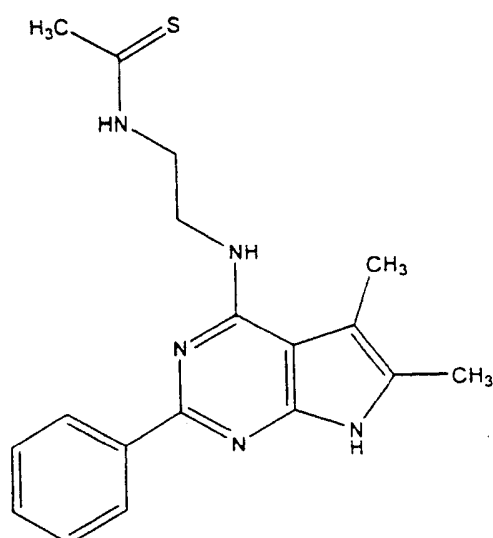
(sloučenina 1700)

V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:



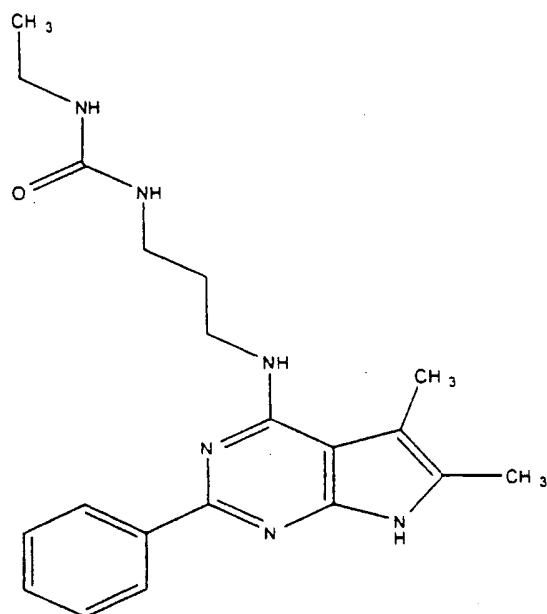
(sloučenina 1701)

V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:



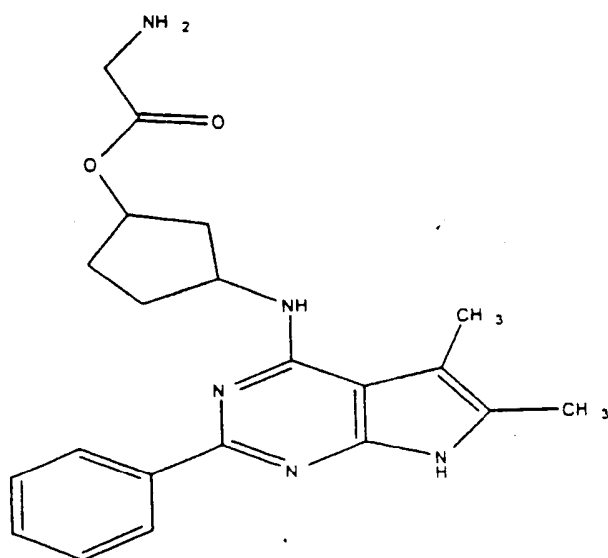
(sloučenina 1702)

V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:



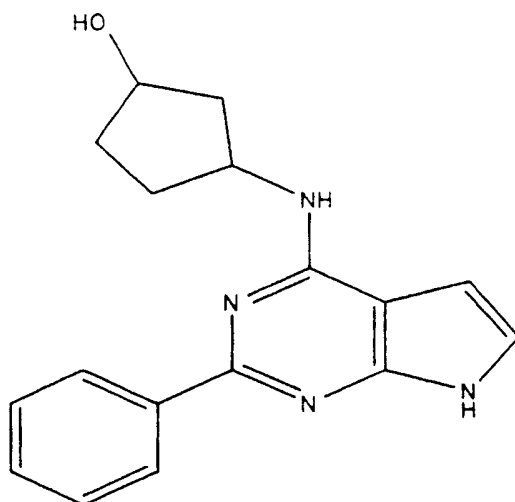
(sloučenina 1704)

V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:



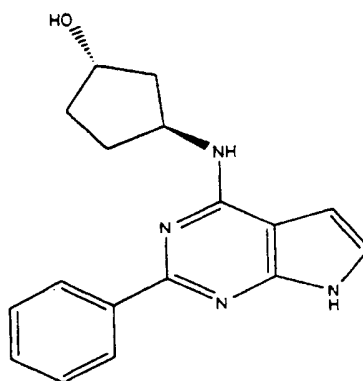
(sloučenina 1705)

V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:

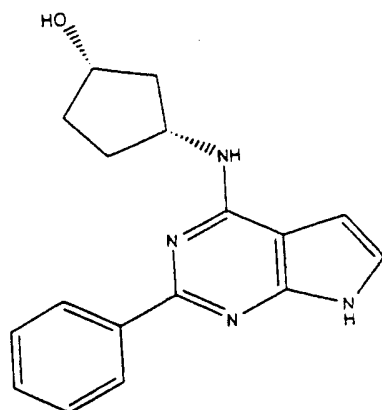


(sloučenina 1706)

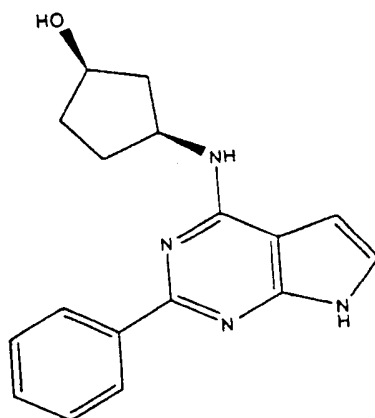
V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:



V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:

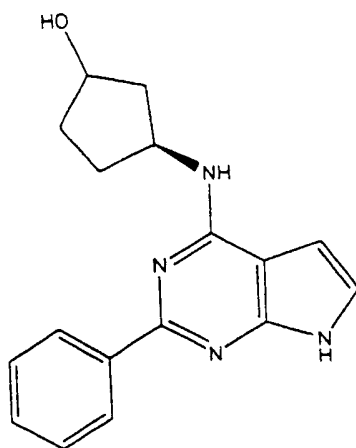


V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:

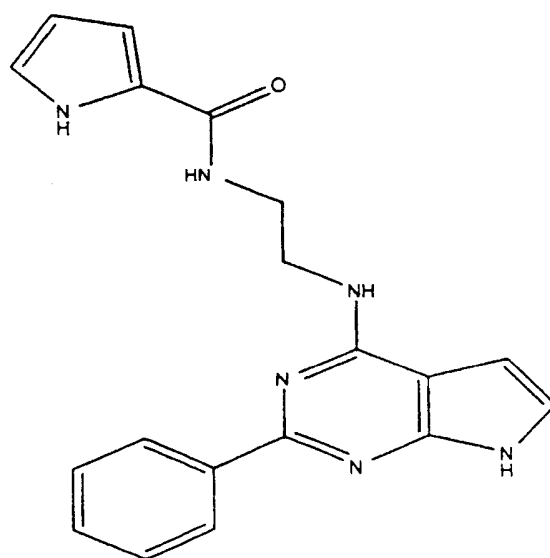


(sloučenina 1701)

V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:

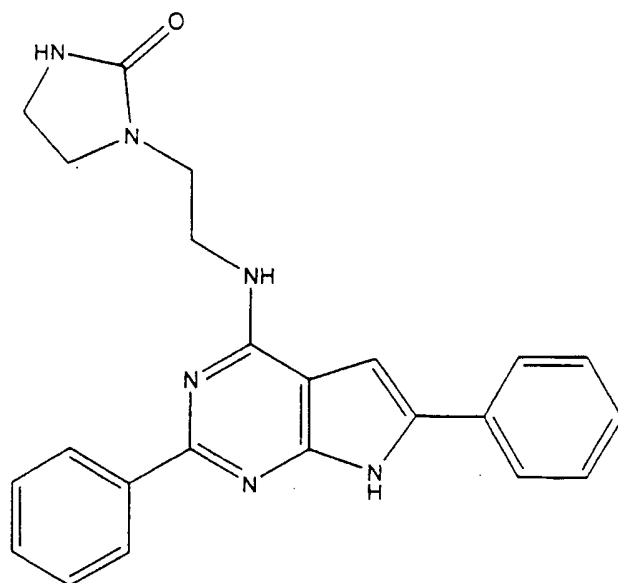


V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:



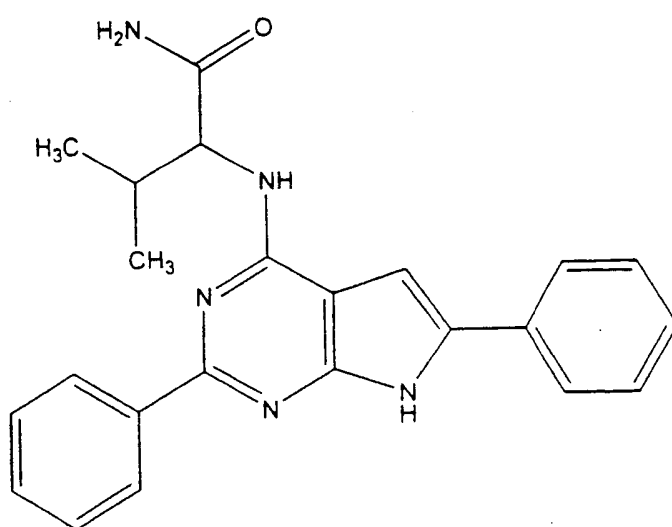
(sloučenina 1707)

V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:



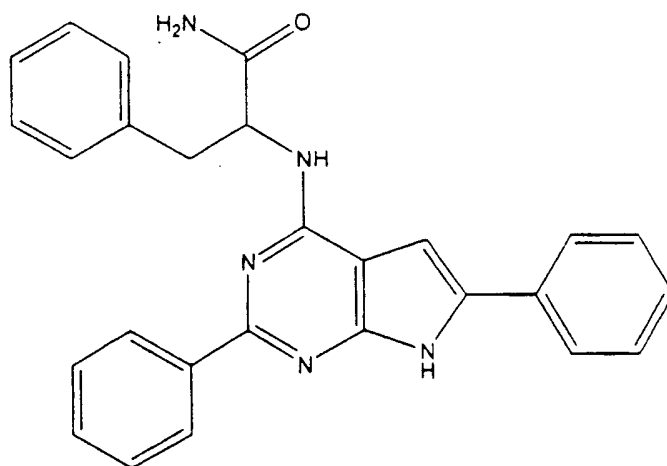
(sloučenina 1708)

V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:



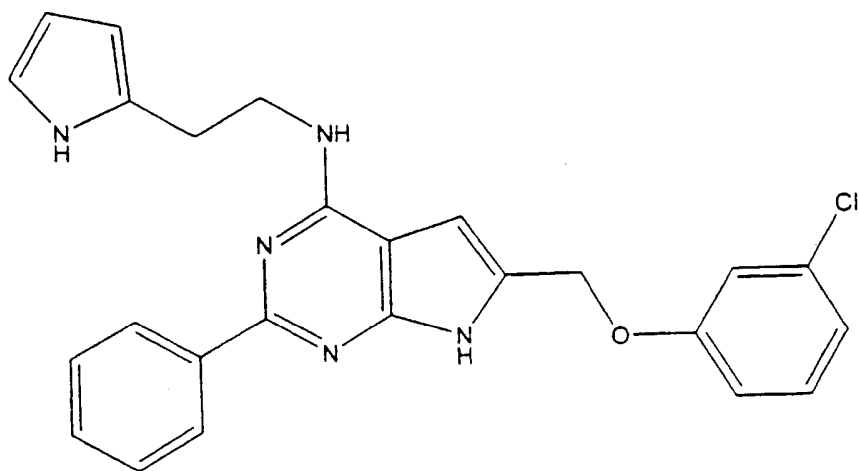
(sloučenina 1709)

V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:



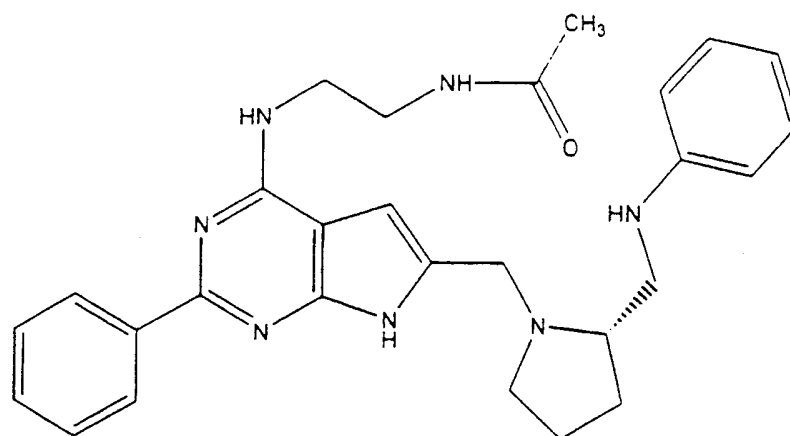
(sloučenina 1710)

V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:



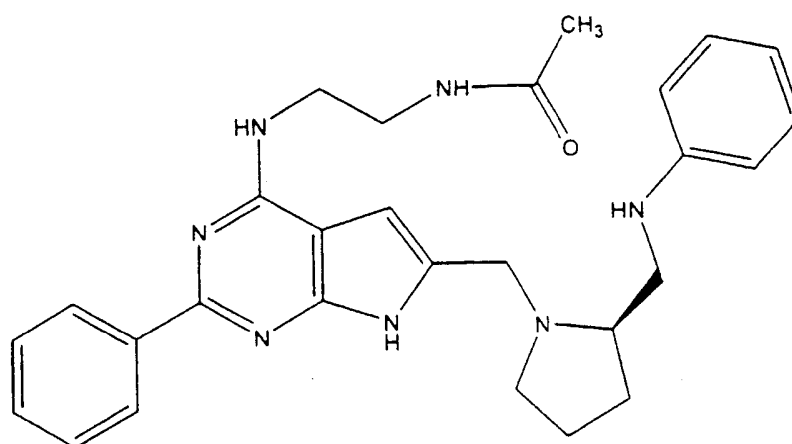
(sloučenina 1712)

V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:

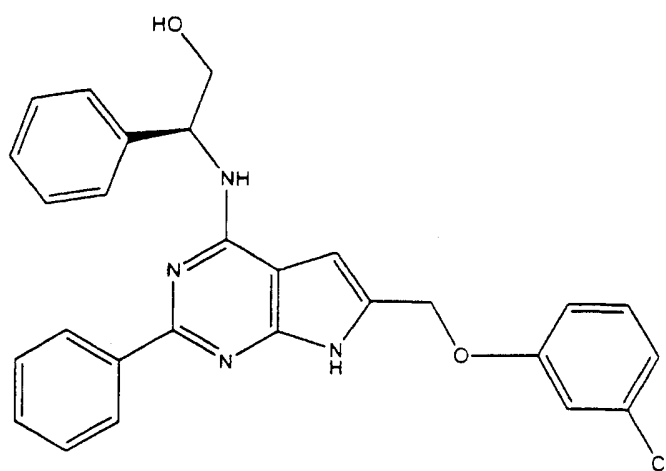


(sloučenina 1713)

V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:

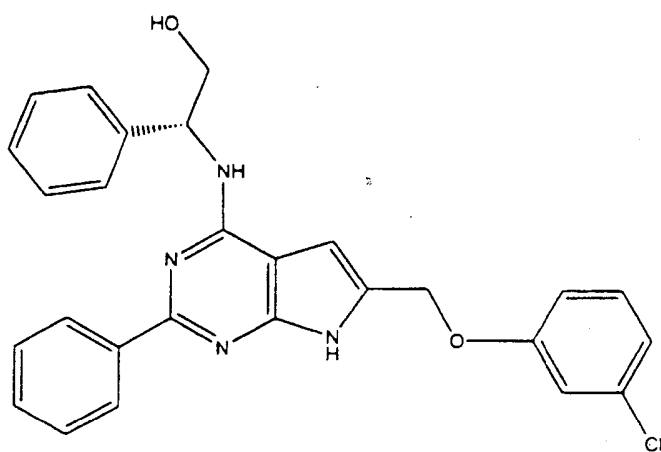


V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:

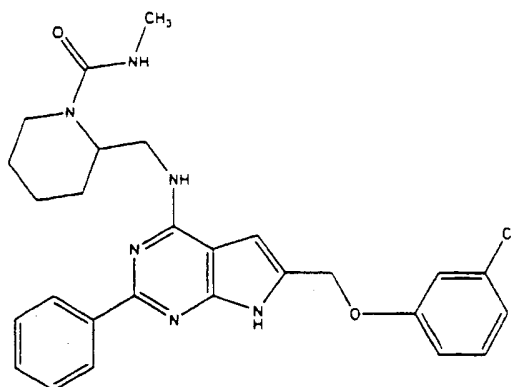


(sloučenina 1714)

V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:

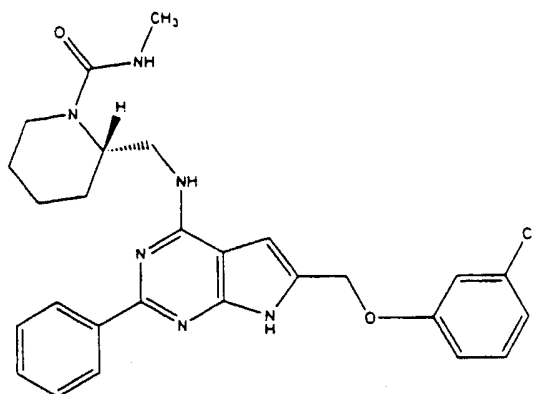


V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:

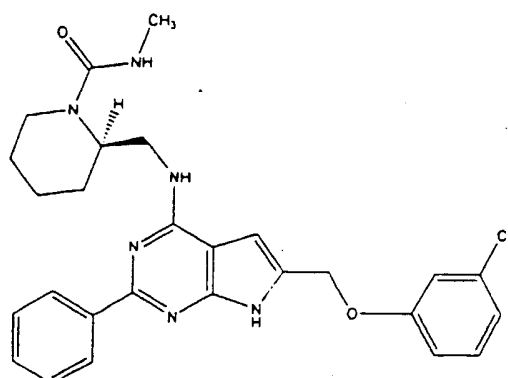


(sloučenina 1715)

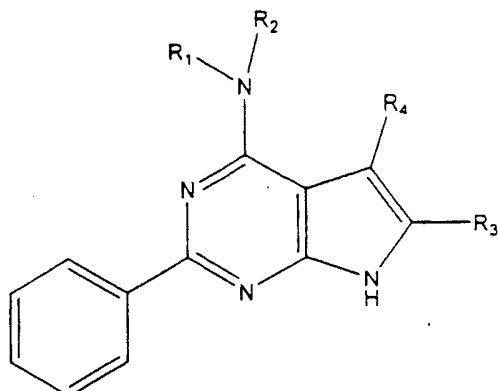
V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:



V jiném provedení sloučenina má sloučenina strukturu:



Tento vynález rovněž poskytuje sloučeninu mající strukturu VIII:

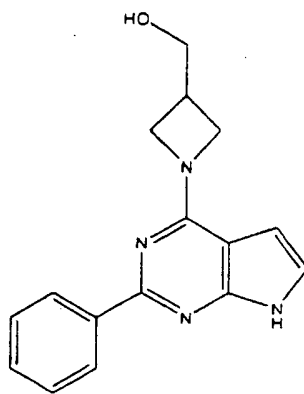


VIII

Kde R_1 , R_2 a dusík dohromady tvoří 3-hydroxypyrrolidino, 3-methyloxy karbonylmethyl pyrrolidino, 3-amino-karbonylmethyl pyrrolidino nebo 3-hydroxymethyl piperadino;

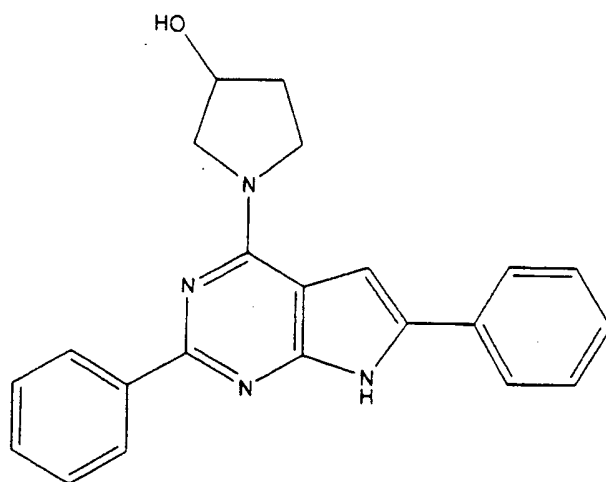
Kde R_3 a R_4 jsou nezávisle H, substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl, nebo aryl.

V jednom provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



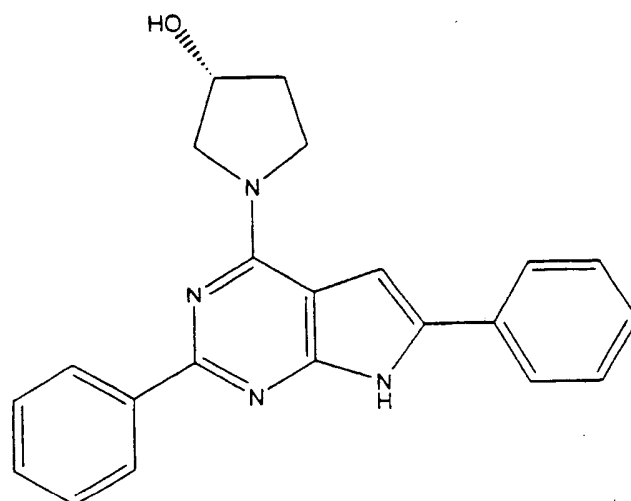
(sloučenina 1711)

V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:

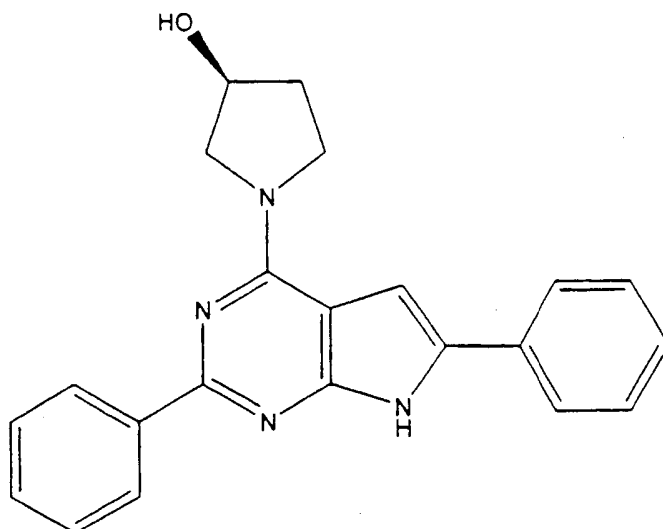


(sloučenina 1703)

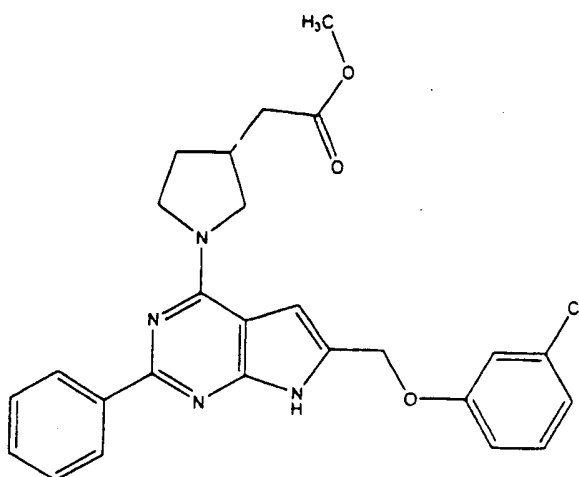
V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:

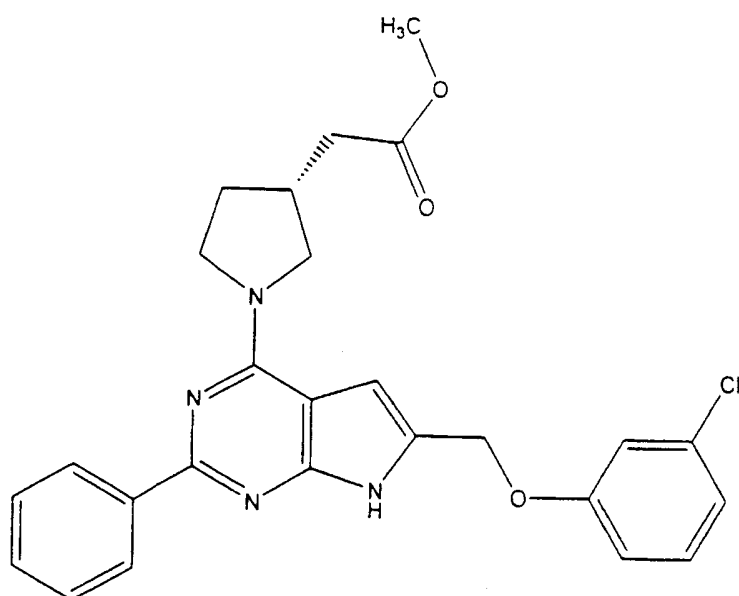


V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:

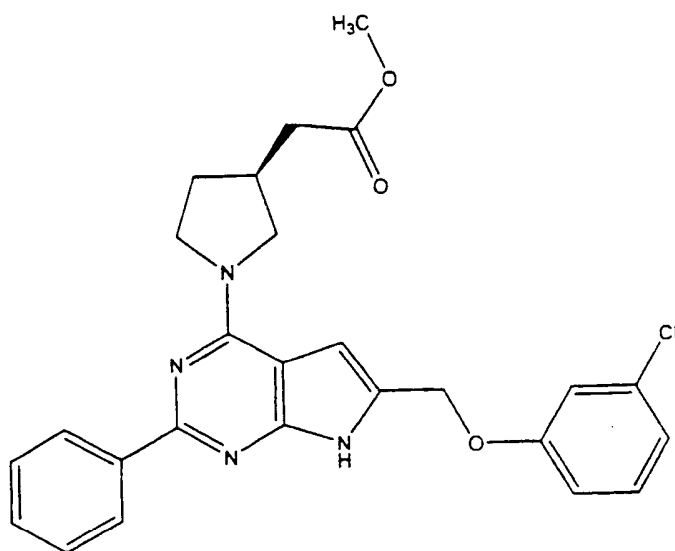


(sloučenina 1716)

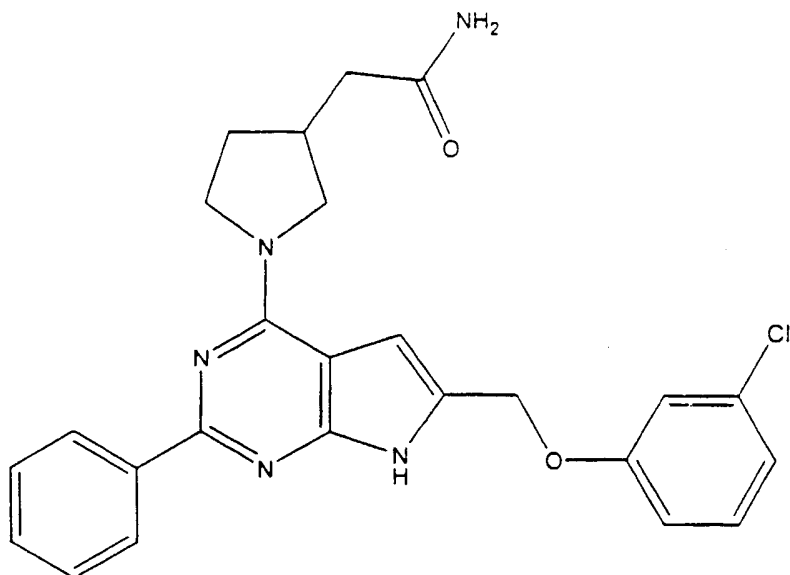
V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:

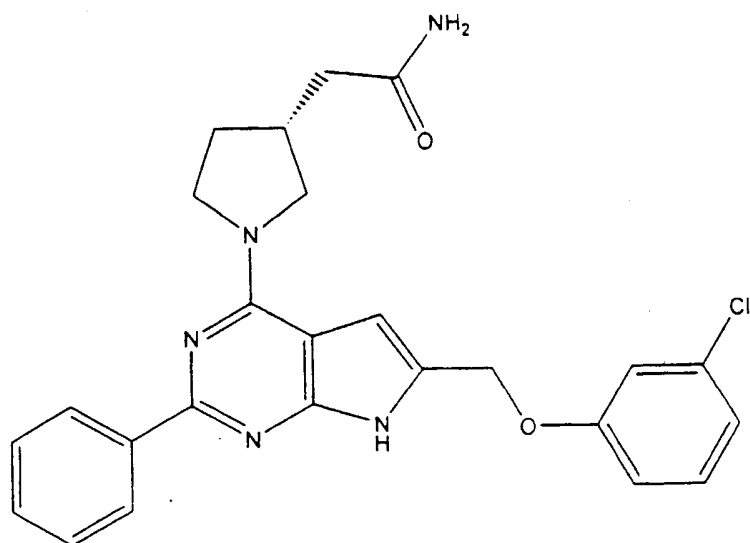


V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:

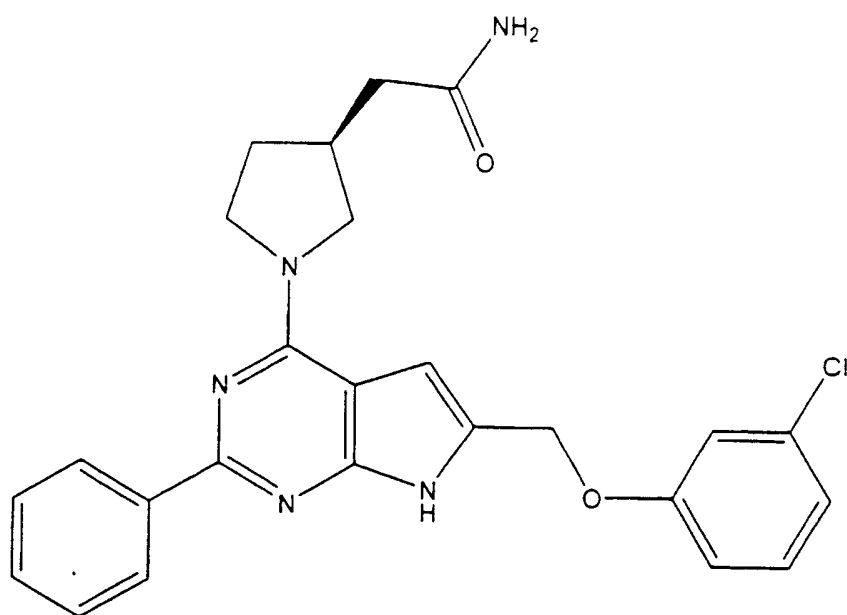


(sloučenina 1717)

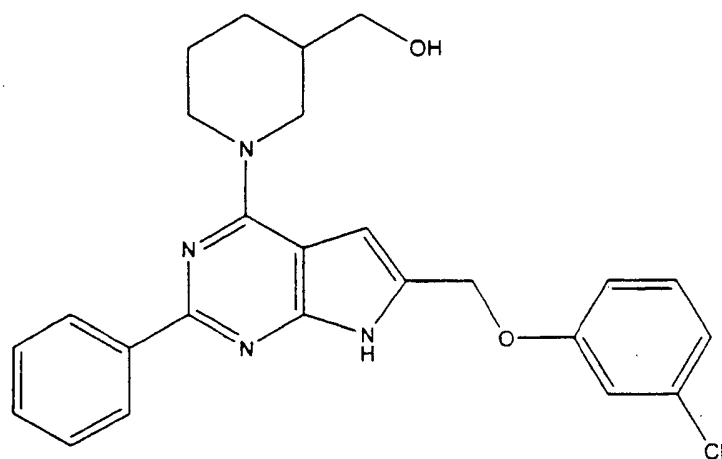
V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:

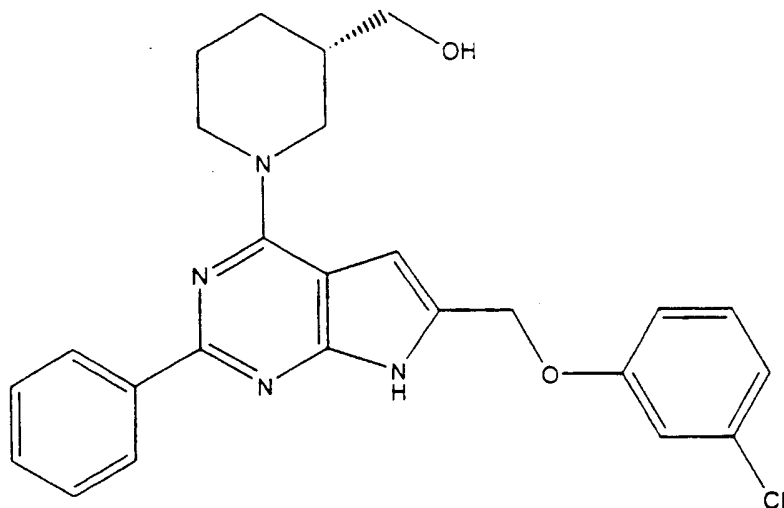


V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:

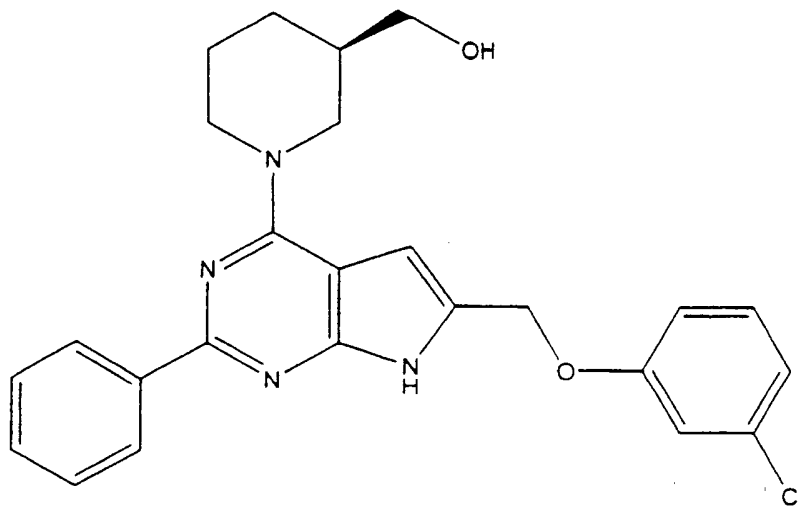


(sloučenina 1718)

V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



V jiném provedení sloučeniny má sloučenina strukturu:



Tento vynález také poskytuje u subjektu způsob léčení nemocí spojených s A_3 adenosin receptorem, zahrnující podávání subjektu terapeuticky účinného množství některé ze sloučenin majících vzorec IV, V, VII, VII nebo VIII.

V jednom provedení postupu je subjektem savec.

V jiném provedení postupu je savcem člověk.

V jiném provedení postupu je uvedený A₃ adenosin receptor spojen s poruchami centrální nervové soustavy, kardiovaskulárním onemocněním, astmatem, hypersenzitivitou, rinitidou, sennou rýmou, sérovou nemocí, alergickým zánětem cév, atopickou dermatitidou, dermatitidou, psoriasou, ekzémem, idiopatickou plicní fibrosou, eosinofilní chlorecystitidou, chronickým zánětem dýchacích cest, hypereosinofilními syndromy, eosinofilní gastroenteritidou, edémem, kopřivkou, eosinofilní chorobou myokardu, episodickým angioedemem s eosinofilií, zánětlivou střevní chorobou, vředovitou kolitidou, alergickou granulomatosou, karcinomatosou, eosinofilním granulomem, rodinnou histiocytosou, hypertensí, degranulací žírných buněk, tumorem, srdeční hypoxií, cerebrální eschemií, diurésou, selháním ledvin, neurologickou chorobou, mentální chorobou, kognitivní poruchou, ischemií myokardu, bronchokonstrikcí, artritidou, autoimunní chorobou, Crohnovou nemocí, Graveho nemocí, diabetem, sklerosou multiplex, anemií, psoriasou, poruchami plodnosti, erytematosním lupus, reperfusním poškozením, průměrem mozkové artérie, uvolněním alergických mediátorů, sklerodermií, mrtvicí, celkovou ischemií, poruchami centrální nervové soustavy, kardiovaskulárními chorobami, chorobou ledvin, zánětlivým onemocněním, gastrointestinálním onemocněním, oční chorobou, alergickou nemocí, onemocněním dýchacích cest, nebo imunologickými poruchami.

Nemoci spojené s adenosin A₁, A_{2a} A_{2b} a A₃ receptory jsou popsány ve WO 1999/006053 a WO-09822465, WO-09705138, WO-09511681, WO-09733879, JP-09291089, PCT/US1998/016053 a patentu US 5 516 894, jejichž celý obsah je zde zcela začleněn formou odkazu.

Tento vynález rovněž poskytuje ve vodě rozpustná proléčiva sloučenin majících struktury IV, V, VI, VII nebo VIII, kde uvedená ve

vodě rozpustná proléčiva jsou metabolizována *in vivo* za vzniku aktivního léčiva, které selektivně inhibuje A₃ adenosin receptor.

V jednom provedení proléčiva je uvedené proléčivo metabolizováno *in vivo* hydrolýzou, která je katalyzovaná esterásou.

Tento vynález také poskytuje farmaceutický prostředek zahrnující proléčivo a farmaceuticky přijatelný nosič.

Tento vynález dále poskytuje způsob inhibice aktivity A₃ adenosin receptoru v buňkách, který zahrnuje uvedení do kontaktu zmíněných buněk se sloučeninami majícími vzorec IV, V, VI, VII nebo VIII .

V jednom provedení postupu je sloučeninou antagonistu uvedeného A₃ adenosin receptoru.

V jiném provedení farmaceutického prostředku je uvedeným farmaceutickým prostředkem oftalmická formulace.

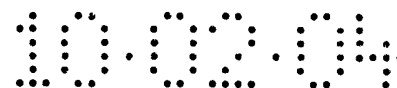
V dalším provedení farmaceutického prostředku je uvedený farmaceutický prostředek periokulární, retrobulbární nebo intraokulární injekční formulace.

V dalším provedení farmaceutického prostředku je uvedeným farmaceutickým prostředkem systémická formulace.

Tento vynález dále poskytuje u subjektu způsob léčení gastrointestinálních nemocí, zahrnující podávání subjektu terapeuticky účinného množství některé ze sloučenin vzorce IV, V, VI, VII nebo VIII.

V jednom provedení metody je uvedenou nemocí průjem.

V jiném provedení metody je subjektem člověk.



V dalším provedení metody je sloučeninou antagonistů A_3 adenosin receptorů.

Tento vynález také poskytuje u subjektu způsob léčení respiračních chorob, zahrnující podávání subjektu terapeuticky účinného množství některé ze sloučenin vzorce IV, V, VI, VII nebo VIII.

V jednom provedení metody je uvedenou nemocí astma, chronická obstrukční plicní nemoc, alergická rýma, nebo choroby horních dýchacích cest.

V jiném provedení metody je subjektem člověk.

V dalším provedení metody je uvedenou sloučeninou antagonistů A_3 adenosin receptorů.

Tento vynález dále poskytuje u subjektu způsob léčení zranění očí, zahrnující podávání subjektu terapeuticky účinného množství některé ze sloučenin vzorce IV, V, VI, VII nebo VIII.

V jednom provedení metody uvedené poranění zahrnuje poškození sítnice a optického nervu.

V jiném provedení metody je uvedené poškození akutní nebo chronické.

V jiném provedení metody je uvedené poškození důsledkem glaukomu, edemu, ischemie, hypoxie nebo traumatu.

V jiném provedení metody je subjektem člověk.

V dalším provedení metody je sloučeninou antagonistů A_1 adenosin receptorů.



Tento vynález také poskytuje farmaceutický prostředek obsahující terapeuticky účinné množství některé ze sloučenin vzorce IV, V, VI, VII nebo VIII a farmaceuticky přijatelný nosič.

V jednom provedení farmaceutického prostředku je uvedené terapeuticky účinné množství účinné pro léčení respiračních chorob nebo gastrointestinálních chorob.

V jiném provedení farmaceutického prostředku je uvedenou gastrointestinální chorobou průjem.

V jiném provedení farmaceutického prostředku je uvedenou respirační chorobou astma, alergická rýma nebo chronická obstrukční plicní choroba.

V jiném provedení farmaceutického prostředku je uvedeným farmaceutickým prostředkem oftalmická formulace.

V dalším provedení farmaceutického prostředku je uvedený farmaceutický prostředek periokulární, retrobulbární nebo intraokulární injekční formulace.

V dalším provedení farmaceutického prostředku je uvedeným farmaceutickým prostředkem systémická formulace.

V ještě dalším provedení farmaceutického prostředku je uvedeným farmaceutickým prostředkem chirurgický výplachový roztok.

Tento vynález také poskytuje balený farmaceutický prostředek pro léčení nemocí spojených s A_3 adenosin receptorem u subjektu, zahrnující: (a) kontejner nesoucí terapeuticky účinné množství některé ze sloučenin IV, V, VI, VII nebo VIII; a (b) instrukce pro použití uvedené sloučeniny při léčení uvedené nemoci u subjektu.

Sloučeniny reprezentované vzorcem IV, V, VI, VII nebo VIII mohou být syntetizovány podle schémat I-IX.

Jak se zde používá výraz „sloučenina je A_3 selektivní“ znamená, že sloučenina má vazebnou konstantu na adenosin receptor A_3 alespoň desetkrát vyšší než je k adenosinu A_1 , A_{2a} nebo A_{2b} .

Vynález je dále ilustrován následujícími příklady, které by neměly být v žádném případě omezující. Obsahy všech odkazů, souvisejících patentových přihlášek a zveřejněných patentových přihlášek, citovaných v této přihlášce, včetně těch, které jsou odkazovány v sekci „background“, jsou zahrnuty jako odkaz. Mělo by být zřejmé, že modely použité v příkladech jsou akceptované modely a že doložení účinků na těchto modelech je prognózou pro účinky na lidech.

Odborník znalý techniky bude vědět, že metabolismus sloučenin zde popsanych produkuje v subjektu některé biologicky aktivní metabolity, které mohou sloužit jako léčiva.

Tento vynález bude lépe pochopen z experimentálních detailů uvedených dále. Nicméně odborník v dané oblasti techniky snadno zhodnotí, že konkrétní diskutované postupy a výsledky jsou pouze ilustrativní pro vynález, jak je úplně popsán v nárocích, které následují.

Příklad 24: Experimentální příklady adenosin A_3 antagonisty

Sloučenina 1700 (Tabulka 17 dále): MS (ES): 366,1 (M+1).

Sloučenina 1710 (Tabulka 17 dále): MS (ES): 381,1 (M+1).

Sloučenina 1316 (Tabulka 17 dále): MS (ES): 353,2 (M+1).

Sloučenina 1703 (Tabulka 17 dále): MS (ES): 357,1 (M+1).

Sloučenina 1719 (Tabulka 17 dále):

^1H -NMR (200 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) 1,75 (m, 2H), 3,11 (m, 2H), 3,35 (s, 3H), 3,59 (m, 2H), 5,72 (m, 1H), 5,96 (m, 1H), 6,55 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 7,49 (m, 2H), 8,32 (m, 2H).

Sloučenina 1704 (Tabulka 17 dále): MS (ES): 367,0 (M+1).

Sloučenina 1706 (Tabulka 17 dále):

^1H -NMR (200 MHz, CDCl_3) d 1,22 (m, 2H), 1,60-2,40 (m, 4H), 4,53 (s, 3H), 4,94 (m, 1H), 5,70 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 6,35 (d, 1H, $J = 2,8$ Hz), 6,97 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 7,50 (m, 32H), 8,40 (m, 2H), 10,83 (brs, 1H).

Sloučenina 1707 (Tabulka 17 dále): MS (ES): 347,0 (M+1).

Sloučenina 1708 (Tabulka 17 dále): MS (ES): 399,0 (M+1).

Sloučenina 1709 (Tabulka 17 dále): MS (ES): 385,9 (M+1).

Sloučenina 1710 (Tabulka 17 dále): MS (ES): 434,0 (M+1).

Sloučenina 1711 (Tabulka 17 dále):

^1H -NMR (200 MHz, CD_3OD), d 3,95 (d, 2H, $J = 5,8$ Hz), 4,23 – 4,31 (m, 2H), 4,53 (t, 2H, $J = 8,8$ Hz), 6,30 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz), 6,98 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz), 7,45 – 7,48 (m, 3H), 7,83-8,42 (m, 2H), 9,70 (brs, 1H). MS (ES): 281,1 (M+1).

OSIC-148313:

^1H -NMR (200 MHz, CD_3OD) d 3,02 (m, 2H), 3,92 (m, 2H), 5,09 (2, 2H), 6,53 (s, 1H), 6,90-7,04 (br s, 1H), 6,92 (m, 2H), 7,02 (m, 1H), 7,21 (dd, 1H, $J = 8,2$ Hz), 7,40 (m, 3H), 7,50-7,80 (br s, 1H), 8,33 (m, 2H). MS (ES): 445,1 (M+1).

Sloučenina 1713 (tabulka 17 dále):

^1H -NMR (200 MHz, CDCl_3) d, 1,65-1,80 (m, 7H), 1,88-2,00 (m, 1H), 2,10 – 2,40 (m, 1H), 2,70-3,05 (m, 3H), 3,09-3,14 (m, 2H), 3,16-3,38 (m, 1H),

3,45 (d, 1H, $J = 14$ Hz), 3,53-3,60 (m, 2H), 3,84-3,92 (m, 2H), 3,97 (d, 1H, $J = 14$ Hz), 5,55 (t, 1H, $J = 5,8$ Hz), 6,17 (s, 1H), 6,55-6,59 (m, 2H), 6,64 – 6,71 (m, 1H), 7,11-7,19 (m, 2H), 7,43-7,46 (m, 3H), 8,38 – 8,42 (m, 2H), MS (ES): 484,0 ($M^{+}+1$)

Sloučenina 1714 (tabulka 17 dále): MS (ES): 471,0 ($M^{+}+1$).

Sloučenina 1715 (tabulka 17 dále): MS (ES): 505,0 ($M^{+}+1$)

Sloučenina 1716 (tabulka 17 dále):

^1H -NMR (200 MHz, CD_3OD) d 1,65 (m, 1H), 2,18 (m, 1H), 2,49 (br d, 2H, $J = 6,2$ Hz), 2,64 (m, 1H), 3,38 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,72 (m, 1H), 3,63 (m, 1H), 4,10 (m, 1H), 5,06 (2, 2H), 6,58 (s, 1H), 6,92 (m, 2H), 7,02 (m, 1H), 7,23 (dd, 1H, $J = 8,1$ Hz), 7,39 (m, 3H), 8,32 (m, 2H). MS (ES): 477,1 ($M^{+}+1$).

Sloučenina 1717 (tabulka 17 dále):

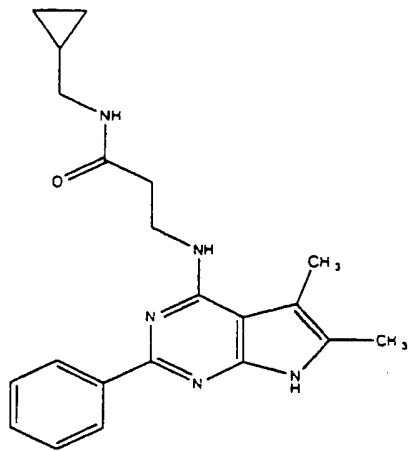
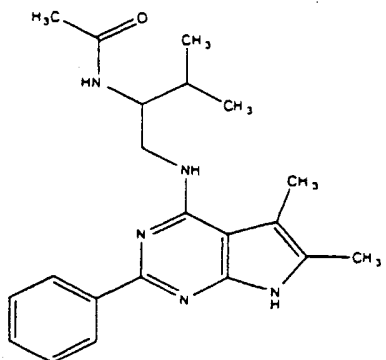
^1H -NMR (200 MHz, CD_3OD) d 1,69 (m, 1H), 2,26 (m, 1H), 2,42 (d, 2H, $J = 7,4$ Hz), 2,72 (m, 1H), 3,53 (m, 1H), 3,83 (m, 1H), 4,02 (m, 1H), 4,14 (dd, 1H, $J = 10,6, 7,0$ Hz), 5,14 (2, 2H) 6,69 (s, 1H), 6,96 (m, 2H), 7,06 (m, 1H), 7,25 (dd, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,39 (m, 3H), 8,35 (m, 2H). MS (ES): 462,2 ($M^{++}+1$).

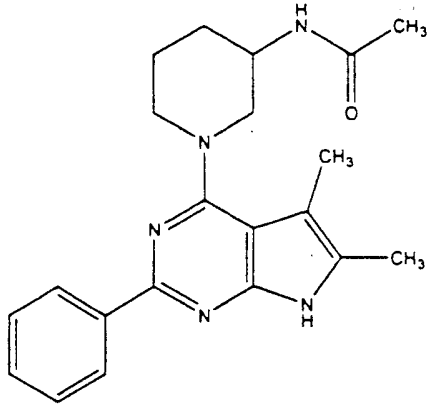
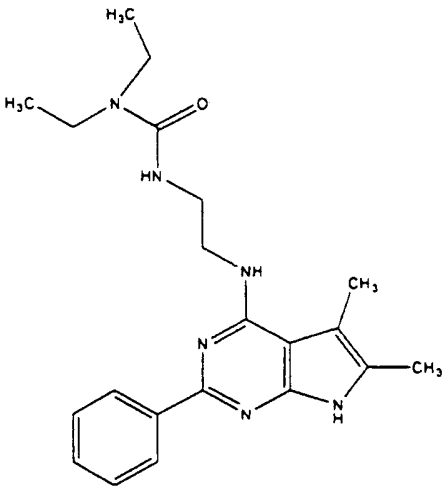
Sloučenina 1718 (tabulka 17 dále):

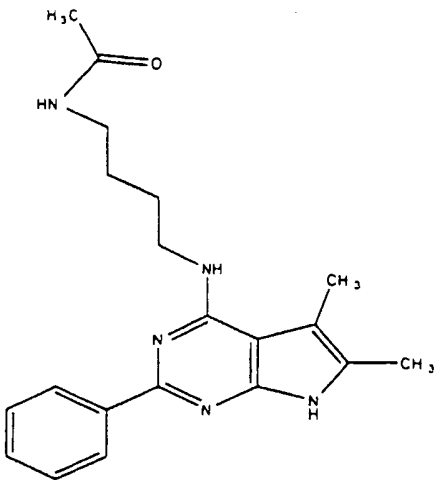
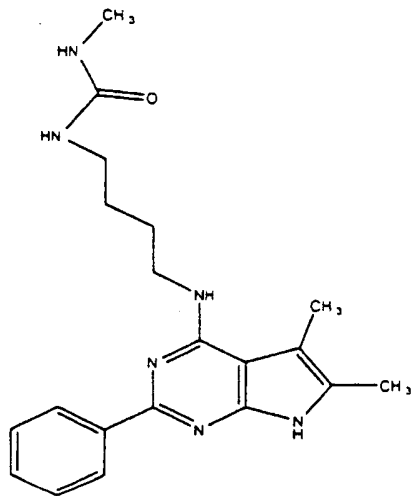
^1H -NMR (200 MHz, CD_3OD) d 1,40 – 2,00 (m, 5H), 3,52 (d, 2H, 7,6 Hz), 3,80-4,00 (m, 1H), 4,00-4,20 (m, 3H), 4,50 (m, 2H), 6,36-6,50 (m, 2H), 6,57 (s, 1H), 6,84 – 6,92 (m, 1H), 7,05 (t, 1H, $J = 8,2$ Hz), 7,30-7,45 (m, 3H), 8,24 (d, 2H, $J = 9,8$ Hz), MS (ES): 449,0 ($M^{+}+1$).

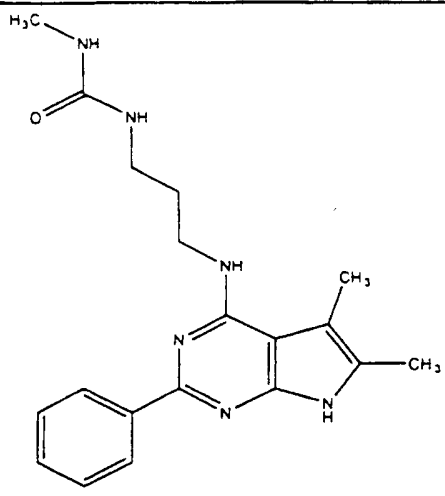
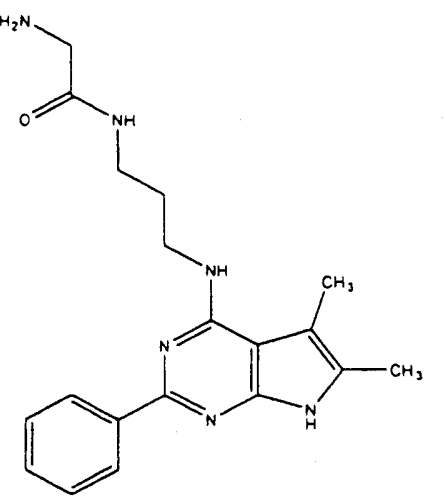
TABULKA 17: Adenosin A₃ receptor selektivní sloučeniny

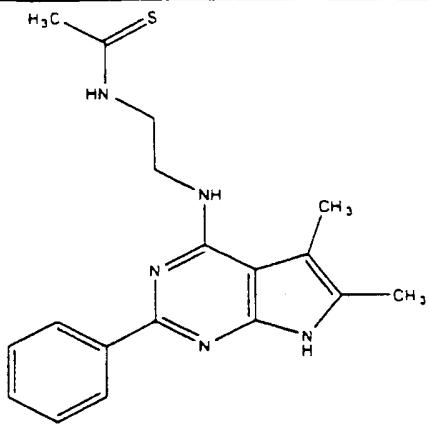
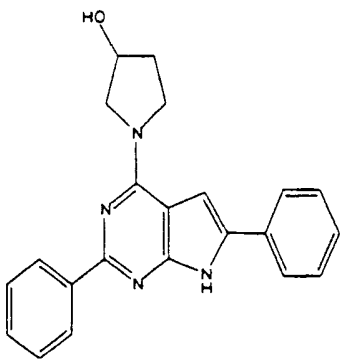
- alespoň desetkrát více selektivní než ostatní tři subtypy

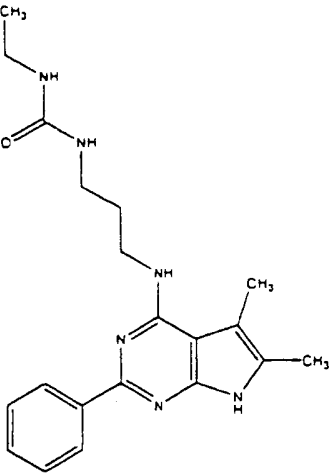
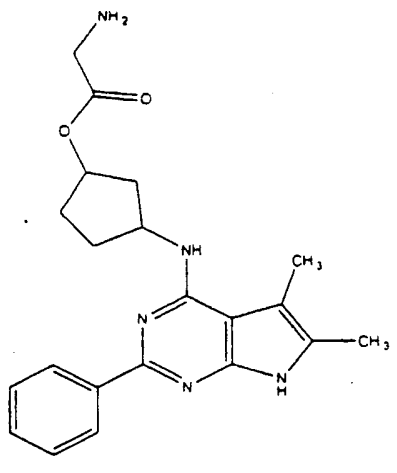
slouč.	struktura	Ki-A1	Ki-A2a	Ki-A2b	Ki-A3
1202					*
1700					*

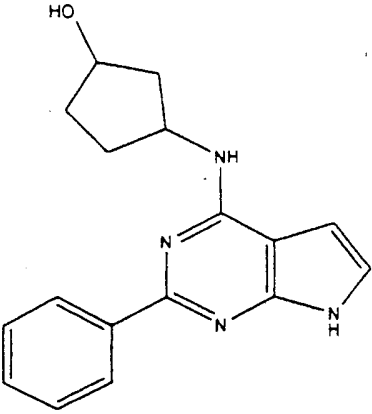
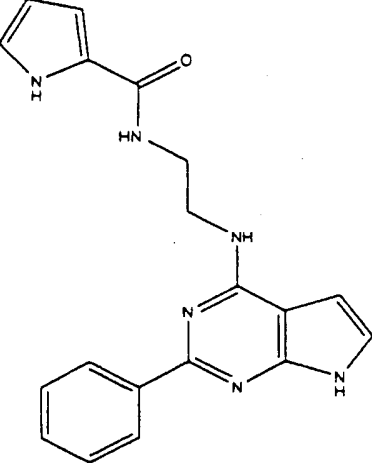
1309	 <chem>CC(=O)Nc1ccncc1Nc2nc3c(ncn3C)c4ccccc42</chem>				*
1701	 <chem>CC(=O)NCCNc5nc6c(ncn6C)c7ccccc75</chem>				*

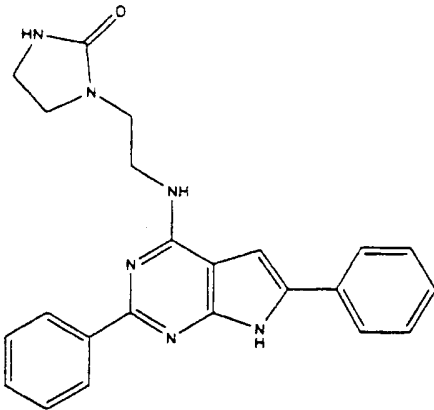
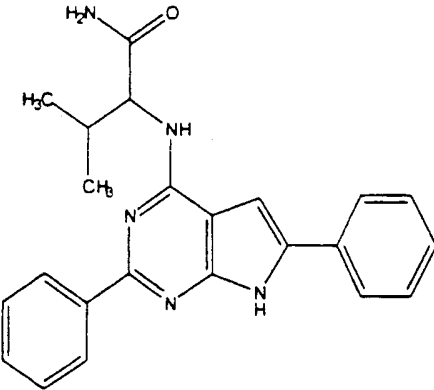
1311					*
1312					*

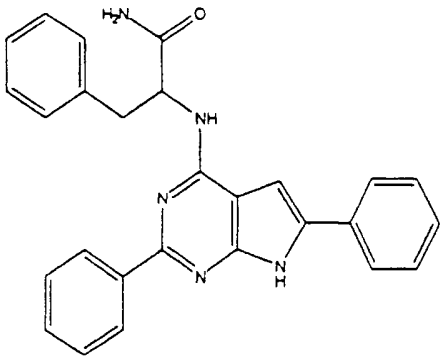
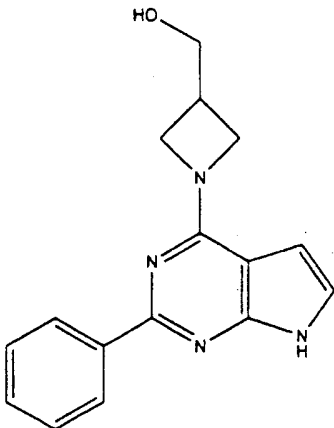
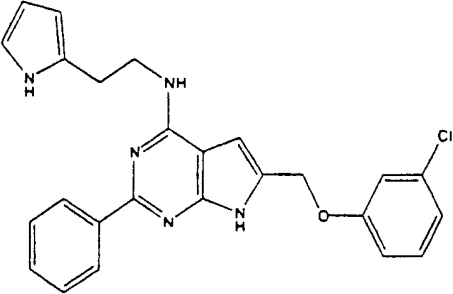
1310	 Chemical structure of 1-(4-(2-(2-phenyl-6,7-dimethyl-1H-indolizin-5-ylamino)ethyl)carbamoyl)pyrrolidine. The structure features a 6,7-dimethyl-1H-indolizin-2-yl group attached to a phenyl ring, which is further connected via a 4-ethyl chain to a carbamoyl group (NH-C(=O)-NH-).				*
1316	 Chemical structure of 1-(4-(2-(2-phenyl-6,7-dimethyl-1H-indolizin-5-ylamino)ethyl)carbamoyl)pyrrolidine. The structure features a 6,7-dimethyl-1H-indolizin-2-yl group attached to a phenyl ring, which is further connected via a 4-ethyl chain to a carbamoyl group (NH-C(=O)-NH-).				*

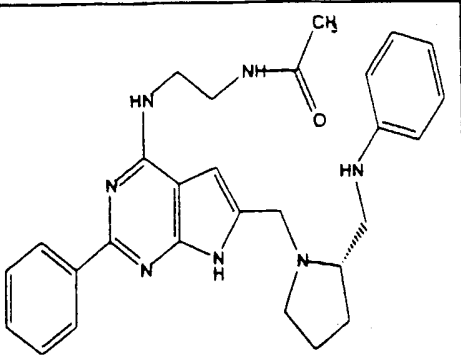
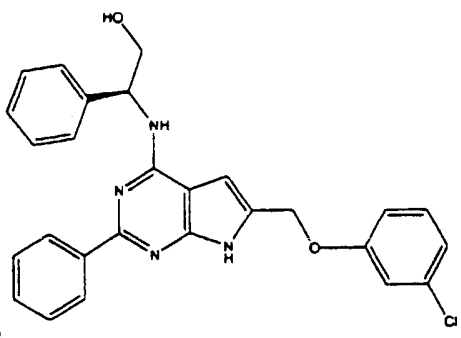
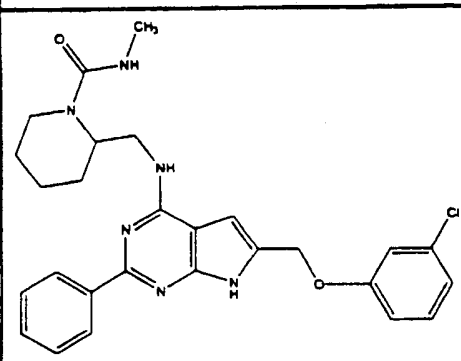
1702	 <chem>CC(=S)NCCNC1=NC2=C(N1)C(=CN2)C3=CC=CC=C3</chem>				*
1703	 <chem>OCCN1CCCN1C2=NC3=C(N2)C(=NN3)C4=CC=CC=C4</chem>				*

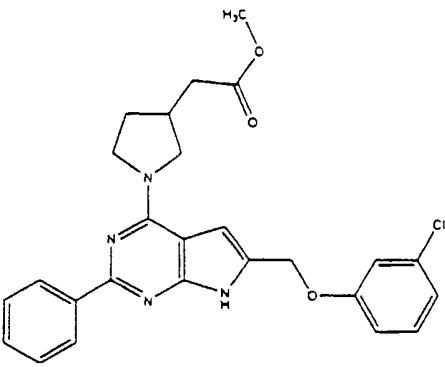
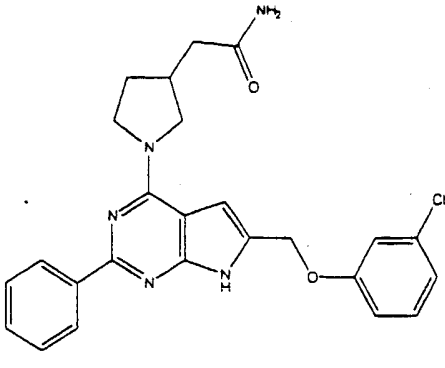
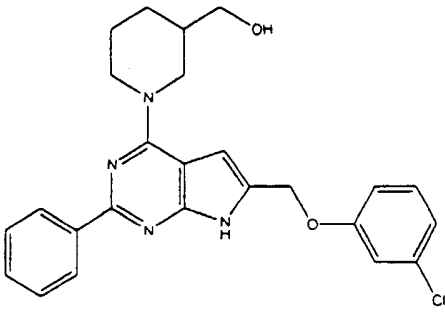
1704	 <chem>CC1=C(C)C2=C(N1)N=CN=C2C3=CC=CC=C3C4=CCN(CCCCNC(=O)NC)C4</chem>				*
1705	 <chem>CC1=C(C)C2=C(N1)N=CN=C2C3=CC=CC=C3C4=CCN(CCCNC(=O)OC5CCCC5NC)C4</chem>				*

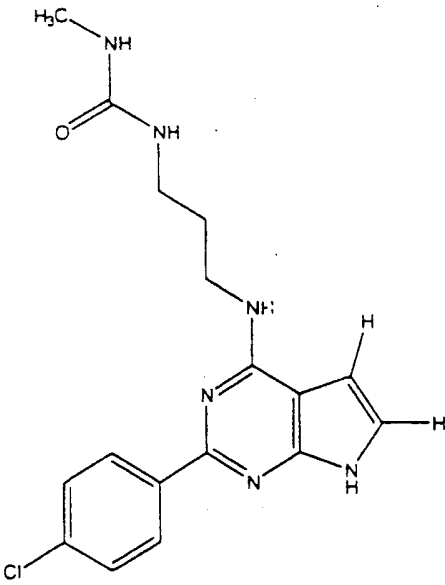
1706	 <chem>O[C@@H]1CC[C@H](NC(=O)Nc2nc3cc[nH]3c2c4ccccc41)c2ccccc2</chem>				*
1707	 <chem>O=C(NCCNC(=O)Nc1nc2cc[nH]2c1c3ccccc3)C4=CC=CC=C4</chem>				*

1708					*
1709					*

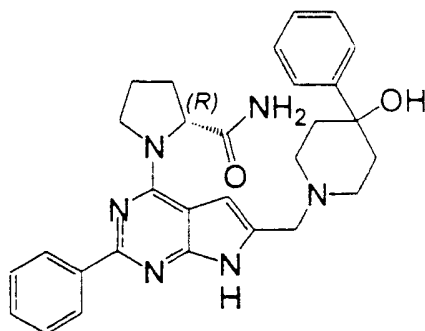
1710	 <chem>Nc1ccccc1C(=O)NC2=NC3=C(N2)C=CC3=C2c4ccccc4</chem>				*
1711	 <chem>OC1CCN1c2nc3ccccc3n2</chem>				*
1712	 <chem>Clc1ccc(OCC2=NC3=C(N2)C=CC3=C2NCC4=CN=CC=C4)cc1</chem>				*

1713					*
1714					*
1715					*

1716					*
1717					*
1718					*

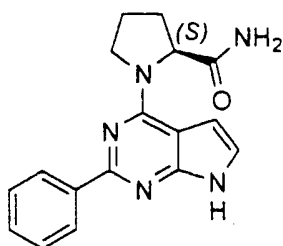
1719	 The chemical structure shows a 3H-indazole ring system. At position 2, there is a (4-chlorophenyl)amino group. At position 3, there is a (3-((methylamino)carbonyl)amino)propylamino group. The methylamino group is represented as H₃C-NH, and the carbonyl group is shown as C=O. The propyl chain is represented by three connected line segments. The indazole ring has a hydrogen atom at position 3 and a nitrogen atom at position 1.				*
------	--	--	--	--	---

Tento vynález poskytuje sloučeninu mající strukturu:



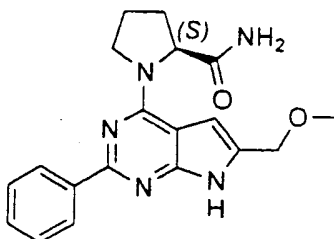
1505

Tento vynález také poskytuje sloučeninu mající strukturu:



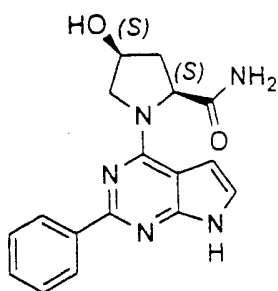
1506

Dále tento vynález poskytuje sloučeninu mající strukturu:



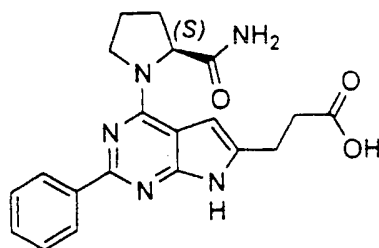
1507

Tento vynález také poskytuje sloučeninu mající strukturu:



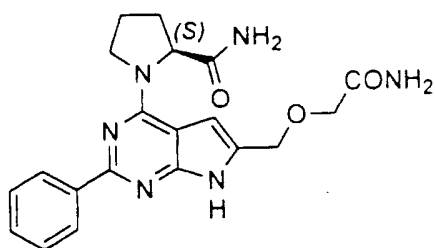
1508

Dále tento vynález poskytuje sloučeninu mající strukturu:



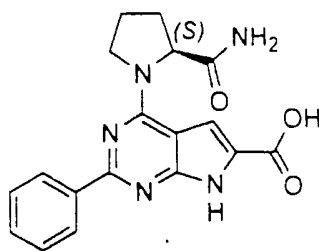
1509

Tento vynález také poskytuje sloučeninu mající strukturu:



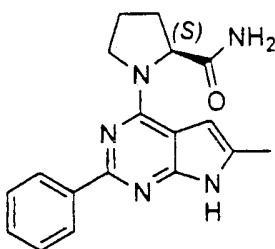
1510

Dále tento vynález poskytuje sloučeninu mající strukturu:



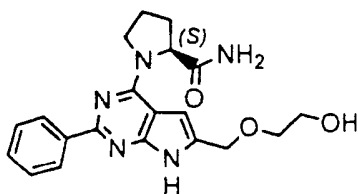
1511

Tento vynález také poskytuje sloučeninu mající strukturu:



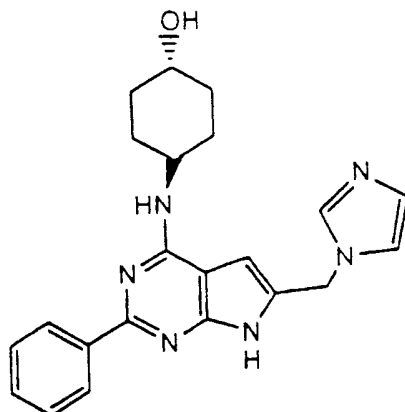
1512

Dále tento vynález poskytuje sloučeninu mající strukturu:



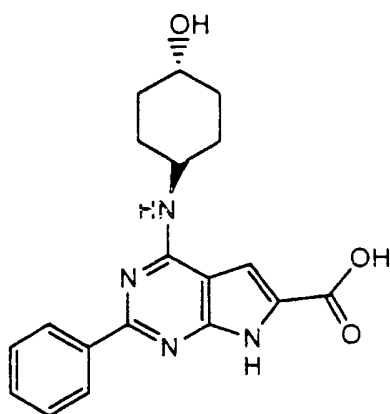
1513

Tento vynález také poskytuje sloučeninu mající strukturu:



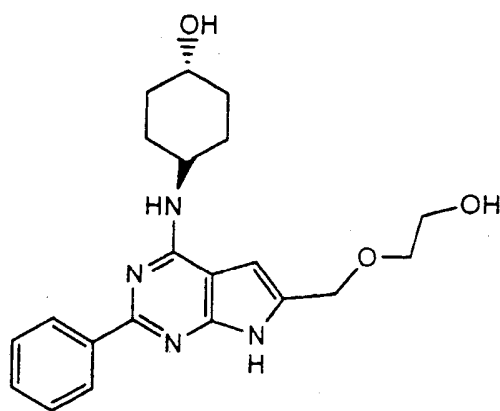
1514

Dále tento vynález poskytuje sloučeninu mající strukturu:



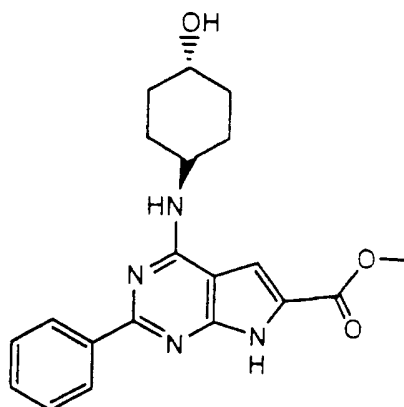
1515

Tento vynález také poskytuje sloučeninu mající strukturu:



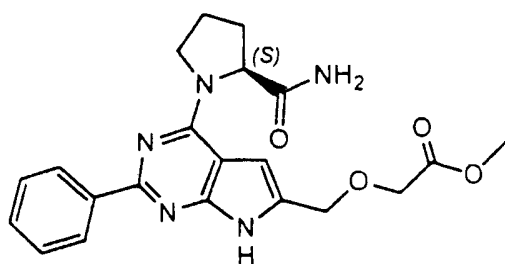
1516

Tento vynález také poskytuje sloučeninu mající strukturu:



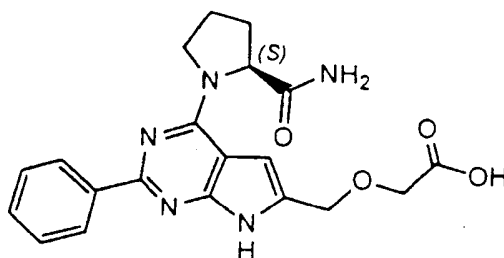
1517

Dále tento vynález poskytuje sloučeninu mající strukturu:



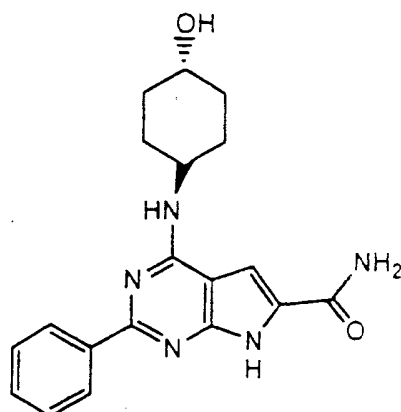
1518

Dále tento vynález poskytuje sloučeninu mající strukturu:



1519

Tento vynález také poskytuje sloučeninu mající strukturu:



1520

V dalším provedení vynález poskytuje způsob léčení nemoci spojené s adenosin A_1 receptorem u subjektu, zahrnující podávání subjektu terapeuticky účinného množství sloučenin 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 nebo 1520.

V dalším provedení vynález poskytuje výše uvedený způsob, kde subjektem je savec.

V dalším provedení vynález poskytuje výše uvedený způsob, kde savcem je člověk.

V dalším provedení vynález poskytuje výše uvedený způsob, kde uvedený A_1 adenosin receptor je spojen s kognitivní nemocí, chorobami ledvin, srdeční arytmií, respiračním epitelem, uvolněním přenašeče, uklidněním, vasokonstrikcí, bradykardií, negativní srdeční inotropií a dromotropií, branchokonstrikcí, neutrofilní chemotaxií, stavem refluxu nebo vředovitým stavem.

V ještě dalším provedení vynález poskytuje ve vodě rozpustná proléčiva sloučeniny 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 nebo 1520, kde ve vodě rozpustné proléčivo je metabolizováno in vivo za vzniku aktivního léčiva, které selektivně inhibuje A_1 adenosin receptor.



V dalším provedení vynálezu je uvedené proléčivo metabolizováno in vivo hydrolýzou, která je katalyzovaná esterásou.

V dalším provedení vynález poskytuje farmaceutický prostředek zahrnující výše uvedené proléčivo a farmaceuticky přijatelný nosič.

V dalším provedení vynález poskytuje způsob inhibice aktivity A_1 adenosin receptoru v buňkách, který zahrnuje uvedení do kontaktu buněk se sloučeninami 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 nebo 1520.

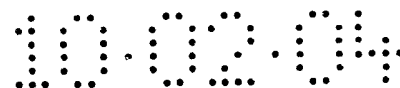
V dalším provedení vynález poskytuje výše uvedený způsob inhibice aktivity A_1 adenosin receptoru v buňkách, kde sloučeninou je antagonist A_1 adenosin receptoru.

V dalším provedení vynález poskytuje výše uvedený způsob inhibice aktivity A_1 adenosin receptoru v buňkách, kde buňkou je lidská buňka.

V dalším provedení vynález poskytuje výše uvedený způsob inhibice aktivity A_1 adenosin receptoru v lidských buňkách, kde sloučeninou je antagonist A_1 adenosin receptorů.

V dalším provedení vynález poskytuje výše uvedený způsob léčení nemoci spojené s A_1 adenosin receptorem u subjektu, kde uvedenou nemocí je astma, chronická obstrukční plicní choroba, alergická rinitida nebo poruchy horní respirace.

V dalším provedení vynález poskytuje výše uvedený způsob léčení nemoci spojené s A_1 adenosin receptorem u subjektu, kde uvedenou nemocí je astma, chronická obstrukční plicní choroba, alergická rinitida nebo poruchy horní respirace, a kde subjektem je člověk.



V ještě dalším provedení poskytuje vynález způsob léčení výše uvedených nemocí, kde uvedenou sloučeninou je antagonist A₁ adenosin receptorů.

V ještě dalším provedení poskytuje vynález kombinační terapii astmatu, zahrnující sloučeninu 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 nebo 1520, a steroid, β 2 agonistu, glukokortikoid, lukotrienový antagonistu, nebo anticholinergický antagonistu.

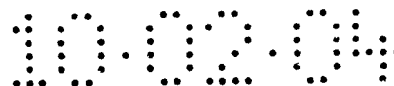
V ještě dalším provedení vynález poskytuje farmaceutický prostředek zahrnující terapeuticky účinné množství sloučeniny 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 nebo 1520 a farmaceuticky přijatelný nosič.

V ještě dalším provedení vynález poskytuje způsob léčení respiračních chorob se sloučeninou 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 nebo 1520, kde uvedenou respirační nemocí je astma, chronická obstrukční plicní choroba, alergická rinitida.

V dalším provedení vynález poskytuje výše uvedený farmaceutický prostředek(y), kde uvedený farmaceutický prostředek je periokulární, retrobulbární nebo intraokulární injekční formulace.

V dalším provedení vynález poskytuje výše uvedený farmaceutický prostředek(y), kde uvedeným farmaceutickým prostředkem je systémická formulace.

V ještě dalším provedení vynález poskytuje výše uvedený farmaceutický prostředek(y), kde uvedeným farmaceutickým prostředkem je chirurgický výplachový roztok.



Tento vynález také poskytuje balený farmaceutický prostředek pro léčení nemocí spojených s A_1 adenosin receptorem u subjektu, zahrnující:

- (a) kontejner nesoucí terapeuticky účinné množství některé ze sloučenin 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 nebo 1520; a
- (b) instrukce pro použití uvedené sloučeniny při léčení uvedené nemoci u subjektu.

V dalším provedení vynález poskytuje farmaceuticky přijatelnou sůl sloučenin 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 nebo 1520.

V dalším provedení vynález poskytuje výše uvedenou farmaceuticky přijatelnou sůl, kde farmaceuticky přijatelná sůl sloučeniny 1509, 1511, 1515, 1518 nebo 1519 obsahuje kation zvolený ze skupiny sestávající ze sodíku, vápníku a amonia.

V ještě dalším provedení poskytuje vynález způsob léčení nemoci spojené s A_1 adenosin receptorem u subjektu, kde A_1 adenosin receptor je spojen s kognitivním srdečním selháním.

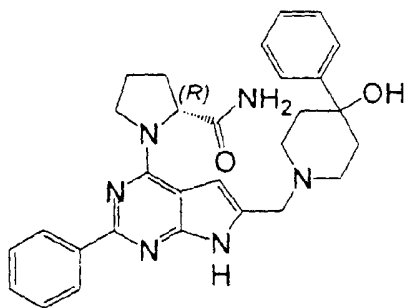
Doložení příklady

Příklad 21:

Syntéza 1-[6-(4-hydroxy-4-fenyl-piperidin-1-yl-methyl)-2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3-d]pyrimidin-4-yl]-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny, amidu (1505)

Sloučenina 1505 byla syntetizována způsobem podobný tomu v příkladu 17 použitím schématu syntézy IX s L-prolinamidem a 4-fenyl-piperidin-4-olem za získání:

10.02.04

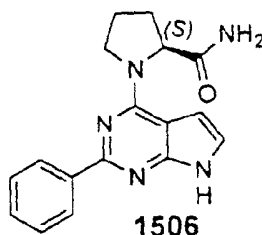
**1505**

$^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO) δ 1.53 (s, 1H), 1.60 (s, 1H), 1.84–2.30 (m, 6H), 2.66 (m, 2H), 3.60 (s, 2H), 3.88 (m, 1H), 4.02 (m, 1H), 4.66 (d, 1H, $J = 6.8\text{Hz}$), 4.73 (s, 1H), 6.44 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 7.12 – 7.50 (m, 10H), 8.35 (m, 2H), 11.6 (brs, 1H); MS (ES): 305.1 ($M^+ + 1$); mp = 234–235°C.

Příklad 22:

Syntéza [N-(2-fenyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl) (L)-prolinamidu (1506)

Sloučenina 1506 byla syntetizována použitím schématu syntézy VII s L-prolinamidem za získání:

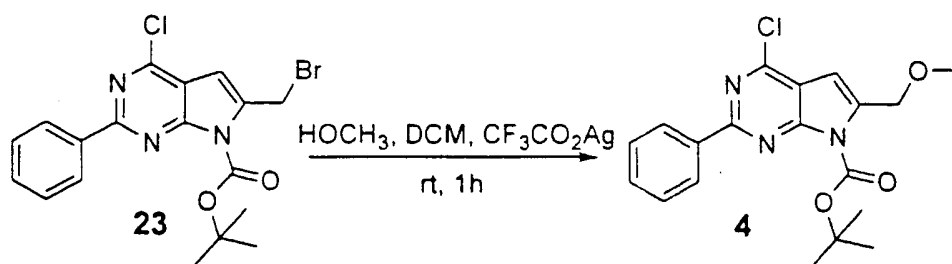
**1506**

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 2.05 (m, 4H), 3.85 (m, 1H), 4.05 (m, 1H), 4.70 (d, 1H, $J=8.0\text{Hz}$), 6.58 (brs, 1H), 6.95 (brs, 1H), 7.15 (d, 1H, $J=3.4\text{Hz}$), 7.40 (m, 3H), 7.50 (brs, 1H), 8.40 (m, 2H), 11.6 (brs, 1H); MS (ES): 308.3 ($M^+ + 1$). mp= 236–238°C.

Příklad 23:

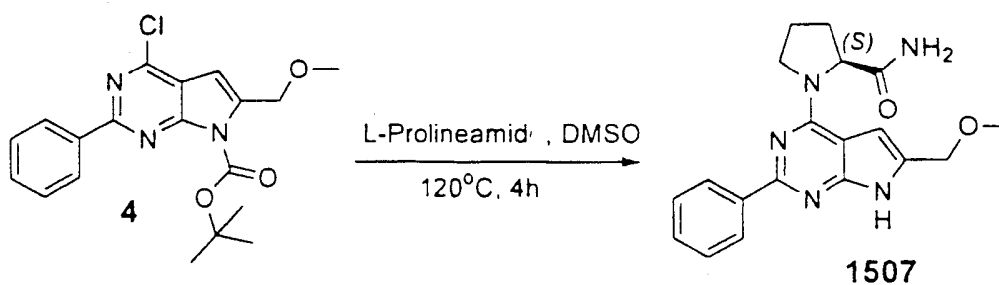
Syntéza [N-(2-fenyl-6-methoxymethyl-7H-pyrrol[2,3-d]pyrimidin-4-yl)
(L)-prolinamidu (1507)

Sloučenina **1507** byla syntetizována použitím prekursoru sloučeniny
23 a schématu syntézy IX za získání:



Bromid **23** (4,23 g, 10 mmol) je rozpuštěn v bezvodém methanolu (60 ml) a DCM (120 ml) a zpracován s AgO_2CCF_3 pod dusíkem při teplotě místnosti po 1 hodinu. Pevná látka byla odstraněna filtrací a promyta DCM (2x20 ml). Filtrát je koncentrován ve vakuu. Zůstatek je opět rozpuštěn v DCM (80 ml). Výsledný roztok je potom promyt s nasyceným NaHCO_3 roztokem a solankou, sušen nad MgSO_4 , filtrován a koncentrován za získání 3,71 g (**4**, 99 %) téměř bílé pevné látky.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1,75 (s, 9H), 3,51 (s, 3H), 4,83 (s, 2H), 6,70 (s, 1H), 7,47 (m, 3H), 8,52 (m, 2H).



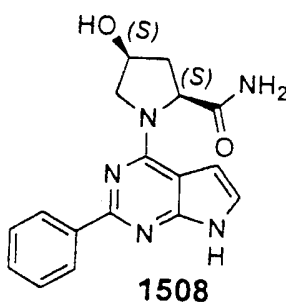
Arylchlorid **4** (2,448 g, 6,55 mmol), DMSO (15 ml), L-prolinamid (4,0 g, 35,0 mmol) a NaHCO_3 (2,9 g) jsou spojeny a zahřívány na 120 °C pod dusíkem. Po 4 hodinách byla reakční směs ochlazená na teplotu místnosti a zředěna vodou (60 ml). Výsledná suspenze je extrahována s DCM (10 x). Spojené organické vrstvy jsou promyty nasyceným roztokem NaHCO_3 a solankou, sušeny nad MgSO_4 , filtrovány a koncentrovány za získání 2,48 g hnědé pevné látky. Čistý produkt (1,86 g, 81%) je získán po mžikové koloně jako bílá pevná látka. Bílé krystaly jsou získány z THF/hexanu. T.t. = 213-215 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 2,15 (m, 3H), 2,52 (m, 1H), 3,26 (s, 3H), 3,92 (m, 1H), 4,10 (m, 1H), 4,42 (s, 2H), 5,08 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 5,49 (brs, 1H), 6,48 (s, 1H), 7,08 (brs, 1H), 7,42 (m, 3H), 8,38 (m, 2H), 9,78 (brs, 1H); MS (ES): 352,2 ($\text{M}^+ + 1$).

Příklad 24:

Syntéza 4-hydroxy-1-(2-fenyl-7H-pyrrol[2,3-d]pyrimidin-4-yl) pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny, amidu (1508)

Sloučenina **1508** byla syntetizována použitím cis-hydroxy prolinamidu a schématu syntézy VII za získání:

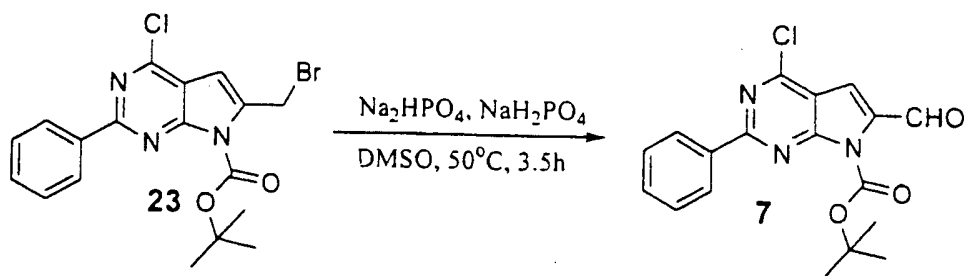


$^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO) δ 1.90 (m, 1H), 3.85 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz), 4.08 (m, 1H), 4.37 (s, 1H), 4.67 (dd, 1H, $J = 8.8, 4.0$ Hz), 5.30 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 7.15 (s, 2H), 7.37 (m, 3H), 7.64 (s, 1H), 8.37 (m, 2H), 11.65 (brs, 1H); MS (ES): 324.2 ($\text{M}^+ + 1$); mp = 268-271°C.

Příklad 25:

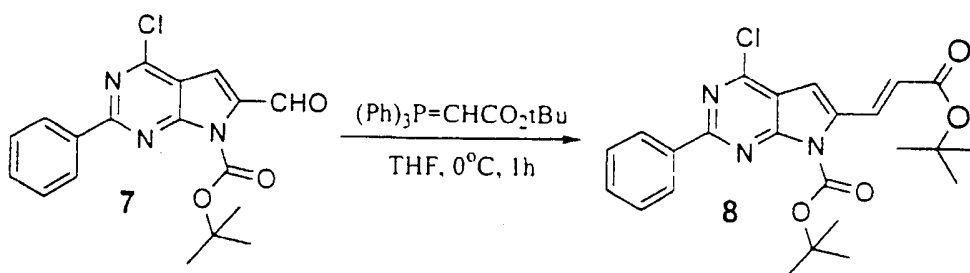
Syntéza 3-[4-((S)-2-karbamoyl-pyrrolidin-1-yl)-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3-d]-pyrimidin-6-yl)-propionové kyseliny (1509)

Sloučenina **1509** byla syntetizována použitím prekursoru sloučeniny **23** a schématu syntézy IX za získání:



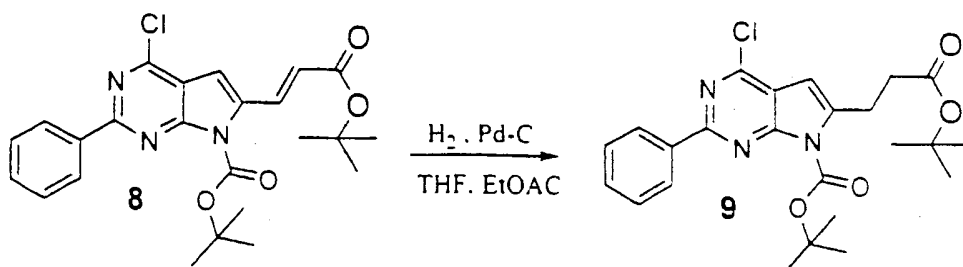
Ter.butoxykarbonylem chráněný arylbromid **23** (4,0 g, 9,5 mmol), suchý DMSO (25 ml), NaH_2PO_4 (454 mg, 3,79 mmol) a Na_2HPO_4 (1,62 g, 11,4 mmol) byly spojeny a zahřívány na 50 °C pod argonem po přibližně 3,5 h. Potom byla směs nalita do vody (200 ml) a extrahována třemi 100ml podíly EtOAc. Spojené organické vrstvy byly důkladně promyty vodou, solankou, sušeny nad MgSO_4 , filtrovány a koncentrovány za získání žluté pevné látky, která byla purifikována rozetřením s ethanolem za získání 1,55 g bledě žluté pevné látky (**7**). Matečná kapalina byla purifikována mžikovou chromatografií (10% EtOAc v hexanu) za získání dalších 454 mg (60%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1,77 (s, 9H), 7,25 (s, 1H), 7,48 (m, 3H), 8,52 (m, 2H), 10,39 (s, 1H); t.t. = 156 °C (dec).



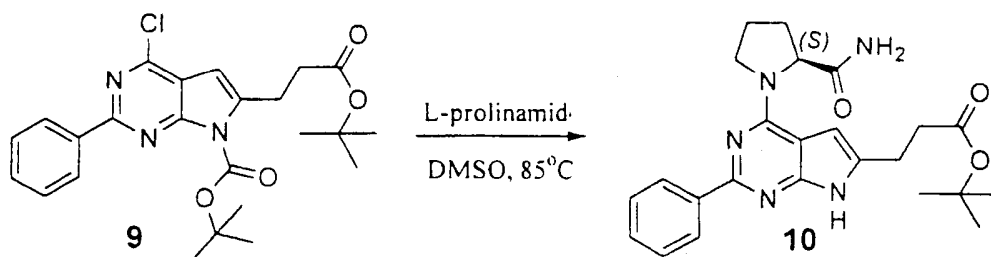
Aldehyd **7** (600 mg, 1,7 mmol) byl rozpuštěn v suchém THF (20 ml) a ochlazen na 0 °C pod argonem. Do tohoto byl přidán roztok (terc.-butoxy-karbonylmethylen)-trifenylfosforanu (639 mg, 1,8 mmol) v 10 ml suchého THF o teplotě 0 °C po kapkách přes kanylu. Po 3 h byla směs koncentrována a purifikována rozetřením s ethanolem za získání 565 mg (73%) bílé pevné látky (**8**).

¹H-NMR (CDCl₃) δ 1,58 (s, 9H), 1,79 (s, 9H), 6,46 (d, 1H), 6,95 (s, 1H), 7,48 (m, 3H), 8,09 (d, 1H), 8,56 (m, 2H).

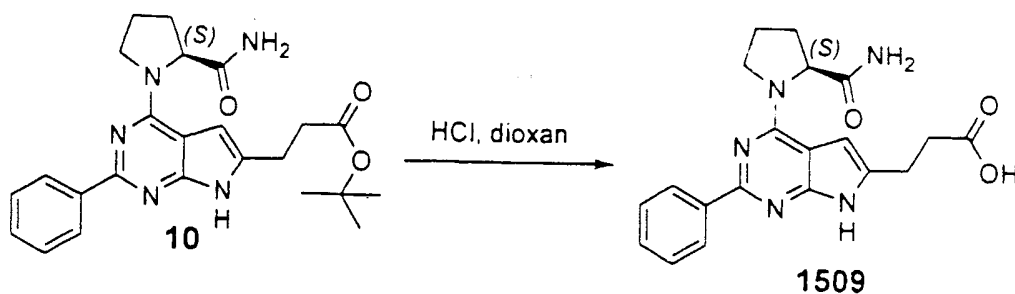


Roztok sloučeniny **8** (565 mg, 1,2 mmol) v 5 ml THF byl zředěn na 100 ml s EtOAc. Po přidání 600 mg katalyzátoru (5 % hmotn. Pd, 50 % H₂O) a čištění argonem byla směs hydrogenována pod atmosférickým tlakem. Po 8 h byla směs filtrována, koncentrována a purifikována mžikovou chromatografií (10% EtOAc v hexanu), aby se izolovalo 200 mg (35%) **9** jako čirého oleje, který krystalizoval při stání.

¹H NMR (CDCl₃) δ 1,42 (s, 9H), 1,75 (s, 9H), 2,65 (t, 2H), 3,32 (t, 2H), 6,41 (s, 1H), 7,45 (m, 3H), 8,51 (m, 2H).



Arylchlorid **9** (200 mg, 4,4 mmol), DMSO (10 ml) a L-prolinamid (440 mg, 4,4 mmol) byly spojeny a zahřívány na 85 °C pod argonem. Po 14 hodinách je směs ochlazena na teplotu místnosti a rozdělena mezi vodu a ethylacetát. Vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla promyta EtOAc (3x). Spojené organické vrstvy byly důkladně promyty vodou (3x), solankou, sušeny nad MgSO₄, filtrovány a koncentrovány za získání **10** jako žlutého filmu, který byl purifikován mžikovou chromatografií (2,5% MeOH v CH₂Cl₂). 185 mg (97%). MS (ES): 435,8 (M+1).

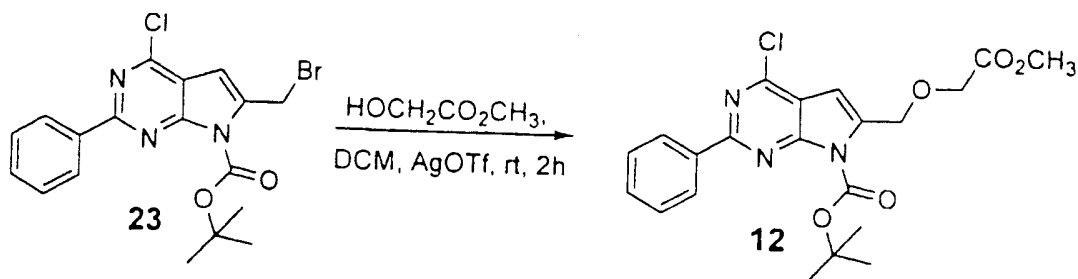


Ester **10** (30 mg, mmol) v 5 ml dioxanu byl hydrolyzován přidáním 0,5 ml koncentrované HCl. Po 3 hodinách byla směs koncentrována ve vakuu a rekrystalizovala v EtOH/EtOAc za získání **1509** jako bílé pevné látky (20 mg, 61%). MS (ES): 380 (M+1).

Příklad 26:

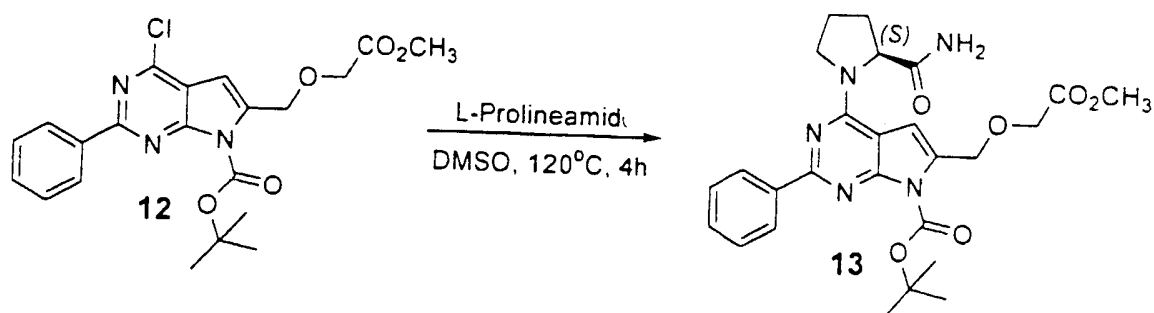
Syntéza [N-(2-fenyl-6-aminokarbonyl-methoxymethyl-7H-pyrrol[2,3-d]-pyrimidin-4-yl)-(L)-prolinamidu (**1510**)

Sloučenina **1510** byla syntetizována použitím prekursoru sloučeniny **23** a schématu syntézy IX za získání:



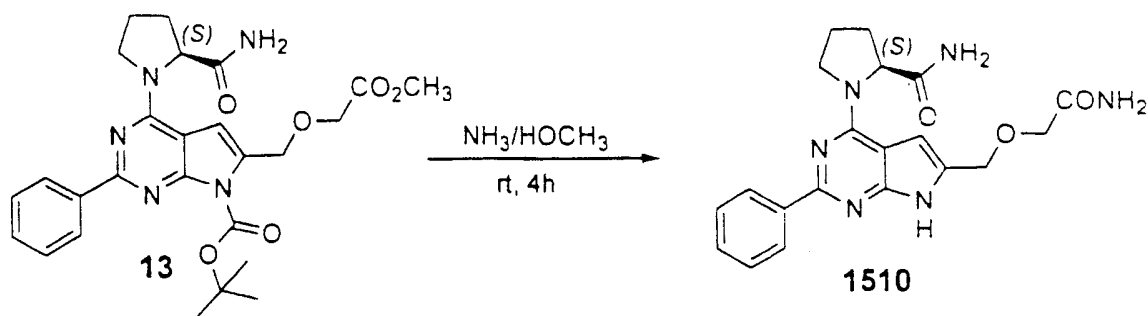
Bromid 23 (1,27 g, 3 mmol) a molekulární síto (5 g) jsou míchány v bezvodém methylglykolátu (5,8 g, 60 mmol) a DCM (40 ml). Roztok je zpracován s AgOTf pod dusíkem a ponechán míchat po 3 h. Pevná látka je odstraněna filtrací a promyta s DCM (2 x 20 ml). Filtrát je koncentrován ve vakuu. Zůstatek je opět rozpuštěn v DCM (80 ml). Výsledný roztok je potom promyt vodou, nasyceným NaHCO₃ roztokem a solankou, sušen nad MgSO₄, filtrován a koncentrován za získání 1,35 g (99%) téměř bílé pevné látky (12).

H-NMR (CDCl₃) δ 1,75 (s, 9H), 3,80 (s, 3H), 5,0 (s, 2H), 6,78 (s, 1H), 7,47 (m, 3H), 8,52 (m, 2H).



Arylchlorid 12 (177 mg, 0,41 mmol), DMSO (10 ml), L-prolinamid (466 mg, 4 mmol) a NaHCO₃ (500 mg) jsou spojeny a zahřívány na 120 °C pod dusíkem. Po 4 hodinách je reakční směs ochlazená na teplotu místnosti a zředěna vodou (60 ml). Získaná suspenze je extrahována DCM (5x30 ml). Spojené organické vrstvy jsou promyty nasyceným roztokem NaHCO₃ a solankou, sušeny nad MgSO₄, filtrovány a koncentrovány za získání hnědé pevné látky. Čistý produkt (154 mg, 92%) je získán po mžikové koloně jako bílá pevná látka (13).

¹H-NMR (CDCl₃) δ 2,15 (m, 3H), 2,52 (m, 1H), 3,55 (s, 3H), 4,58 (s, 2H), 5,08 (s, 1H), 5,85 (brs, 1H), 6,48 (s, 1H), 7,08 (brs, 1H), 7,42 (m, 3H), 8,40 (m, 2H), 10,58 (brs, 1H; MS (ES): 410,1 (M+1).



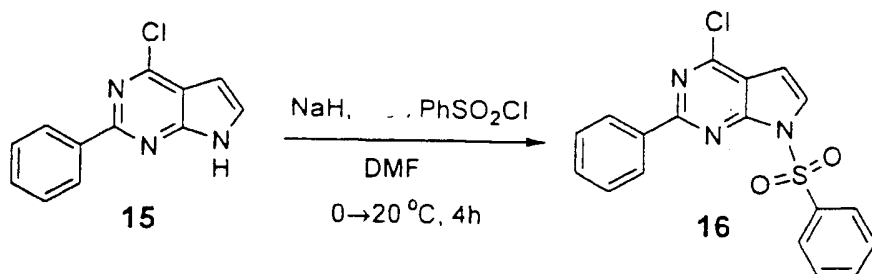
Methylester **13** (124 mg, 0,3 mmol) je rozpuštěn v HOCH₃ (15 ml). Amoniak probublává roztokem po 0,5 h. Reakční směs je potom míchána po další 3 h při teplotě místnosti. Po odstranění rozpouštědla je získáno 111 mg bílé pevné látky (**1510**, 93 %).

¹H-NMR (CDCl₃) d, 1,82 (m, 3H), 2,20 (m, 1H), 2,80 (m, 1H), 3,10 (m, 1H), 3,63 (dd, 2H, J₁ = 13,8 Hz, J₂ = 19,4 Hz), 3,87 (m, 1H), 4,07 (m, 1H), 4,97 (m, 1H), 5,96 (m, 2H), 6,35 (s, 1H), 6,88 (brs, 1H), 7,11 (brs, 1H), 7,37 (m, 3H), 8,28 (m, 2H), 11,46 (brs, 1H); MS(ES): 394,8 (M+1).

Příklad 27:

Syntéza [4-(2-karbamoylpyrrolidin-1-yl)-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3-d]-pyrimidin-6-karboxylové kyseliny (**1511**)

Sloučenina **1511** byla syntetizována použitím prekursoru sloučeniny **15** a schématu syntézy VII za získání:

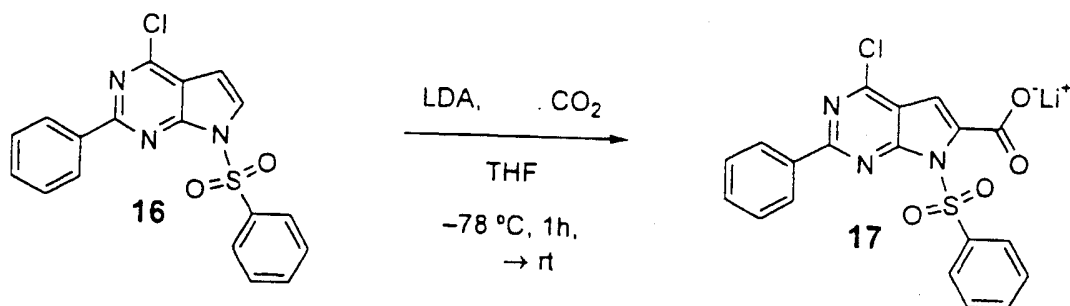


Do suspenze hydridu sodného (780 mg 60% olejové suspenze, 19,5 mmol) v suchém DMF (20 ml), ochlazeném v ledové vodní lázni pod

dušíkem je přidáván roztok pyrrolpyrimidinu **15** (2,00 g, 7,52 mmol) v DMF (10 ml) po 5 min. Po 15 min je přidán benzensulfonylchlorid (1,2 ml, 9,40 mmol), potom je ledová lázeň odstraněna. Po 4 h je reakční směs nalita do směsi ledu a nasyceného roztoku NaHCO_3 , vysrážená pevná látka je odfiltrována a rozetřena s acetonem (3) a methanolem (2) za získání 2,37 g béžové pevné látky. Tato pevná látka (**16**) obsahuje přibližně 10 mol. % DMF (vztaženo na 83% výtěžek) a může být použita v dalším kroku; čistý vzorek může být získán chromatografií na silikagelu použitím acetonu jako ředidla.

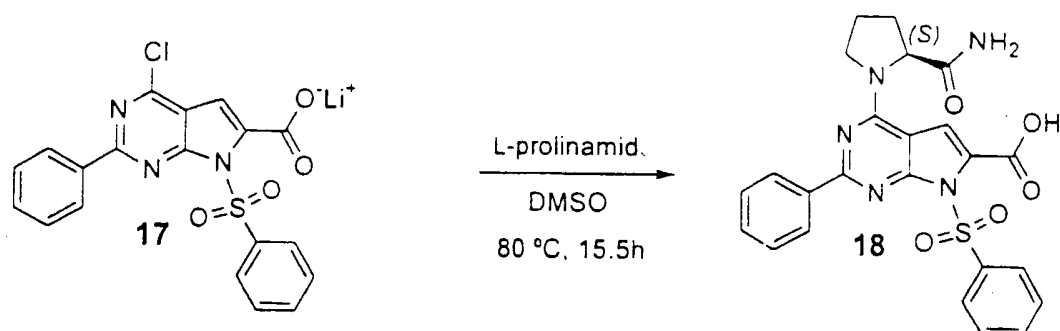
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): d 6,70 (d, $J = 4,2$ Hz, 1H), 7,47-7,68 (m, 6H), 7,76 (d, $J = 4,2$ Hz, 1H), 8,24-8,32 (m, 2H), 8,48-8,56 (m, 2H);

IR (pevné látky): $\nu = 3146 \text{ cm}^{-1}$, 1586, 1539, 1506, 1450, 1417, 1386, 1370, 1186, 1176, 1154, 1111, 1015, 919, 726, 683, 616, 607; MS (ES): 372/370 (MH^+); t.t. = 226-227 °C.



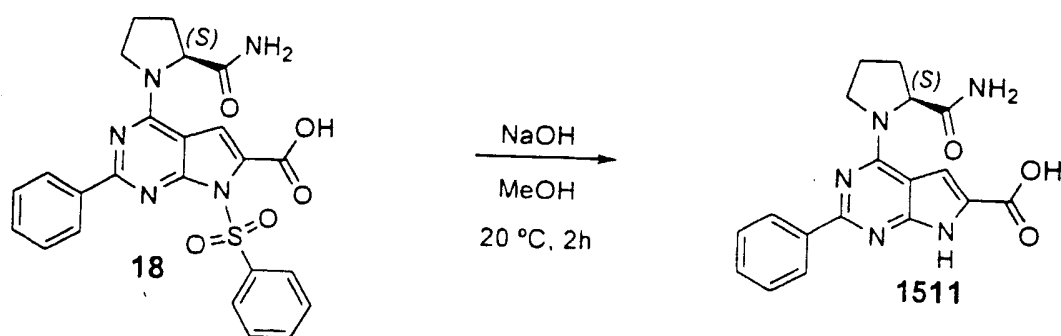
Do roztoku N-sulfonylové sloučeniny **16** (337 mg, 0,911 mmol) v suchém THF (34 ml), chlazeném suchým ledem/acetonem, je přidán LDA.THF (1,0 ml, 1,5 M roztok v cyklohexanu, 1,5 mmol). Po 45 min je po dobu 5 min roztok probubláván oxidem uhličitým, potom je chladicí lázeň odstraněna. Když dosáhne roztok teploty okolí, jsou rozpouštědla odstraněna za získání 398 mg soli **17**, obsahující 0,5 ekv. $(i\text{Pr})_2\text{NCO}_2\text{Li}$, jako žluté pevné látky. Sůl je použita bez purifikace v dalším kroku.

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O): d = 6,44 (s, 1H), 7,50-7,75 (m, 6H), 8,33-8,40 (m, 2H), 8,53 (dd, $J = 8,0, 1,6$ Hz, 2H).



Roztok lithné soli **17** (50 mg) a L-prolinamidu (122 mg, 1,07 mmol) v DMSO (1,5 ml) je zahříván pod dusíkem na 80 °C po 15,5 h. Do ochlazeného roztoku se přidá se 4% vodná kyselina octová (10 ml) a směs je extrahována EtOAc (5-10 ml). Spojené organické vrstvy jsou promyty 4% vodnou kyselinou octovou (10 ml), vodou (10 ml) a solankou (10 ml) a jsou sušeny nad MgSO_4 . Filtrace a koncentrace poskytly 40 mg **18** jako nažloutlé pevné látky, která je použita bez purifikace v dalším kroku.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ = 1,95 – 2,36 (m, 4H), 3,85-3,95 (m, 1H), 3,95-4,17 (m, 1H), 4,72 (brs, 1H), 7,14 (s, 1H), 7,35 – 7,45 (m, 3H), 7,45-7,70 (m, 3H), 8,33-8,50 (m, 4H).



Roztok hydroxidu sodného v methanolu (1,5 ml, 5M, 7,5 mmol) je přidán do roztoku pyrrolopyrimidinu **18** (40 mg, 0,081 mmol) v methanolu (2 ml). Po 2 h je pH upraveno na 5, většina methanolu je odpařena, směs je extrahována s EtOAc (5 10 ml), spojené organické vrstvy jsou promyty solankou a sušeny nad MgSO_4 . Filtrace a koncentrace poskytne 24 mg

bledě žluté pevné látky, která je rozetřena s toluenem (EtOAc/MeOH) za získání 15,6 mg (55%) kyseliny **1511** jako mírně nažloutlé pevné látky.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ 2,05-2,20 (m, 4H), 3,95-4,10 (m, 1H), 4,15-4,25 (m, 1H), 4,85 (brs, 1H), 7,14(s, 1H), 7,35-7,42 (m, 3H), 8,38-8,45 (m, 2H);

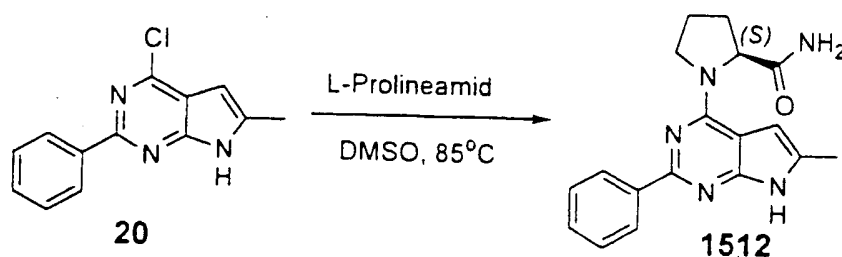
IR (pevné látky): $\nu = 3192\text{ cm}^{-1}$, 2964, 2923, 2877, 1682, 1614, 1567, 1531, 1454, 1374, 1352, 1295, 1262, 1190, 974, 754, 700;

MS (ES): 352 ($\text{M}+1$); t.t. = 220 °C (dekomp.).

Příklad 28:

Syntéza 1-(6-methyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-(S)-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny, amidu (**1512**)

Sloučenina **1512** byla syntetizována následujícími kroky:



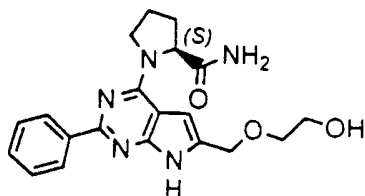
Arylchlorid **20** (3 g, 10,7 mmol), DMSO (50 ml) a (S)-prolinamid byly spojeny a zahřívány na 85 °C pod argonem. Po míchání přes noc (14 hodin) byla směs ochlazená na teplotu místnosti a nalita do 800 ml vody. Tato byla extrahována se třemi 200ml podíly EtOAc. Spojené organické vrstvy byly intenzivně promyty vodou (3 x 300 ml), solankou, sušeny nad MgSO_4 , filtrovány a koncentrovány za získání tmavě hnědé pevné látky. Tato pevná látka byla rekrystalizována dvakrát z EtOAc za získání 1,95 g (57%) hnědavé pevné látky (**1512**).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 1,8-2,2 (m, 4H), 2,3 (s, 3H), 3,8 (m, 1H), 4,0 (m, 1H), 4,6 (d, 1H), 6,2 (s, 1H), 6,9 (s, 1H), 7,2 (m, 3H), 7,3 (s, 1H), 8,4 (m, 2H), 11,5(s, 1H); MS (ES): 322 (M+1).

Příklad 29:

Syntéza 1-[6-(2-hydroxy-ethoxymethyl)-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3-d]-pyrimidin-4-yl]-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny, amidu (1513)

Sloučenina **1513** byla syntetizována způsobem podobným příkladu 17, použitím schématu syntézy IX s L-prolinamidem a ethan-1,2-diolem za získání:



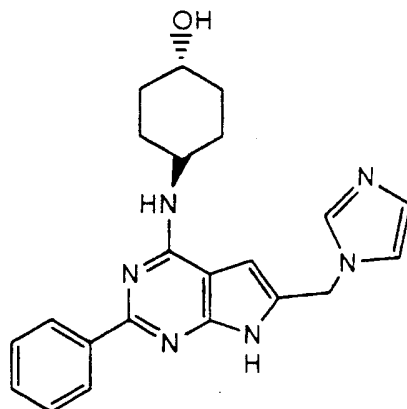
1513

MS (ES): 382 (M^++1).

Příklad 30:

Syntéza 4-(6-imidazol-1-ylmethyl-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3-d]pyrimidin-4-ylamino)-cyklohexanolu (1514)

Sloučenina **1514** byla syntetizována způsobem podobným příkladu 17, použitím schématu syntézy IX s N-6 amino-cyklohexanolem a imidazolem za získání:



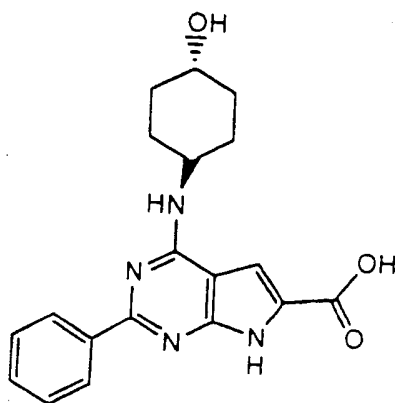
1514

MS (ES): 389 ($M^{+}+1$).

Příklad 31:

Syntéza 4-(4-hydroxy-cyklohexylamino)-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3-d]-pyrimidin-6-karboxylové kyseliny (1515)

Sloučenina 1515 byla syntetizována způsobem podobným příkladu 17, použitím schématu syntézy IX s N-6 amino-cyklohexanolem za získání:



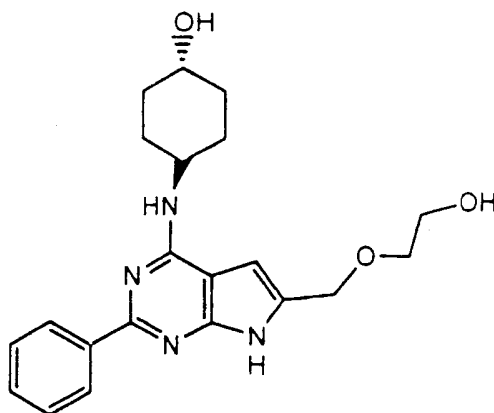
1515

MS (ES): 353 ($M^{+}+1$).

Příklad 32:

Syntéza 4-[6-(2-hydroxy-ethoxymethyl)-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3-d]-pyrimidin-4-ylamino]-cyklohexanolu (1516)

Sloučenina **1516** byla syntetizována způsobem podobným jako u sloučeniny **1513** použitím schématu syntézy IX s N-6 amino-cyklohexanolem za získání:

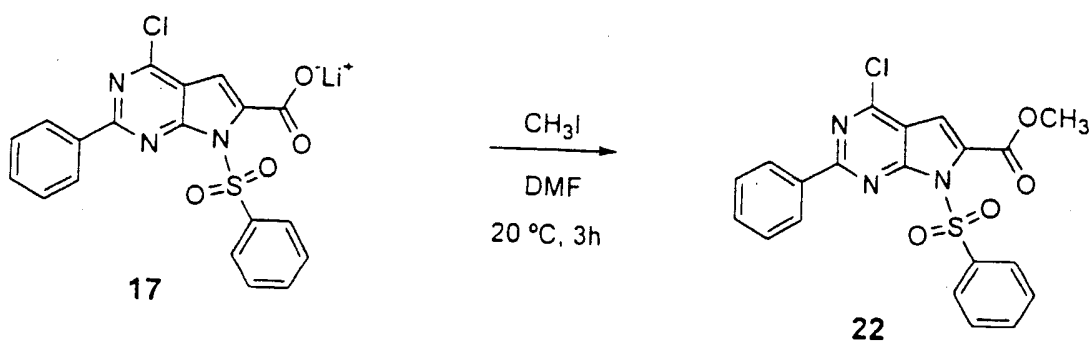


1516

MS (ES): 383 ($M^+ + 1$).

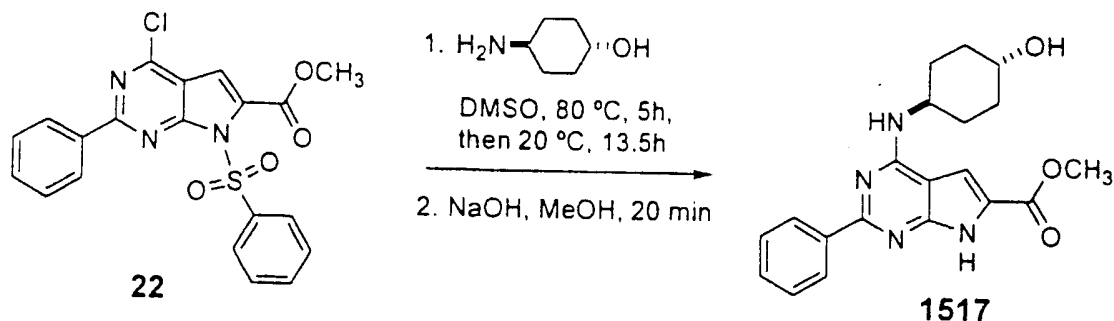
Příklad 33:

Syntéza 4-(4-hydroxy-cyklohexylamino)-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3-d]-pyrimidin-6-karboxylové kyseliny, methylesteru (**1517**)



Roztok lithné soli **17** (0,13 mmol) v suchém DMF (4 ml) je míchán s methyljodidem (0,1 ml, 1,6 mmol) při 20 °C pod argonem po 3 h. DMF je odpařen a je přidán vodný roztok chloridu amonného (15 ml). Směs je extrahována s EtOAc (3'15ml), spojené organické vrstvy jsou promyty

vodou (2'10 ml) a solankou (10ml) a jsou sušeny nad MgSO_4 . Filtrace a koncentrace poskytne 21 mg (38%) methylesteru **22**.



Roztok methylesteru **22** (24,5 mg, 0,057 mmol) a 4-trans-aminocyklohexanolu (66 mg, 0,57 mmol) v DMSO (1,5 ml) je zahříván pod dusíkem na 80 °C po 5 h; potom je zahřívání ukončeno a míchání při 20 °C pokračuje po 13,5 h. Do ochlazeného roztoku se přidá 4% vodná kyselina octová (10 ml) a směs je extrahována s EtOAc (3'10 ml). Spojené organické vrstvy jsou promyty s 4% vodnou kyselinou octovou (10 ml), vodou (10 ml) 2N NaOH (10 ml), vodou (10 ml) a solankou (10 ml) a jsou sušeny nad MgSO_4 . Do roztoku surového materiálu získaného po filtraci a koncentrování (^1H NMR indikuje asi 50% odstranění benzensulfonylových skupin) v THF (2 ml) je přidán roztok NaOH v MeOH (0,5 ml 5M roztoku, 2,5 mmol) při teplotě okolí. Po 20 min jsou přidány voda a nasycený roztok NaHCO_3 (5 ml každý), a směs je extrahována s EtOAc (4'15 ml). Spojené organické vrstvy jsou promyty s 2N NaOH (10 ml), vodou (10 ml) a solankou (10 ml) a jsou sušeny nad MgSO_4 . Chromatografie surového materiálu, získaná po filtraci a koncentraci na silikagelu, promýváním s hexanem/EtOAc 1:1 – 1:2 poskytne výtěžek 8,6 mg (41 %) **1517** jako bílé pevné látky, t.t. 225-227 °C.

^1H -NMR (CD_3OD): d. 1,38-1,62 (m, 4H), 1,95-2,10 (m, 2H), 2,10-2,25 (m, 2H), 3,55-3,70 (m, 1H), 3,91(s, 3H), 4,20-4,35 (m, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,35-7,47 (m, 3H), 8,35-8,42 (m, 2H);

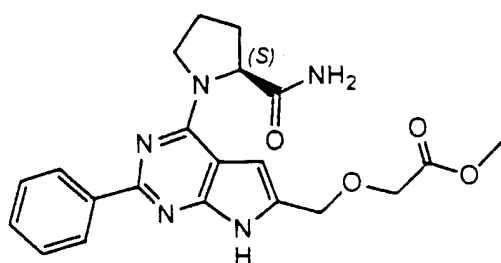
IR (pevné látky): $\nu = 3352 \text{ cm}^{-1}$, 3064, 2935, 2860, 1701, 1605, 1588, 1574, 1534, 1447, 1386, 1333, 1263, 1206, 1164, 1074, 938, 756, 705;

MS (ES): 367 (MH).

Příklad 34:

Syntéza [4-(2-karbamoyl-pyrrolidin-1-yl)-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3-d]-pyrimidin-6-ylmethoxy]octové kyseliny, methylesteru (1518)

Sloučenina **1518** byla syntetizována způsobem podobným příkladu 26 použitím prekursoru sloučeniny **12** za získání:



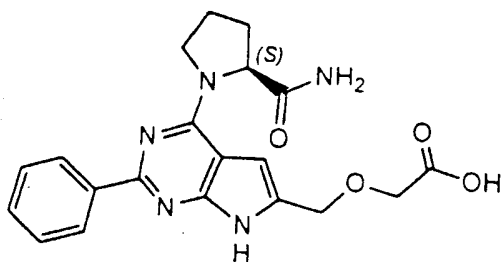
1518

MS (ES) : 410 (M ++1).

Příklad 35:

Syntéza [4-(2-karbamoyl-pyrrolidin-1-yl)-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3-d]-pyrimidin-6-ylmethoxy]octové kyseliny (1519)

Sloučenina **1519** byla syntetizována způsobem podobným jako sloučenina **1518**, přičemž methylesterová skupina byla hydrolyzovaná s bází za získání:

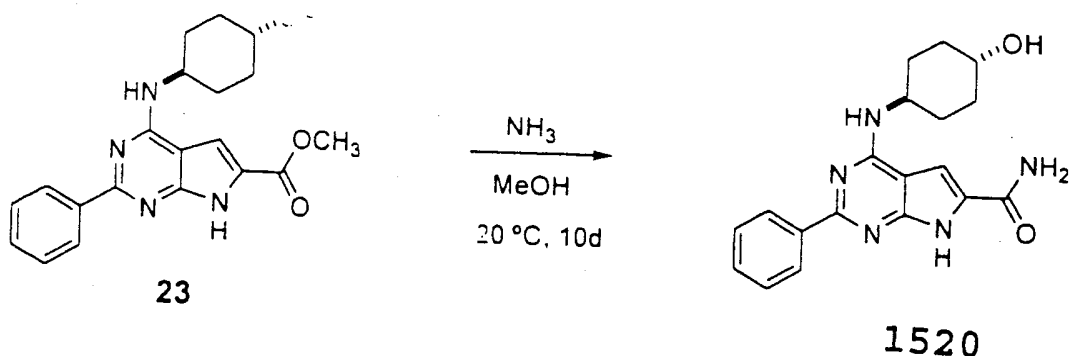


1519

MS (ES) : 396 ($M^+ + 1$).

Příklad 36:

Syntéza 4-(4-hydroxy-cyklohexylamino)-2-fenyl-7H-pyrrol[2,3-d]-pyrimidin-6-karboxylové kyseliny, amidu (1520)



Plynný amoniak je kondenzován do roztoku pyrrolpyrimidinu **23** (7,8 mg, 0,024 mmol) v methanolu (96 ml), ochlazeném suchým ledem/ acetonem, až do dosažení celkového objemu 12 ml. Po míchání po 10 při 20 °C jsou rozpouštědla odpařena a zůstatek je purifikován preparativní TLC na silikagelu, promýváním s 5% MeOH v CH_2Cl_2 . Materiál takto získaný je rozetřen s etherem za získání 6,5 mg (88%) amidu **1520** jako bílé pevné látky, t.t. 210 – 220 °C (dekom.).

$^1\text{H-NMR}(\text{CD}_3\text{OD})$: δ = 1,40-1,60 (m, 4H), 2,00-2,15 (m, 2H), 2,15-2,25 (m, 2H), 3,55-3,70 (m, 1H), 4,20-4,35 (m, 1H), 7,16 (s, 1H), 7,35-7,47 (m, 3H), 8,34-8,40 (m, 2H);

IR (pevné látky): ν = 3358 cm^{-1} , 3064, 3025, 2964, 2924, 2853, 1652, 1593, 1539, 1493, 1452, 1374, 1326, 1251, 1197, 1113, 1074, 1028, 751, 699;

MS (ES): 352 (MH).

Aktivita sloučenin

Saturace adenosin 1 (A₁) receptor subtypu a konkurence radioligandové vazebnosti byly prováděny pro sloučeniny 1505, 1506, 1507, 1508, 1509, 1510, 1511, 1512, 1513, 1514, 1516, 1517, 1518, 1519 a 1520, jak je zde popsáno *inter alia* v tomto popisu. Všechny z výše zmiňovaných sloučenin se vyrovnaly nebo překonaly A₁ receptor vazebnou afinitu referenčních sloučenin 1318 nebo 1319, jak je zde popsáno, a *inter alia* v tabulce 13 v tomto popisu.

Rozpustnost výše uvedených sloučenin, uvedených v tabulce 18, ve vodě se očekává lepší než u referenčních sloučenin 1318 nebo 1319 díky jejich hodnotám cLogp, které byly vypočteny použitím počítačového programu CS ChemDeaw, ChemDraw Ultra ver.6.0, 1999, jak poskytl CambridgeSoft Corporation, 100 Cambridge Park Drive, Cambridge, MA 02140.

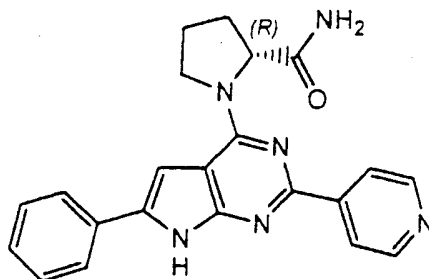
Sloučeniny specifické k A₁ receptoru uvedené v tabulce 18 měly nižší cLogp hodnoty, mezi asi 1,5 až asi 3,4, ve srovnání s referenčními sloučeninami 1318 nebo 1319 s cLogp hodnotou kolem 3,8. Nebylo předpokládáno, že více polární A₁ receptorové sloučeniny uvedené v tabulce 18 mající nižší hodnoty cLogp než referenční sloučeniny 1318 nebo 1319, by si ještě udržely účinnost a A₁ receptorovou vazebnost ve srovnání s těmito referenčními sloučeninami.

Tabulka 18

Sloučenina	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

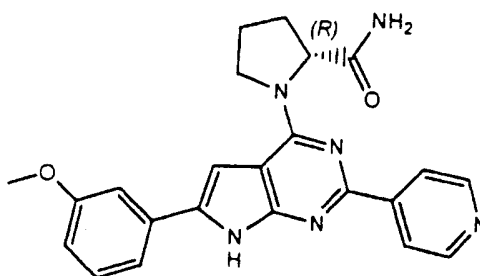
Následující stránky se týkají dalších sloučenin specifických A_{2a} receptoru

Tento vynález poskytuje sloučeninu mající strukturu:



1609

Tento vynález také poskytuje sloučeninu mající strukturu:



1610

V dalším dalším provedení vynález poskytuje způsob léčení nemoci spojené s A_{2a} adenosin receptorem u subjektu, zahrnující podávání subjektu terapeuticky účinného množství sloučenin 1609 nebo 1610.

Vynález také poskytuje výše uvedený postup, kde subjektem je savec.

Vynález také poskytuje výše uvedený postup, kde savcem je člověk.



Vynález také poskytuje způsob léčení nemoci spojené s A_{2a} adenosin receptorem u subjektu, kde A_{2a} adenosin receptor je spojen s pohybovou aktivitou, vasodilací, inhibicí destiček, neutrofilní generací peroxidu, kognitivní nemocí, senilní demencí nebo Parkinsonovou nemocí.

Vynález poskytuje výše uvedený způsob, kde sloučenina léčí nemoc stimulací adenylat cyklasy.

Vynález také poskytuje ve vodě rozpustné proléčivo sloučeniny 1609 nebo 1610, kde ve vodě rozpustné proléčivo je metabolizováno in vivo na aktivní léčivo, které selektivně inhibuje A_{2a} adenosin receptor.

Vynález také poskytuje ve vodě rozpustné proléčivo sloučeniny 1609 nebo 1610, kde proléčivo je metabolizováno in vivo hydrolýzou, která je katalyzovaná esterásou.

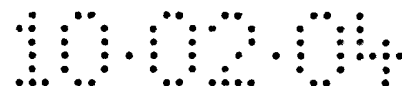
Vynález také poskytuje farmaceutický prostředek zahrnující výše uvedené ve vodě rozpustné proléčivo sloučeniny 1609 nebo 1610 a farmaceuticky přijatelný nosič.

Vynález také poskytuje způsob inhibice aktivity A_{2a} adenosin receptoru v buňkách, který zahrnuje uvedení do kontaktu buněk se sloučeninami 1609 nebo 1610.

Vynález také poskytuje způsob inhibice aktivity A_{2a} adenosin receptoru v buňkách, který zahrnuje uvedení do kontaktu buněk se sloučeninami 1609 nebo 1610, kde sloučeninou je antagonist a uvedeného A_1 adenosin receptoru.

Vynález také poskytuje výše uvedený způsob, kde buňkou je lidská buňka.

Vynález také poskytuje výše uvedený způsob v lidských buňkách, kde sloučeninou je antagonist A_{2a} adenosin receptorů.



Vynález také poskytuje farmaceutický prostředek zahrnující terapeuticky účinné množství sloučeniny 1609 nebo 1610 a farmaceuticky přijatelný nosič.

Vynález také poskytuje farmaceutický prostředek, kde terapeuticky účinné množství je účinné pro léčení Parkinsonovy nemoci a nemoci spojených s pohybovou aktivitou, vasodilatací, inhibicí destiček, neutrofilním generováním hyperoxidu, kognitivní chorobou, nebo senilní demencí.

Vynález také poskytuje farmaceutický prostředek, kde farmaceutickým prostředkem je oftalmická formulace.

Vynález také poskytuje výše uvedený farmaceutický prostředek, kde farmaceutický prostředek je periokulární, retrobulbární nebo intraokulární injekční formulace.

Vynález poskytuje výše uvedený farmaceutický prostředek, kde uvedeným farmaceutickým prostředkem je systémická formulace.

Vynález také poskytuje výše uvedený farmaceutický prostředek, kde uvedeným farmaceutickým prostředkem je chirurgický výplachový roztok.

Vynález také poskytuje kombinační terapii pro Parkinsonovu chorobu, zahrnující sloučeniny 1609 nebo 1610 a kterýkoliv z dopaminových enhancerů.

Vynález také poskytuje kombinační terapii pro rakovinu, zahrnující sloučeniny 1609 nebo 1610 a kteroukoliv z cytotoxických látek.

Vynález také poskytuje kombinační terapii pro glaukom, zahrnující sloučeniny 1609 nebo 1610 a agonistu prostaglandinu, muskrinní agonistu nebo β -2 antagonistu.

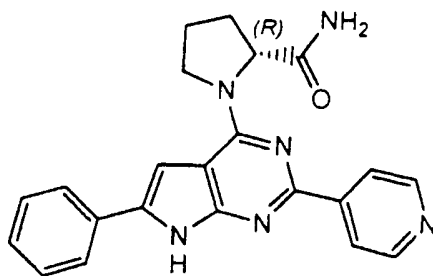
Vynález také poskytuje balený farmaceutický prostředek pro léčení nemocí spojených s A_{2a} adenosin receptorem u subjektu, zahrnující:

- a) kontejner nesoucí terapeuticky účinné množství sloučeniny 1609 nebo 1610; a
- b) instrukce pro použití uvedené sloučeniny při léčení uvedené nemoci u subjektu.

Příklady doložení:

Příklad 41: Syntéza 1-(6-fenyl-2-pyridin-4-yl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny, amidu (1609)

Sloučenina 1609 byla syntetizována reakcí L-prolinamidu s příslušným chloridovým meziproduktem popsaným ve schématu syntézy II za získání:



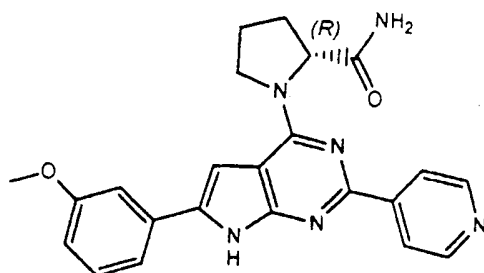
(1609)

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 1,95-2,15 (m, 4H), 4,00 (brs, 1H), 4,15 (brs, 1H), 4,72 (brs, 1H), 6,90 (brs, 1H), 7,19 (brs, 1H), 7,30 (t, 1H, $J = 7,0$ Hz), 7,44 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz), 7,59 (s, 1H), 7,92 (brs, 2H), 8,26 (d, 2H, $J = 6,2$ Hz), 6,85 (d, 2H, $J = 6,2$ Hz);

MS (ES): 384,9 ($\text{M}^+ + 1$); t.t. = 280-316 °C (dekomp.)

Příklad 42: Syntéza 1-[6-(3-methoxy-fenyl)-2-pyridin-4-yl-7H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny, amidu (1610)

Sloučenina **1610** byla syntetizována reakcí L-prolinamidu s příslušným chloridovým meziproduktem popsáným ve schématu syntézy II za získání:



(1610)

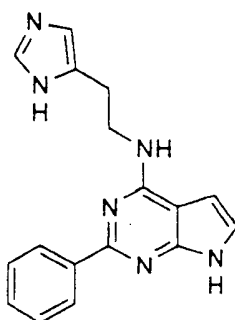
$^1\text{H-NMR}$ ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 2,07 (m, 4H), 3,85 (s, 3H), 4,02 (m, 1H), 4,17 (m, 1H), 4,75 (m, 1H), 6,89 (m, 1H), 7,00 (s, 1H), 7,23 (s, 1H), 7,35 (t, 1H, $J = 8,2$ Hz), 7,53 (s, 2H), 7,60 (s, 1H), 8,28 (d, 2H, $J = 5,8$ Hz), 8,67 (d, 2H, $J = 5,8$ Hz), 12,37 (s, 1H); MS (ES): 415,0 ($\text{M}^+ + 1$).

Aktivita sloučenin

Kompetitivní vazebnost radioligandu adenosin 2a (A2a) receptor subtypu se prováděla pro sloučeniny 1609 a 1610 jak je popsáno zde a inter alia v tomto popisu. U sloučenin 1609 a 1610 bylo nalezeno, že mají A2a receptor vazebnou afinitu a selektivitu.

Následující stránky se týkají dalších sloučenin specifických k A3 receptoru

Tento vynález také poskytuje sloučeninu mající strukturu:





V dalším provedení vynález poskytuje způsob inhibice aktivity A_3 adenosin receptoru v buňkách, který zahrnuje uvedení do kontaktu buňky se sloučeninou 1720.

V dalším provedení poskytuje vynález způsob inhibice aktivity A_3 adenosin receptoru v buňkách, kde sloučenina je antagonistou A_3 adenosin receptoru.

V dalším provedení vynález poskytuje výše uvedený postup inhibice aktivity A_3 adenosin receptoru v buňkách, kde buňkou je lidská buňka.

V dalším provedení vynález poskytuje výše uvedený postup inhibice aktivity A_3 adenosin receptoru v buňkách, kde buňkou je lidská buňka a kde sloučenina je antagonistou A_3 adenosin receptorů.

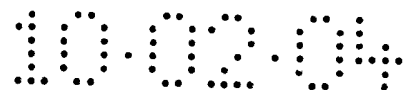
V ještě dalším provedení vynález poskytuje způsob léčení poškození očí u subjektu, který zahrnuje podávání subjektu prostředku obsahujícího terapeuticky účinné množství sloučeniny 1720.

V ještě dalším provedení poskytuje vynález výše uvedený postup, kde poškození zahrnuje poranění sítnice nebo optického nervu.

V ještě dalším provedení poskytuje vynález léčbu glaukomu, zahrnující podávání subjektu terapeuticky účinného množství sloučeniny 1720.

V ještě dalším provedení poskytuje vynález léčbu glaukomu zahrnující jeden nebo více antagonistů receptoru adenosinu, přednostně zahrnující antagonistu adenosinu A_3 receptoru /přednostně N-6 substituovaný 7-deazapurin, výhodněji [2-(3H-imidazol-4-yl)-ethyl]-(2-fenyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-amin/.

V alternativním provedení vynález poskytuje kombinační terapii glaukomu zahrnující antagonistu receptoru A_3 adenosinu (přednostně N-6



substituovaný 7-deazapurin, výhodněji [2-(3H-imidazol-4-yl)-ethyl]-(2-fenyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-amin)) a jednu nebo více dalších sloučenin zvolených ze skupiny sestávající z beta adrenoceptorových antagonistů (tedy beta adrenergických antagonistů nebo t-blokátorů (jako je timolol maleat, betaxolol, carteolol, levobunolol, metipranol, L-653328 (acetátový ester L-652698), beta 1 adrenoreceptor antagonisté), alfa-2-adrenoceptor agonisté (jako aplaclonidin, brimonidin, AGN-195795, AGN-190837 (analog Bay-a-6781)), inhibitory karbonatdehydratasy (brinzolamid, dorzolamid, MK-927 (inhibitor lidské karbonatdehydratasy II isoenzymu), inhibitory karbonatdehydratasy IV isoenzymu), cholinergický agonista (jako muskarinní cholinergický agonista, carbachol, pilocarpin HCl, pilocarpin nitrát, pilocarpin, pilocarpinová proléčiva (jako DD-22A)), prostaglandiny a agonisté prostaglandinových receptorů (jako latanoprost, unoproston isopropyl, PGF2 alfa agonisté, agonisté prostanoid-selektivního FP receptoru, PG agonisté jako hypotenzní prostamidy), angiotensin konvertující enzym (ACE) inhibitory (jako Spirapril, spiraprilat), antagonisté AMPA receptoru, 5-HT agonisté (jako selektivní 5-HT 1A receptor agonista, jako je MKC-242 (5-3-[(2S)-1,4-benzodioxan-2-yl-methyl)amino]propoxy-1,3-benzodioxol HCl), inhibitory angiogeneze (jako steroid anecortave), NMDA antagonisté (jako HU-211, memantin, kanabinoidní NMDA-receptor agonista dexamabinol, proléčiva a analogy dexamabinolu, NR2B-selektivní antagonisté (jako eliprotil (SL-82.0715)), inhibitory reninu (jako CGP-38560, SR-43845), agonisté kanabinoidního receptoru (jako tetrahydrokanabinol (THC) a THC analogy, agonisté selektivní CB2 kanabinoidního receptoru (jako L-768242, L-759787), sloučeniny jako je anandamid, který váže oba, k mozku-specifické CB1 receptory a periferní CB2 receptory), antagonisté angiotensin receptoru (jako antagonisté angiotensin II receptoru (jako CS-088), selektivní antagonisté angiotensin II AT-I receptoru, jako je losartan draselný), hydrochlorothiazid (HCTZ), agonisté somatostatinu (jako nepeptidový somatostatin agonista NNC-26-9100), antagonisté glukokortikoidu, inhibitory degranulace žírných buněk (jako nedocromil), blokátory alfa-adrenergických receptorů (jako dapiprazol, alfa-2 adrenoreceptor antagonisté, alfa 1 adrenoreceptor antagonisté (jako bunazosin), alfa-2

adrenoreceptor antagonisté, tromboxan A2 mimetika, inhibitory protein-kinasy (jako H7), prostaglandin F deriváty (jako S-1033), prostaglandin-2 alfa antagonisté (jako PhXA-34), dopamin D1 a 5-HT2 agonisté (fenoldopam), látky uvolňující oxid dusičný (jako NCX-904 nebo NCX-905, deriváty timololu uvolňující oxid dusičný), 5-HT2 antagonisté (jako sarpogrelat), NMDA antagonisté (jako proléčiva a analogy dexamabinolu), alfa 1 adrenoreceptor antagonisté (jako bunazosin), inhibitory cyklo-oxygenasy (jako diklofenak nebo nesteroidní sloučenina nepafenak), inosin, agonisté dopamin D2 receptoru a alfa 2-adrenoreceptoru (jako talipexol), antagonisté dopamin 1 receptoru a agonisté D2 receptoru (jako SDL-GLC-756), antagonisté receptoru vasopresinu (jako antagonisté vasopresin V2 receptoru (jako SR-121463)), endotelin antagonisté (jako TBC-2576), 1-(3-hydroxy-2-fosfonylmethoxypropyl)cytosin (HPMPC) a příbuzné analogy a proléčiva, ligandy receptoru thyroidního hormonu (jako KB-130015), muskarinní M1 agonisté, antagonisté NMDA-receptoru (jako kanabinoidní NMDA-receptor antagonistista dexamabinol), PG agonisté jako hypotensní lipidy, prostamidy, blokátory sodných kanálů, NMDA antagonisté, blokátory kanálů iontů se směsnými účinky, kombinace beta adrenoreceptor antagonisty a PGF2 alfa agonisty (jako latanoprostu a timololu), aktivátory guanylat cyklasy (jako atrialní natriuretický peptid (ANP) nebo nepeptidová mimetika, inhibitory ANP neutrální endopeptidasy, nitrovasodilatory (jako nitroglycerin, hydralazin, nitroprusid sodný), modulátory endotelin receptoru (jako ET-1 nebo nepeptidová mimetika, sarafotoxin-S6-c), ethakrynová kyselina, další analogy fenoxyoctové kyseliny (jako indakrinon, tikrynafen), přerušovače aktinu (jako latrunculin), blokátory vápníkových kanálů (jako verapamil, nifedipin, brovinkamin, nivaldipin) a neuroprotektivní látky.

Kombinační léčba glaukomu zahrnuje sloučeninu 1702 a jednu nebo více sloučenin zvolených ze skupiny sestávající z antagonistů beta adrenoreceptoru, agonistů alfa-2 adrenoreceptoru, inhibitorů karbonatdehydratasy, cholinergických agonistů a agonistů prostaglandinového receptoru.

V dalším provedení vynález poskytuje farmaceutický prostředek zahrnující terapeuticky účinné množství sloučeniny 1720 a farmaceuticky přijatelný nosič.

V ještě dalším provedení poskytuje vynález balený farmaceutický prostředek pro léčení nemoci spojené s A₃ adenosin receptorem u subjektu, zahrnující

- a) zásobník nesoucí terapeuticky účinné množství sloučeniny 1720; a
- b) instrukce pro použití uvedené sloučeniny pro léčení uvedené nemoci u subjektu.

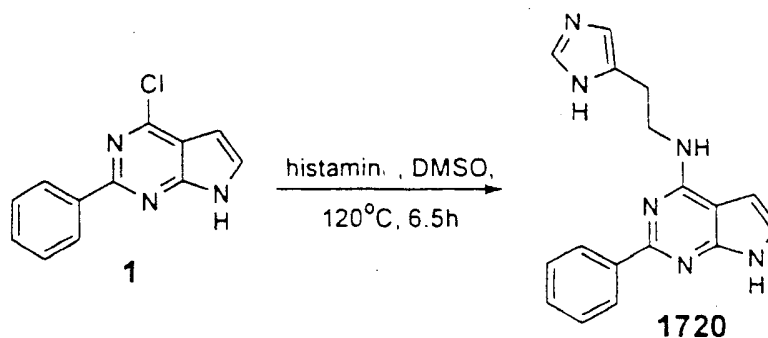
V dalším provedení poskytuje vynález způsob přípravy prostředku, který obsahuje sloučeninu 1720, způsob zahrnující smísení sloučeniny 1702 s vhodným nosičem.

V dalším provedení vynález poskytuje farmaceuticky přijatelnou sůl sloučeniny 1720, kde farmaceuticky přijatelná sůl obsahuje anion zvolený ze skupiny sestávající z maleinového, fumarového, vinného, octového, fosforečného a mesylátu.

Doložení příklady

Příklad 43: Syntéza [2-(3H-imidazol-4-yl)ethyl]-(2-fenyl-7H-pyrrol-[2,3-d]-pyrimidin-4-yl)aminu (1720)

Sloučenina 1720 byla syntetizována použitím prekursoru sloučeniny 1 schématu syntézy VII za získání:



Aryl chlorid **1** (400 mg, 1,50 mmol), DMSO (10 ml) a histamin jsou spojeny a zahřívány na 120 °C pod dusíkem. Po 6,5 h je reakční směs ochlazená na teplotu místnosti a rozdělena mezi EtOAc a vodu. Vrstvy jsou odděleny a vodná vrstva je extrahována s EtOAc (3x). Spojené organické vrstvy jsou promyty solankou (2x), sušeny nad MgSO_4 , filtrovány a koncentrovány za získání 494 mg hnědé pevné látky. Pevná látka je promyta s ledovým MeOH a rekrystalizována z MeOH za získání 197 mg (43%) téměř bílé pevné látky (**1720**).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 3,05 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz), 3,94 (t, 32H, $J = 7,0$ Hz), 6,50 (d, 1H, $J = 3,5$ Hz), 6,88 (brs, 1H), 7,04 (d, 1H, $J = 3,5$ Hz), 7,42 (m, 3H), 7,57 (s, 1H), 8,34 (m, 2H);

MS (ES): 305,1 (M+1); t.t. 234-235 °C.

Aktivita sloučenin

Kompetitivní vazebnost radioligandu adenosin 3 (A_3) receptoru se prováděla pro sloučeninu **1720**, jak je popsáno zde a inter alia v tomto popisu. U sloučeniny **1720** bylo nalezeno, že mají A_3 receptor vazebnou afinitu vyšší než 10násobek u referenční sloučeniny **1308**, jak je zde popsána a, inter alia, v tomto popisu.

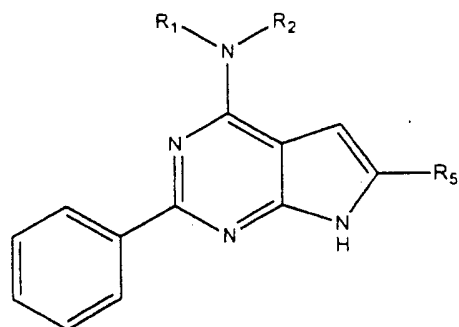
Začleněním prostřednictvím odkazu

Všechny patenty, zveřejněné patentové přihlášky a jiné odkazy zde popsané jsou tímto výslovně začleněny formou odkazu.

Ekvivalenty

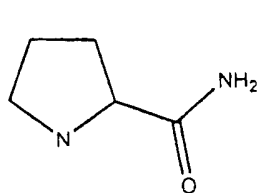
Odborník znalý dané oblasti techniky pozná nebo bude schopen zjistit použitím ne více než rutinního experimentování mnoho ekvivalentů konkrétních provedení vynálezu, jak jsou zde konkrétně popsány. Tyto ekvivalenty jsou považovány za zahrnuté do rozsahu následujících nároků.

Tento vynález dále poskytuje sloučeniny mající vzorec XI:

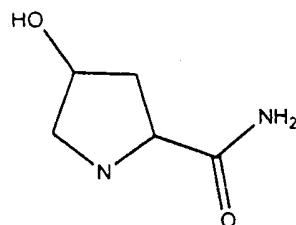


XI

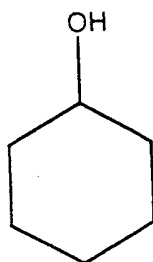
kde R_1NR_2 dohromady tvoří kruh mající strukturu:



nebo



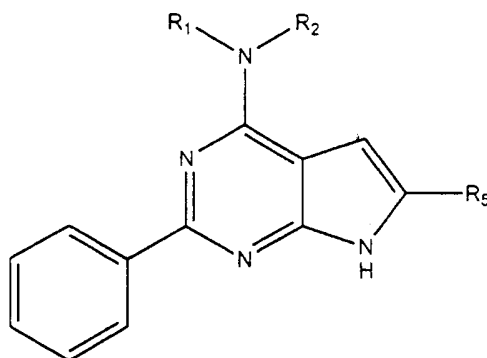
nebo R_1 je H a R_2 je:



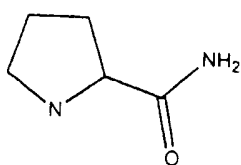
R_5 je H, nebo substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl nebo alkylaryl.

PATENTOVÉ NÁROKY

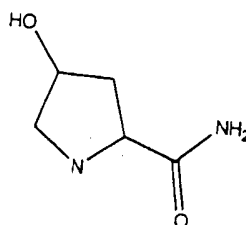
1. Sloučenina mající strukturu:



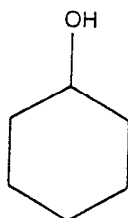
kde R_1NR_2 společně tvoří kruh mající strukturu:



nebo

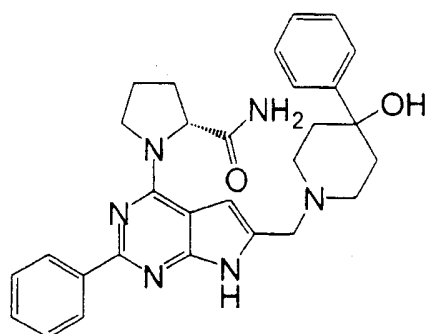


nebo R_1 je H a R_2 je:

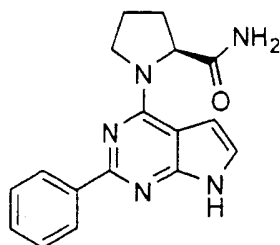


R_5 je H, nebo substituovaný nebo nesubstituovaný alkyl nebo alkylaryl.

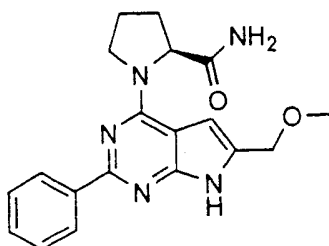
2. Sloučenina podle nároku 1, mající strukturu:



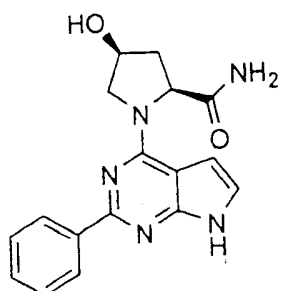
3. Sloučenina podle nároku 1, mající strukturu:



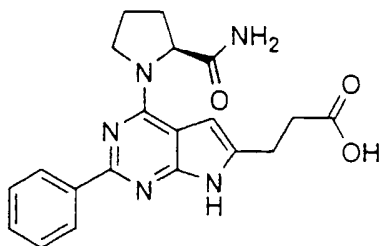
4. Sloučenina podle nároku 1, mající strukturu:



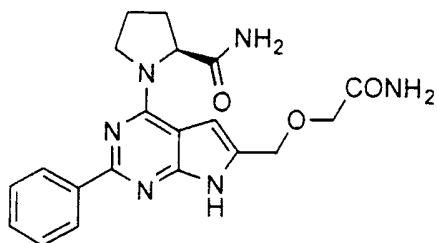
5. Sloučenina podle nároku 1, mající strukturu:



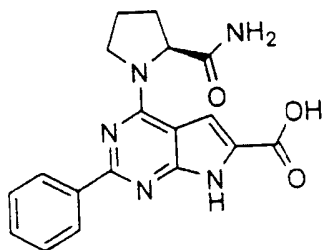
6. Sloučenina podle nároku 1, mající strukturu:



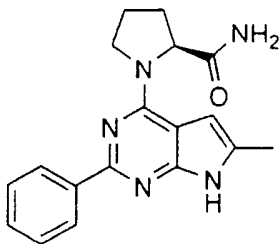
7. Sloučenina podle nároku 1, mající strukturu:



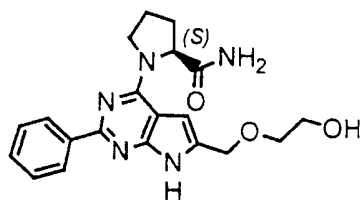
8. Sloučenina podle nároku 1, mající strukturu:



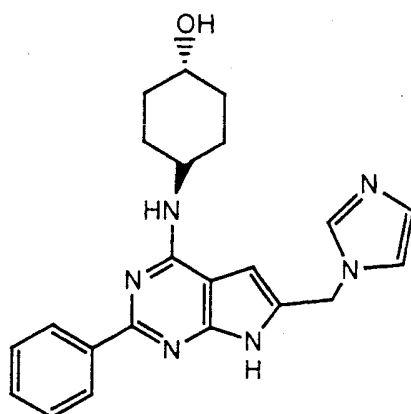
9. Sloučenina podle nároku 1, mající strukturu:



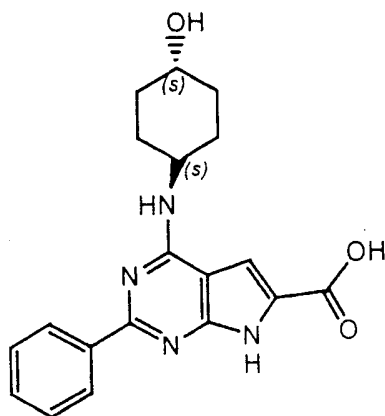
10. Sloučenina podle nároku 1, mající strukturu:



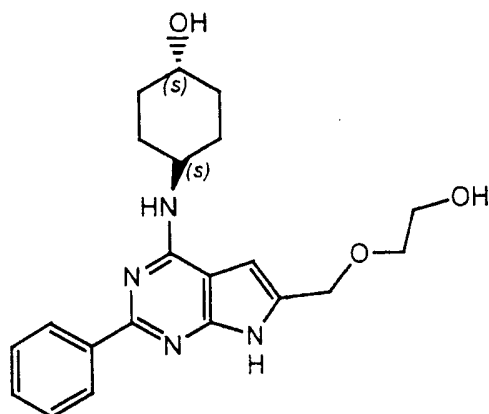
11. Sloučenina podle nároku 1, mající strukturu:



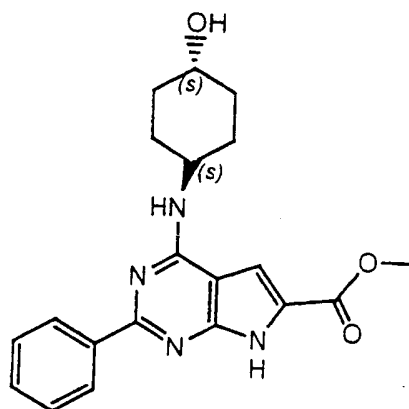
12. Sloučenina podle nároku 1, mající strukturu:



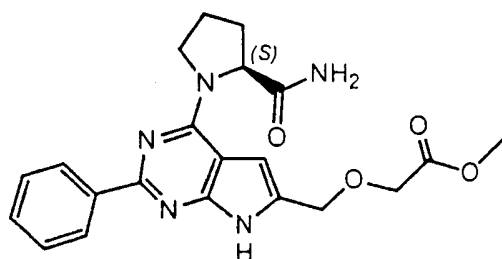
13. Sloučenina podle nároku 1, mající strukturu:



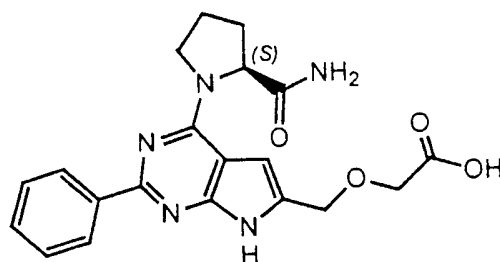
14. Sloučenina podle nároku 1, mající strukturu:



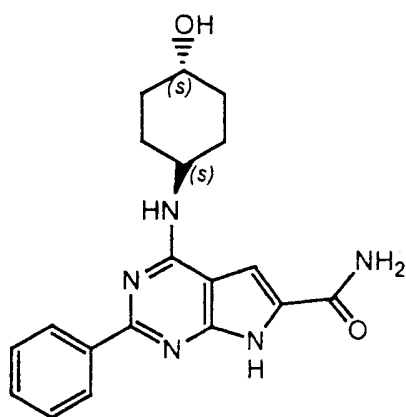
15. Sloučenina podle nároku 1, mající strukturu:



16. Sloučenina podle nároku 1, mající strukturu:



17. Sloučenina podle nároku 1, mající strukturu:



18. Způsob léčení nemoci spojené s A_1 adenosin receptorem u subjektu, zahrnující podávání subjektu terapeuticky účinného množství sloučeniny podle nároku 1.

19. Způsob podle nároku 18, kde subjektem je savec.

20. Způsob podle nároku 19, kde savcem je člověk.

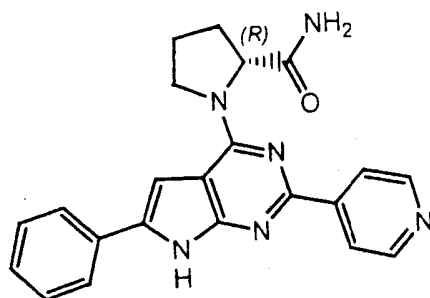
21. Způsob podle nároku 18, kde uvedený A_1 adenosin receptor je spojený s kognitivní nemocí, poškozením ledvin, srdeční arytmií, respiračním epitelem, uvolněním přenašeče, uklidněním, vasokonstrikcí, bradykardií, negativní srdeční inotropií a dromotropií, branchokonstrikcí, neutrofilní chemotaxií, stavem refluxu nebo vředovitým stavem.

22. Ve vodě rozpustné proléčivo vyznačující se tím, že obsahuje sloučeniny podle nároku 1, kde ve vodě rozpustné proléčivo je metabolizováno in vivo za vzniku aktivního léčiva, které selektivně inhibuje A_1 adenosin receptor.
23. Proléčivo podle nároku 22 vyznačující se tím, že uvedené proléčivo je metabolizováno in vivo hydrolýzou katalyzovanou esterasou.
24. Farmaceutický prostředek vyznačující se tím, že obsahuje proléčivo podle nároku 22 a farmaceuticky přijatelný nosič.
25. Způsob inhibice aktivity A_1 adenosin receptoru v buňce, který zahrnuje uvedení buňky do kontaktu se sloučeninou podle nároku 1.
26. Způsob podle nároku 25, kde sloučenina je antagonistou A_1 adenosin receptoru.
27. Způsob podle nároku 25, kde buňkou je lidská buňka.
28. Způsob podle nároku 27, kde sloučeninou je antagonist A_1 adenosin receptoru.
29. Způsob podle nároku 18, kde uvedenou nemocí je astma, chronická obstrukční plicní choroba, alergická rinitida nebo poruchy horní respirace.
30. Způsob podle nároku 29, kde subjektem je člověk.
31. Způsob podle nároku 30, kde uvedená sloučenina je antagonist A_1 adenosin receptoru.
32. Kombinační léčba astmatu zahrnující sloučeninu podle nároku 1 a steroid, β_2 agonistu, glukokortikoid, antagonistu lucotrienu nebo antikolinergický agonist.

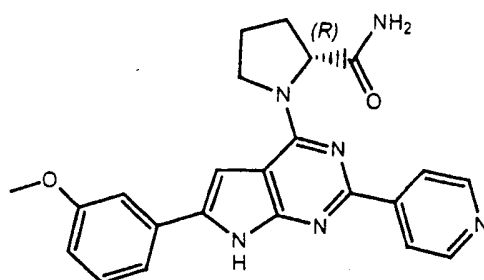
33. Farmaceutický prostředek vyznačující se tím, že obsahuje terapeuticky účinné množství sloučeniny podle nároku 1 a farmaceuticky přijatelný nosič.
34. Způsob podle nároku 29, kde uvedenou respirační poruchou je astma, alergická rinitida nebo chronická obstrukční plicní nemoc.
35. Farmaceutický prostředek podle nároku 33 vyznačující se tím, že uvedený farmaceutický prostředek je v periokulární, retrobulbární nebo intraokulární injekční formulaci.
36. Farmaceutický prostředek podle nároku 33, vyznačující se tím, že uvedený farmaceutický prostředek je systémová formulace.
37. Farmaceutický prostředek podle nároku 33, vyznačující se tím, že uvedeným farmaceutickým prostředkem je chirurgický výplachový roztok.
38. Balený farmaceutický prostředek pro léčení nemocí spojených s A_1 adenosin receptorem u subjektu, vyznačující se tím, že zahrnuje:
- (a) kontejner obsahující terapeuticky účinné množství sloučeniny podle nároku 1, a
 - (b) instrukci pro použití uvedené sloučeniny pro léčení uvedené nemoci u subjektu.
39. Farmaceuticky přijatelná sůl sloučeniny podle nároku 1.
40. Farmaceuticky přijatelná sůl podle nároku 39, kde farmaceuticky přijatelná sůl sloučeniny podle nároků 6, 8, 12, 15 nebo 16 obsahuje kation zvolený ze skupiny sestávající ze sodíku, vápníku a amonia.

41. Způsob podle nároku 18, kde A_1 adenosin receptor je spojen s kognitivním srdečním selháním.

42. Sloučenina mající strukturu:



43. Sloučenina mající strukturu:



44. Způsob léčení nemoci spojené s A_1 adenosin receptorem u subjektu, zahrnující podávání terapeuticky účinného množství sloučeniny podle nároku 42 nebo 43 subjektu.

45. Způsob podle nároku 44, kde subjektem je savec.

46. Způsob podle nároku 45, kde savcem je člověk.

47. Způsob podle nároku 46, kde uvedený A_1 adenosin receptor je spojen s pohybovou aktivitou, vasodilací, destičkovou inhibicí, tvorbou

neutrofilního hyperoxidu, kognitivní chorobou, senilní demencí nebo Parkinsonovou nemocí.

48. Způsob podle nároku 44, kde sloučenina léčí uvedené nemoci stimulováním adenylat-cykly.
49. Ve vodě rozpustné proléčivo sloučeniny podle nároku 42 nebo 43, kde uvedené ve vodě rozpustné proléčivo je metabolizováno in vivo na aktivní léčivo, které selektivně inhibuje A_1 adenosin receptor.
50. Proléčivo podle nároku 49, kde uvedené proléčivo je metabolizováno in vivo hydrolýzou katalyzovanou esterasou.
51. Farmaceutický prostředek vyznačující se tím, že obsahuje proléčivo podle nároku 49 a farmaceuticky přijatelný nosič.
52. Způsob inhibice aktivity A_1 adenosin receptoru v buňce, který zahrnuje kontaktování uvedené buňky se sloučeninou podle nároku 42 nebo 43.
53. Způsob podle nároku 52, kde sloučenina je antagonistu uvedeného A_1 adenosin receptoru.
54. Způsob podle nároku 53, kde buňkou je lidská buňka.
55. Způsob podle nároku 53, kde sloučenina je antagonistu A_1 adenosin receptorů.
56. Farmaceutický prostředek vyznačující se tím, že obsahuje terapeuticky účinné množství sloučeniny podle nároků 42 nebo 42 a farmaceuticky přijatelný nosič.

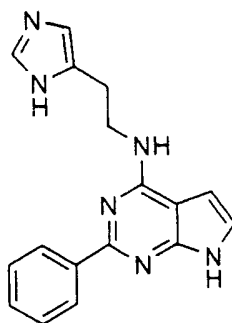
57. Farmaceutický prostředek podle nároku 56 vyznačující se tím, že uvedeně terapeuticky účinné množství je účinné pro léčení Parkinsonovy nemoci a nemocí spojených s pohybovou aktivitou, vasodilatací, destičkovou inhibicí, tvorbou neutrofilního hyperoxidu, kognitivní chorobou nebo senilní demencí.
58. Farmaceutický prostředek podle nároku 65 vyznačující se tím, že uvedený farmaceutický prostředek je oftalmická formulace.
59. Farmaceutický prostředek podle nároku 56, vyznačující se tím, že uvedený farmaceutický prostředek je periokulární, retrobulbární nebo intraokulární injekční formulace.
60. Farmaceutický prostředek podle nároku 56, vyznačující se tím, že uvedený farmaceutický prostředek je systémová formulace.
61. Farmaceutický prostředek podle nároku 56, vyznačující se tím, že uvedeným farmaceutickým prostředkem je chirurgický výplachový roztok.
62. Kombinační léčba pro Parkinsonovu chorobu zahrnující sloučeniny podle nároků 42 nebo 43 a jakékoliv dopaminové enhancery.
63. Kombinační léčba pro rakovinu, zahrnující sloučeninu podle nároku 42 nebo 43 a jakékoliv cytotoxické látky.
64. Kombinační léčba pro glaukom, zahrnující sloučeninu podle nároku 42 nebo 43 a prostaglandinový agonistu, muskrinní agonistu nebo β -2 antagonistu.
65. Balený farmaceutický prostředek pro léčení nemocí spojených s A_1 adenosin receptorem u subjektu, vyznačující se tím, že zahrnuje:

- (c) kontejner obsahující terapeuticky účinné množství sloučeniny podle nároku 42 nebo 43, a
- (d) instrukce pro použití uvedené sloučeniny pro léčení uvedené nemoci u subjektu.

66. Farmaceuticky přijatelná sůl sloučeniny podle nároku 42 nebo 43.

67. Farmaceuticky přijatelná sůl podle nároku 66, kde farmaceuticky přijatelná sůl sloučeniny podle nároku 41 nebo 42 obsahuje anion zvolený ze skupiny sestávající maleinového, fumarového, vinného, acetátového, fosfátového a mesylátového.

68. Sloučenina mající vzorec



69. Způsob inhibice aktivity A_3 adenosin receptoru v buňce, který zahrnuje kontaktování uvedené buňky se sloučeninou podle nároku 68.

70. Způsob podle nároku 69, kde sloučenina je antagonist A_3 adenosin receptoru.

71. Způsob podle nároku 69, kde buňkou je lidská buňka.

72. Způsob podle nároku 71, kde sloučenina je antagonist A_3 adenosin receptorů.

73. Způsob léčení poškození oka u subjektu, který zahrnuje podávání subjektu prostředku obsahujícího terapeuticky účinné množství sloučeniny podle nároku 68.
74. Způsob podle nároku 73, kde poškození zahrnuje poškození retinálního nebo optického čelního nervu.
75. Léčba glaukomu zahrnující podávání subjektu terapeuticky účinného množství sloučeniny podle nároku 68.
76. Kombinační léčba glaukomu zahrnující sloučeninu podle nároku 68 a jednu nebo více sloučenin zvolených ze skupiny sestávající z beta adrenoreceptor antagonistů, alfa-2 adrenoreceptor agonistů, inhibitorů karbonatdehydratasy, cholinergických agonistů, prostaglandinů a agonistů prostaglandinového receptoru, angioinhibitorů angiotensin konvertujících enzymů (ACE), antagonistů AMPA receptoru, 5-HT agonistů, inhibitorů angiogenese, NMDA antagonistů, inhibitorů reninu, agonistů konopného receptoru, antagonistů angiotensin receptoru, hydrochlorothiazidu (HCTZ), agonistů somatostatinu, glukokortikoidních antagonistů, inhibitorů degranulace žírných buněk, blokátorů alfa-adrenergických receptorů, antagonistů alfa-2 adrenoreceptoru, prostaglandin A2 mimetik, inhibitorů proteinkinasy, derivátů prostaglandinu F, antagonistů prostaglandin-2 alfa, agonistů dopaminu D1 a 5-HT₂, látek uvolňujících oxid dusičný, 5-HT₂ antagonistů, cyklooxygenasových inhibitorů, inosinu, agonistů dopamin D2 receptoru a alfa 2 adrenoreceptoru, antagonistů dopamin D1 receptoru a agonistů D2 receptoru, antagonistů vasopressin receptoru, antagonistů endothelinu, 1-(3-hydroxy-2-fosfonylmethoxypropyl)-cytosinu (HPMPC) a podobných analogů a proléčiv, ligandů receptoru thyroideálního hormonu, muskarinových M1 agonistů, blokátorů sodíkového kanálu, blokátorů iontového kanálu se směsným účinkem, kombinace beta adrenoreceptor antagonisty a PGF₂ alfa agonisty, aktivátorů guanylát cyklasy, nitrovasodilátorů, modulátorů endothelinového receptoru, ethakrynové kyseliny, dalších analogů

fenoxyoctové kyseliny, rozrušovačů aktinu, blokátorů vápníkového kanálu a neuroprotektivních látek.

77. Kombinační léčba glaukomu, zahrnující sloučeninu podle nároku 68 a jednu nebo více sloučenin zvolených ze skupiny sestávající z antagonistů beta adrenoreceptoru, agonistů alfa-2 adrenoreceptoru, inhibitorů karbonatdehydratasy, cholinergických agonistů a agonistů prostaglandinových receptorů.
78. Farmaceutický prostředek vyznačující se tím, že obsahuje terapeuticky účinné množství sloučeniny podle nároku 68 a farmaceuticky přijatelný nosič
79. Balený farmaceutický prostředek pro léčení nemoci spojené s A_3 adenosin receptorem u subjektu, vyznačující se tím, že zahrnuje:
- (a) kontejner obsahující terapeuticky účinné množství sloučeniny podle nároku 68,
 - (b) instrukce pro použití uvedené sloučeniny pro léčení uvedené nemoci u subjektu.
80. Způsob přípravy prostředku, který obsahuje sloučeninu podle nároku 68 vyznačující se tím, že postup zahrnuje smísení sloučeniny podle nároku 68 s vhodným nosičem.
81. Farmaceuticky přijatelná sůl sloučeniny podle nároku 68.
82. Farmaceuticky přijatelná sůl podle nároku 81, kde farmaceuticky přijatelná sůl obsahuje anion zvolený ze skupiny sestávající maleinového, fumarového, vinného, acetátového, fosfátového a mesylátového.