(19) SUOMI - FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 964218 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS**
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE PUBLIC

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 964218

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification
C07D 473/34 (2006.01)
A61K 31/435 (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01)
A61K 31/70 (2006.01)
A61K 31/7042 (2006.01)
A61K 31/7052 (2006.01)
A61K 31/7076 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 9/08 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)
C07D 471/04 (2006.01)
C07D 473/00 (2006.01)
C07H 19/04 (2006.01)
C07H 19/052 (2006.01)
C07H 19/16 (2006.01)

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **19.04.1995**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **18.10.1996**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **17.12.1996**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

(86) Kansainvälinen hakemus - Internationell ansökan - International application **19.04.1995 PCT/US1995/004800**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

19.04.1994 US 229882 P 03.10.1994 US 316761 P

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Aventis Pharmaceuticals Inc., 2110 East Galbraith Road, Cincinnati, OH 45215-6300, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Spada, Alfred P., Chalfont, PA 18914, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
2 • Fink, Cynthia A., Lebanon, NJ 08833, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
3 • Myers, Michael R., Reading, PA 19606, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Yhdisteitä, joilla on verenpainetta alentavia, sydäntä suojaavia, verettömyyttä vastustavia ja rasvaa hajottavia ominaisuuksia

Föreningar med blodtryckssänkande, hjärtskyddande, blodbrist motarbetande och fett sönderdelande egenskaper

(57) Tiivistelmä - Sammandrag - Abstract

Tämä keksintö koskee adenosiinijohdannaisia ja analogeja, jotka omaavat adenosiiniagonistiaktiivisuuden ja ovat käyttökelpoisia kohonneen verenpaineen vastaisina, kardiosuojaavina, iskemian vastaisina ja lipolyysin vastaisina aineina, farmaseuttisia koostumuksia, jotka käsittävät tällaisia yhdisteitä, ja niiden käyttöä kohonneen verenpaineen, myokardiaalisen iskemian hoitamisessa, iskeemisen vaurion ja myokardiaalisesta iskemiasta johtuvan myokardiaalisen infarktin koon parantamisessa, ja hyperlipidemian ja hyperkolesterolemian hoitamisessa, ja menetelmiä ja välituotteita, joita käytetään tällaisten yhdisteiden valmistuksessa.
Föreliggande uppfinning avser adenosinderivat och analoger, som är aktiva som adenosinagonister och som är användbara som antihypertensiva, hjärtskyddande, anti-ischemiska och antilipolytiska läkemedel, farmaceutiska kompositioner, som inkluderar dessa föreningar, och användning av dem vid behandling av hypertoni, myokardischemi, minskande av ischemisk skada och storleken av en myokardinfarkt orsakad av myokardischemi, och behandling av hyperli-pidemi och hyperkolesterolemi, och förfaranden och mellanprodukter för framställning av dessa föreningar.

Yhdisteitä, joilla on verenpainetta alentavia, sydäntä suojaavia, verettömyyttä vastustavia ja rasvaa hajottavia ominaisuuksia

Tämä hakemus on jatkohakemus samanaikaisesti vireillä olevasta US-hakemuksesta sarjanumero 08/316 761, jätetty 3.10.1994, joka on jatkohakemus US-hakemuksesta sarjanumero 08/229 882, jätetty 19.4.1994, josta on nyt luovuttu ja joka on jatkohakemus US-hakemuksesta sarjanumero 07/955 783, jätetty 2.10.1992, nyt US-patentti nro 5 364 562, myönnetty 15.11.1994, joka on jatkohakemus US-hakemuksesta sarjanumero 07/587 884, jätetty 25.9.1990, josta on nyt luovuttu.

Keksinnön taustaa

1. Keksinnön ala

Tämä keksintö koskee yhdisteitä, jotka on johdettu adenosiinista ja niiden analogeista, farmaseuttisia koostumuksia, jotka sisältävät tällaisia yhdisteitä, niiden käyttöä kohonneen verenpaineen, myokardiaalisen iskemian hoidossa, niiden käyttöä kardiosuojaavina aineina, jotka parantavat iskeemisen vaurion ja myokardiaalisesta iskemiasta johtuvan myokardiaalisen infarktin kokoa, ja niiden käyttöä lipolyysin vastaisina aineina, jotka alentavat plasman lipiditasoja, seerumin triglyseriditasoja ja plasman kolesterolitasoja, ja menetelmiä ja välituotteita, joita käytetään tällaisten yhdisteiden valmistuksessa.

Kohonnut verenpaine

Hypertensio, kohonneen verenpaineen sairaustila, vaikuttaa huomattavaan määrään ihmispopulaatiosta. Pysyvän kohonneen verenpaineen seurauksiin kuuluvat verisuonivaurio silmä-, munuais-, sydän- ja aivosysteemeihin, ja näiden komplikaatioiden riski kasvaa verenpaineen kasvaessa. Perustekijät, jotka kontrolloivat verenpainetta, ovat sydämen tuotto ja perifeerisen verisuonen resistenssi, jäl-

kimmäisen ollessa vallitseva yleinen mekanismi, jota kontrolloidaan erilaisilla vaikutuksilla. Sympaattinen hermosto säätelee perifeeristä verisuoniresistenssiä suorien vaikutusten kautta α- ja ß-adrenergisiin reseptoreihin, samoin kuin epäsuorien vaikutuksien kautta reniinin vapautumiseen. Lääketerapia on suunnattu näiden verenpaineen säätelysysteemien spesifisiin komponentteihin, joissa on eri toimintamekanismit, jotka määrittelevät useita lääkeluokkia, mukaan lukien diureetit, ß-adrenergiset reseptoriantagonistit (ß-salpaajat), angiotensiinikonvertaasi (ACE) inhibiittorit ja kalsiumkanava-antagonistit.

Tiatsidityypin diureetteja käytetään kohonneessa verenpaineessa vähentämään perifeeristä verisuoniresistenssiä niiden vaikutuksella natrium- ja vesierityksen. Tämä lääkkeiden luokka käsittää vetyklooritiatsidin, klooritiatsidin, metyklotiatsidin ja syklotiatsidin, samoin kuin niiden kaltaiset aineet indapamidin, metolatsonin ja klortalidonin. Vaikka ß-salpaajan toimintamekanismin uskottiin joskus olevan $ß_1$-adrenergisen reseptorialatyypin este sydämessä, jolloin alennetaan sydämen lyöntitiheyttä ja tuottoa, uudemmat ß-salpaajat, joissa on sisäinen sympatomimeettinen aktiivisuus (ISA), mukaan lukien pindololi, asebutololi, penbutololi ja karteoli, ovat yhtä tehokkaita kuin ei-ISA ß-salpaajat ja aiheuttavat vähemmän alenemista sydämen lyöntitiheydessä ja tuotossa. Muihin oletettuihin mekanismeihin näille lääkkeille kuuluvat reniinin vapautumisen inhibitio, sentraalinen vaikutus, vaikutus esisynaptisissa ß-adrenergisissä reseptoreissa, joka johtaa norepinefriinin vapautumisen inhibitioon. Kardioselektiivisillä ß-salpaajilla metoprolol (Lopressor-Geigy), asebutolol (Sectral-Wyeth) ja atenolol (Tenormin-ICI), alhaisissa annoksissa, on suurempi vaikutus $ß_1$-adrenergisiin reseptoreihin kuin $ß_2$-adrenergisiin reseptorialatyyppeihin, jotka sijaitsevat keuhkoputkessa ja verisuonissa. Ei-selektiiviset ß-salpaajat toimivat molemmissa

ß-adrenergisissä reseptorialatyypeissä ja niihin kuuluvat propranolol (Inderal-Ayerst), timolol (Blocadren-Merck), nadolol (Corgard-squibb), pindolol (Visken-Sandoz), penbutolol (Levatol-Hoechst-Roussel) ja carteolol (Cartrol-Abbott). ß-salpaajien haitallisiin vaikutuksiin kuuluvat oireeton bradykardia, kongestiivisen sydämen toiminnan vajavuuden kiihtyminen, gastrointestinaaliset häiriöt, lisääntynyt henitystiehytvastustus, hypoglykemian piilevät oireet ja masennus. Ne voivat aiheuttaa seerumin triglyseridien kohoamista ja alentaa suuren tiheyden lipoproteiinin (HDL) kolesterolia.

ACE-inhibiittorit ehkäisevät angiotensiini II muodostumista ja inhiboivat bradykiniinin hajoamista. Angiotensiini II on voimakas verisuonia supistava aine ja lisäksi se stimuloi aldosteronin eritystä. Tuottamalla reniini-angiotensiini-aldosteroni-systeemin este nämä aineet vähentävät perifeeristä verisuoniresistenssiä, samoin kuin natrium- ja vesipidättymistä. Lisäksi, ACE-inhibiittorit nostavat bradykiniinin ja prostaglandiinien, endogeenisten verisuonia laajentavien aineiden, tasoja. Captopril (Capoten-Squibb) ja Enalapril (Vasotec-Merck) ovat johtavia ACE-inhibiittoreita. ACE-inhibiittoreiden haitallisiin vaikutuksiin kuuluvat ihottuma, makuhäiriö, valkuaisainevirtsaisuus ja neutropenia.

Kalsiumkanava-antagonistit vähentävät kalsiumin sisäänvirtausta vaskulaarisiin sileälihassoluihin ja tuottavat systeemistä verisuonien laajentumista, joka johtaa niiden verenpaineen vastaiseen vaikutukseen. Muihin kalsiumkanava-antagonistien vaikutuksiin kuuluvat häirintä angiotensiinin II toiminnalla ja α_2-adrenergisen reseptorin estäminen, jotka voidaan lisätä niiden verenpaineen vastaisiin vaikutuksiin. Kalsiumkanava-antagonisteilla ei ole tiatsidien tai ß-salpaajien haitallisia metabolisia ja farmakologisia vaikutuksia, ja ne voivat siksi olla käyttökelpoisia potilaissa, joilla on diabetes, perifeerinen

verisuonisairaus tai krooninen ahtauttava keuhkosairaus. Kahdella kalsiumkanava-antagonistilla, Verapamil ja diltiatseemi, on vakavia haitallisia kardiovaskulaarisia vaikutuksia sydämen eteiskammion konduktioon potilailla, joilla on aikaisemmin olevia konduktioepänormaaliuksia, ja ne voivat pahentaa bradykardiaa, sydänkatkosta ja kongestiivista sydämen toiminnan vajavuutta. Muihin vähäisempiin kalsiumkanava-antagonistien haittavaikutuksiin kuuluvat perifeerinen turvotus, huimaus, pyörrytys, päänsärky, pahoinvointi ja punoitus, erityisesti nifedipiillä ja nikardipiinillä.

Monia muita aineita on saatavilla hoitamaan itsenäistä verenpainetautia. Näihin aineisiin kuuluvat pratsosiini ja teratsosiini, α_1-adrenergiset reseptoriantagonistit, joiden verenpaineen vastaiset vaikutukset johtuvat saatavasta valtimosuonien laajenemisesta; klonidiini, α_2-adrenerginen agonisti, joka vaikuttaa sentraalisesti samoin kuin perifeerisesti inhibiittori α_2-adrenergisissä reseptoreissa, pienentäen sympaattista vastetta. Muihin sentraalisesti vaikuttaviin aineisiin kuuluvat metyylidopa, guanabents ja guanfasiini; reserpiini, joka vaikuttaa tyhjentämällä katekolamiinien varastot; guanadrel, perifeerinen adrenerginen antagonisti, joka on samanlainen kuin guanetidiini, lyhyemmällä vaikutuksen kestolla; ja suoraan vaikuttavat verisuonta laajentavat aineet, kuten hydralatsiini ja minoksidiili. Nämä aineet, vaikkakin tehokkaita, tuottavat huomattavia oireellisia sivuvaikutuksia, mukaan lukien refleksisympaattisen stimuloinnin ja nesteen pidättymisen, ortostaattisen matalan verenpaineen ja impotenssin.

Monet kohonneen verenpaineen vastaiset aineet aktivoivat kompensoivia verenpainetta kohottavia mekanismeja, kuten lisääntynyt reniinin vapautuminen, kohonnut aldosteronin eritys ja lisääntynyt sympaattinen verisuonia supistava jännitys, jotka on suunniteltu palauttamaan valtimo-

paine hoitoa edeltäville tasoille, ja joka voi johtaa suolan tai veden pidättymiseen, turvotukseen ja lopulta toleranssiin verenpaineen vastaisen aineen vaikutuksille. Lisäksi, johtuen lukuisista erilaisista sivuvaikutuksista, jotka koetaan tällä verenpaineen vastaisten lääkkeiden täydennyksellä, ja ongelmista, jonka sen lisäksi kokee kohonneen verenpaineen omaavien potilaiden erityinen populaatio, mukaan lukien vanhukset, tummaihoiset ja potilaat, joilla on krooninen ahtauttava keuhkosairaus, diabetes tai perifeerisiä verisuonisairauksia, on olemassa tarve lääkkeiden lisäluokille kohonneen verenpaineen hoitamista varten.

Iskemia

Myokardiaalinen iskemia on myokardiaalisen hapen syötön ja tarpeen epätasapainon tulos ja käsittää ponnistus ja vasospastisen myokardiaalisen toimintahäiriön. Ponnistusiskemia luetaan yleensä kriittisen ateroskleroottisen ahtauman syyksi, joka käsittää suuret sepelvaltimot ja joka johtaa subendokardialisen virtauksen pienenemiseen. Vasospastinen iskemia liittyy pesäkevaihtelun lihaskouristukseen, jonka alku ei liity ponnistukseen tai stressiin. Lihaskouristus määritellään paremmin äkillisenä lisäyksenä verisuonien jännityksessä. Mekanismeihin vasospastista iskemiaa varten kuuluvat: (i) Lisääntynyt verisuonen jännitys ahtauman kohdissa johtuen lisääntyneestä katekoliamiinin vapautumisesta; (ii) lyhytaikainen intraluminaalitulppautuminen ja (iii) endoteelisten vammojen kohdissa verihiutaleiden muodostamien vasoaktiivisten aineiden vapautuminen.

Sepelvaltimon verenkierto on sikäli ainutlaatuinen, koska siinä tapahtuu perfuusio elimelle, joka muodostaa perfuusiopaineen koko verenkiertoa varten. Siten, väliintuloilla, jotka muuttavat perifeerisen verenkierron tilaa ja supistuvuutta, on perusteellinen vaikutus sepelvaltimon verenkiertoon. Sepelvaltimoverisuoniston säätelykomponent-

ti on pienet sepelvaltimot, jotka voivat suuresti muuttaa sisähalkaisijaansa. Sisäisen säteen muutos on seurausta joko verisuonen sileälihaksen sisäisestä supistuksesta (autosäätely) tai suonen ulkoisesta paineesta, joka johtuu kammion supistumisesta. Terapioiden nettovaikutus iskeemiseen ongelmaan käsittää vastakkaisten tekijöiden monimutkaisen vuorovaikutuksen, jotka määrittävät hapen tuoton ja tarpeen.

Kardiosuojaus ja iskeemisen vaurion ehkäisy

Uusien terapeuttisten aineiden, jotka pystyvät rajoittamaan myokardiaalisen vaurion laajuutta, so. myokardiaalisen infarktin laajuutta, joka seuraa akuuttia myokardiaalista iskemiaa, kehittäminen on modernin kardiologian päähuoli.

Trombolyyttisen (hyytymän liuottava) terapian tulo viime vuosikymmenen aikana osoittaa, että aikainen väliintulo sydänkohtauksen aikana voi johtaa merkittävään myokardiaalisen kudoksen vaurion vähenemiseen. Suuret kliiniset kokeet ovat siitä lähtien osoittaneet oikeaksi, että trombolyyttinen terapia vähentää riskiä kehittää häiriöitä sydämen lyönnissä ja myös säilyttää sydämen kyvyn toimia pumppuna. Tämän normaalin sydämen toiminnan säilyttämisen on osoitettu vähentävän infarktia seuraavaa pitkäaikaista kuolleisuutta.

Lisäksi on ollut kiinnostusta kehittää terapioita, jotka pystyvät tarjoamaan myokardiaalista lisäsuojausta, joka voitaisiin antaa yhdessä trombolyyttisen terapian kanssa, tai yksinään, koska retrospektiiviset epidemiologiset tutkimukset ovat osoittaneet, että kuolleisuus ensimmäisten vuosien aikana infarktin jälkeen näyttää liittyvän alkuperäisen infarktin kokoon.

Infarktin esikliinisissä tutkimuksissa, jotka on suoritettu erilaisilla eläinmalleilla, monen tyyppisten farmakologisten aineiden, kuten kalsiumkanavasalpaajien, prostasykliinianalogien ja aineiden, jotka pystyvät inhi-

boimaan tiettyjä metaboliareittejä, on osoitettu pystyvän vähentämään iskeemistä vauriota useissa eläinlajeissa.

Äskettäiset tutkimukset ovat osoittaneet, että sydänlihaksen altistuminen lyhyille iskemian jaksoille (veren virtauksen sydämeen keskeytyminen), jota seuraa reperfuusio (veren virtauksen palautuminen), pystyy suojaamaan sydäntä myöhemmiltä iskeemisiltä vaurioilta, jotka muuten johtuisivat myöhemmästä altistumisesta pidempiaikaiselle iskemialle. Tämä ilmiö on nimetty myokardiaaliseksi esikonditioinniksi ja sen uskotaan johtuvan osaksi adenosiinin vapautumisesta esikonditiointijakson aikana.

Muut tutkimukset ovat osoittaneet, että adenosiini ja adenosiiniagonistit vähentävät kudosvaurion laajuutta, joka havaitaan veren virtauksen sydämeen keskeytymisen jälkeen erilaisissa iskeemisen vaurion malleissa useissa lajeissa (katso esimerkiksi Toombs, C. et al., "Myocardial protective effects of adenosine. Infarct size reduction with pretreatment and continued receptor stimulation during ischemia.", *Circulation* **86**, 986-994 (1992); Thornton, J. et al., "Intravenous pretreatment with A_1-selective adenosine analogs preotects the heart against infarction.", *Circulation* **85**, 659-665 (1992); ja Downey, J., "Ischemic preconditioning--nature's own cardioprotective intervention.", *Trends Cardiovasc. Med.* **2**(5), 170-176 (1992)).

Tämän keksinnön yhdisteet matkivat myokardiaalista esikonditiointia parantaen siten iskeemisen vaurion tai tuottaen pienenemisen myokardiaalisen infarktin koossa, joka johtuu myokardiaalisesta iskemiasta, ja ne ovat siten käyttökelpoisia kardiosuojaavina aineina.

Antilipolyysi

Hyperlipidemian ja hyperkolesterolemian tiedetään olevan kaksi pääriskitekijää ateroskleroosille ja sepelvaltimosydäntaudille, johtava kuoleman ja työkyvyttömyyden aiheuttaja länsimaissa. Vaikka ateroskleroosin etiologia

on monitekijällinen, ateroskleroosin ja sairaustilojen, mukaan lukien sepelvaltimotaudin, perifeerisen verisuonisairauden ja aivoverisuonitaudin kehittymiseen, joka johtuu rajoittuneesta veren virtauksesta, liitetään epänormaaliudet seerumin kolesteroli- ja lipiditasoissa. Hyperkolesterolemian ja hyperlipidemian etiologia on pääasiassa geneettinen, vaikka sellaiset tekijät, kuten tyydyttyneitä rasvoja ja kolesterolia sisältävä ruokavalio voi edistää niitä.

Adenosiinin ja adenosiinianalogien lipolyysin vastainen aktiivisuus saa alkunsa A_1-reseptorin alatyypin aktivoinnista (Lohse, M.J., et a., Recent Advances in Receptor Chemistry, Melchiorre, C. ja Gianella, toim. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, **1988**, 107-121). Tämän reseptorialatyypin stimulointi alentaa solunsisäistä syklistä AMP-pitoisuutta adiposyyteissä. Syklinen AMP on välttämätön kofaktori entsyymille lipoproteiinilipaasi, joka pilkkoo hydrolyyttisesti triglyseridejä vapaiksi rasvahapoiksi ja glyseroliksi adiposyyteissä (Egan, J.J., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. **1992** (89), 8357-8541). Siis, solunsisäisen syklisen AMP-pitoisuuden alentaminen adiposyyteissä vähentää lipoproteiinilipaasin aktiivisuutta ja siksi triglyseridien hydrolyysiä.

Kohonnut verenpaine ja plasman lipidit, mukaan lukien triglyseridit, ovat kaksi hyvin hyväksyttyä riskitekijää, jotka liittyvät kardiovaskulaarisesta sairaudesta johtuvaan kuolleisuuteen.

Diabeettiselle potilaalle, jolla todennäköisyys kuolleisuudesta kardiovaskulaarisesta sairaudesta on oleellisesti suurempi, riski, joka liittyy näihin tekijöihin on vielä suurempi (Bierman, E.L., *Arteriosclerosis and Thrombois* **1992** (12), 647-656). Lisäksi tiedot viittaavat siihen, että liiallinen lipolyysi on tunnusomaista ei-insuliiniriippuvaiselle diabetekselle ja mahdollisesti edis-

tää insuliinin resistenssiä ja hyperglykemiaa (Swislocki, A.L., *Horm. Metab. Res.* **1993** (25), 90-95).

Tämän keksinnön yhdisteet, kohonneen verenpaineen vastaisina ja lipolyysin vastaisina aineina, ovat käyttökelpoisia sekä verisuoni- että metaboliariskitekijöiden hoidossa ja parantamisessa, ja ne ovat erityisen arvokkaita ja käyttökelpoisia.

Tämä keksintö koskee adenosiiniagonistien luokkaa ja niiden käyttöä kohonneen verenpaineen, myokardiaalisen iskemian hoidossa, kardiosuojaavina aineina, jotka parantavat iskeemisen vaurion tai myokardiaalisen infarktin kokoa, joka johtuu myokardiaalisesta iskemiasta, ja lipolyysin vastaisina aineina, jotka alentavat plasman lipiditasoja, seerumin triglyseriditasoja ja plasman kolesterolitasoja, ja menetelmiä ja välituotteita, joita käytetään tällaisten yhdisteiden valmistuksessa.

2. Raportoituja kehityksiä

Adenosiinilla on lukuisia erilaisia fysiologisia ja farmakologisia vaikutuksia, mukaan lukien selvä kardiovaskulaarisen ja munuaistoiminnan muutos. Eläimissä ja ihmisissä adenosiininukleotidin laskimonsisäinen injektio aiheuttaa matalan verenpaineen.

Adenosiinin fysiologisia ja farmakologisia vaikutuksia välitetään spesifisten reseptoreiden kautta, jotka sijaitsevat solupinnoilla. Kaksi adenosiinireseptorin alatyyppiä, joita merkitään A_1- ja A_2-reseptori, on identifioitu. A_1-reseptori inhiboi cAMP:n muodostumista estämällä adenylaattisyklaasin aktiivisuuden, kun taas A_2-reseptorit lisäävät adenylaattisyklaasin aktiivisuutta ja solunsisäistä cAMP:tä. Kukin reseptori näyttää välittävän adenosiinin spesifisiä vaikutuksia eri kudoksissa: esimerkiksi adenosiinin vaskulaariset vaikutukset näyttävät välittyvän A_2-reseptoreiden stimuloinnin kautta, jota tuetaan positiivisella korrelaatiolla cAMP:n muodostumisen ja vasorelaksaation välillä adenosiinilla hoidetussa eristetyssä veri-

suonisileälihaksessa; kun taas sydämen A_1-reseptoreiden stimulointi vähentää cAMP:n muodostumista sydämessä, mikä edistää negatiivisia dromotrooppisia, inotrooppisia ja kronotrooppisia sydänvaikutuksia. Siis, toisin kuin useimmat verisuonia laajentavat aineet, adenosiinin antaminen ei tuota refleksitakykardiaa.

Adenosiini käyttää myös selvää vaikutusta munuaisen toimintaan. Adenosiinin munuaisensisäinen infuusio aiheuttaa lyhytaikaisen alenemisen munuaisverivirtauksessa ja lisäyksen munuaisen verisuoniresistenssissä. Jatkuvalla adenosiinin infuusiolla munuaisverivirtaus palautuu kontrollitasoihin ja munuaisen verisuoniresistenssi alenee. Alkuperäiset munuaisverisuonien supistumisvasteet adenosiinille eivät johdu suoraan nukleotidin verisuonia supistavista vaikutuksista, vaan käsittävät vuorovaikutuksen adenosiinin ja reniini-angiotensiini-systeemin välillä.

Adenosiinia pidetään laajalti primaarisena reaktiivisen hyperemian ja sepelvaltimokerroksen autosäätelyn fysiologisena välittäjänä vasteessa myokardiaaliselle iskemialle. On raportoitu, että sepelvaltimon endoteeli omaa adenosiini A_2-reseptoreita liittyneenä adenylaattisyklaasiin, jotka aktivoidaan vastaavasti sepelvaltimovirtauksen lisääntymisen kanssa, ja että kardiomyosyyttireseptorit ovat pääasiassa adenosiinin A_1-alatyyppiä ja liittyvät bradykardiaan. Siis, adenosiini tarjoaa ainutlaatuisen iskeemisen terapian mekanismin.

Kardiovaskulaariset vasteet adenosiinille ovat lyhytikäisiä johtuen nopeasta kulutuksesta ja endogeenisen nukleotidin metaboliasta. Vastakohtana, adenosiinianalogit ovat resistentimpiä metaboliselle hajoamiselle ja niiden raportoidaan paljastavan pysyviä muutoksia valtimopaineessa ja sydämen lyöntitiheydessä.

On syntetisoitu useita voimakkaita metabolisesti stabiileja adenosiinin analogeja, jotka osoittavat vaihtelevat asteet selektiivisyyttä kahdelle reseptorialatyypil-

le. Adenosiiniagonistit ovat yleisesti osoittaneet suurempaa selektiivisyyttä A_1-reseptorille verrattuna A_2-reseptoreihin. Syklopentyyliadenosiini (CPA) ja R-fenyyli-isopropyyliadenosiini (R-PIA) ovat standardi adenosiiniagonisteja, jotka osoittavat selvän selektiivisyyden A_1-reseptorille (A_2/A_1-suhde = 780 ja vastaavasti 106). Vastakohtana, N-5'-etyylikarboksamidoadenosiini (NECA) on voimakas A_2-reseptoriagonisti (Ki-12 nM), mutta sillä on yhtäsuuri affiniteetti A_1-reseptorille (Ki-6,3 nM; A_2/A_1-suhde = 1,87). Viime aikoihin asti CV-1808 oli selektiivisin saatavilla oleva A_2-agonisti (A_2/A_1 = 0,19), vaikka yhdiste oli 10 kertaa vähemmän voimakas kuin NECA affiniteetissaan A_2-reseptorille. Viime aikojen kehityksissä on esitetty uudempia yhdisteitä, jotka ovat erittäin voimakkaita ja selektiivisiä A_2-agonisteja (Ki=3-8 nM A_1:lle; A_2/A_1-suhde = 0,027 - 0,042).

Erilaisia N6-aryyli- ja N6-heteroaryylialkyylisubstituoitujen adenosiinien, ja substituoitu-(2-amino ja 2-hydroksi)adenosiinien, on raportoitu kirjallisuudessa omaavan vaihtelevaa farmakologista aktiivisuutta, mukaan lukien sydän- ja verenkiertoaktiivisuuden. Katso esimerkiksi GB-patenttijulkaisu 1 123 245, DE-hakemusjulkaisu 2 136 624, DE-hakemusjulkaisu 2 059 922, DE-hakemusjulkaisu 2 514 284, ZA-patentti nro 67/7 630, US-patentti nro 4 501 735, EP-hakemusjulkaisu nro 0 139 358 (esittää N6-[geminaalinen diaryylisubstituoitu alkyyli]adenosiinit), EP-hakemusjulkaisu sarjanro 88 106 818.3 (esittää, että N6-heterosyklisubstituoidut adenosiinijohdannaiset osoittavat sydänverisuonia laajentavaa aktiivisuutta), DE-hakemusjulkaisu 2 131 938 (esittää aryyli- ja heteroaryylialkyylihydratsinyyliadenosiinijohdannaiset), DE-hakemusjulkaisu 2 151 013 (esittää N6-aryyli- ja heteroaryylisubstituoidut adenosiinit), DE-hakemusjulkaisu 2 205 002 (esittää adenosiinit, joissa N6-substituentit käsittävät siloittuneet rengasrakenteet, jotka liittävät N6-typen subs-

tituentteihin, mukaan lukien tienyylin) ja ZA-patentti nro 68/5 477 (esittää N6-indolyylisubstituoitu-2-hydroksiadenosiinit).

US-patentti nro 4 954 504 ja EP-hakemusjulkaisu nro 0 267 878 esittävät yleisesti, että adenosiinin karbosykliset riboosianalogit, ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät esterit, jotka on substituoitu 2- ja/tai N6-asemaan aryyli(alempi alkyyli)ryhmillä, mukaan lukien tienyylin, tetrahydropyranyylin, tetrahydrotiopyranyylin ja bisykliset bentsofuusioidut 5- tai 6-jäseniset tyydyttyneet heterosykliset alempi alkyyli -johdannaiset, osoittavat adenosiinin reseptoriagonistiominaisuuksia. Adenosiinianalogit, joissa on tienyylityyppisiä substituentteja, kuvataan EP-hakemusjulkaisussa nro 0 277 917 (esittää N6-substituoitu-2-heteroaryylialkyyliaminosubstituoidutadenosiinit, mukaan lukien 2-[(2-[tien-2-yyli]etyyli)amino]substituoidun adenosiinin), DE-hakemusjulkaisu 2 139 107 (esittää N6-[bentsotienyylimetyyli]adenosiinin), PCT WO 85/04 882 (esittää, että N6-heterosyklialkyylisubstituoidut adenosiinijohdannaiset, mukaan lukien N6-[2-(2-tienyyli)-etyyli]amino-9-(D-ribofuranosyyli)-9H-puriinin, osoittavat kardiovaskulaarista verisuonia laajentavaa aktiivisuutta ja että N6-kiraaliset substituentit osoittavat lisääntynyttä aktiivisuutta), EP-hakemusjulkaistu nro 0 232 813 (esittää, että N6-(1-substituoitu tienyyli)syklopropyylimetyylisubstituoidut adenosiinit osoittavat kardiovaskulaarista aktiivisuutta), US-patentti nro 4 683 223 (esittää, että N6-bentsotiopyranyylisubstituoidut adenosiinit osoittavat kohonneen verenpaineen vastaisia ominaisuuksia), PCT WO 88/03 147 ja WO 88/03 148 (esittävät, että N6-[2-aryyli-2-(tien-2-yyli)]etyylisubstituoidutadenosiinit osoittavat kohonneen verenpaineen vastaisia ominaisuuksia), US-patentit nro 4 636 493 ja 4 600 707 (esittävät, että N6-bentsotienyylietyylisubstituoidut adenosiinit osoittavat kohonneen verenpaineen vastaisia ominaisuuksia).

Adenosiini-5'-karboksyylihapon amideilla esitetään olevan käyttöä kohonneen verenpaineen vastaisina ja antianginaalisina aineina US-patentissa 3 914 415, kun taas US-patentti 4 738 954 esittää, että N6-substituoidut aryyli- ja aryylialkyyliadenosiini-5'-etyylikarboksamidit osoittavat erilaisia sydänominaisuuksia ja kohoneen verenpaineen vastaisia ominaisuuksia.

N^6-alkyyli-2'-O-alkyyliadenosiineillä esitetään EP-hakemusjulkaisussa nro 0 378 518 ja GB-patenttihakemuksessa 2 226 027 olevan kohonneen verenpaineen vastaista aktiivisuutta. N^6-alkyyli-2',3'-di-O-alkyyliadenosiieilla raportoidaan olevan myös käyttöä kohonneen verenpaineen vastaisina aineina, US-patentti 4 843 066.

Adenosiini-5'-(N-substituoitu)karboksamidien ja karboksylaattiestereiden ja niiden N1-oksidien raportoidaan olevan sepelvaltimoverisuonia laajentavia aineita, Stein, et al., *J. Med. Chem.* **1980**, 23, 313-319 ja *J. Med. Chem.* **19** (10), 1180 (1976). Adenosiini-5'-karboksamidit ja niiden N1-oksidit raportoidaan myös pienten eläinten myrkkyinä US-patentissa 4 167 565.

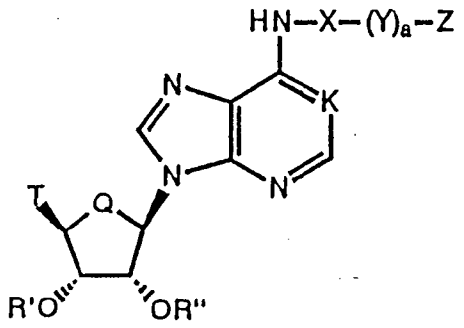
Adenosiinin lipolyysin vastainen aktiivisuus kuvataan julkaisussa Dole, V.P., *J. Biol. Vhem.* **236** (12), 3125-3130 (1961). Lipolyysin inhibitio (R)-N^6 fenyyli-isopropyyliadenosiinilla esitetään julkaisussa Westermann, E., et al., Adipose Tissue, Regulation and Metabolic Functions, Jeanrenaud, B. ja Hepp. D. toim., George Thieme, Stuttgart, 47-54 (1970). N^6-mono- ja disubstituoiduilla adenosiinianalogeilla esitetään olevan lipolyysin vastaista, hyperkolesterolemian vastaista ja hyperlipemian vastaista aktiivisuutta US-patenteissa nrot 3 787 391, 3 817 981, 3 838 147, 3 840 521, 3 835 035, 3 851 056, 3 880 829, 3 929 763, 3 929 764, 3 988 317 ja 5 032 583.

Uskotaan, että raportoitu toksisuus, CNS-ominaisuudet ja sydämen lyöntitiheyden kasvaminen, jotka liittyvät adenosiinianalogeihin, ovat edistäneet vaikeuksia, jotka

estävät kaupallisen adenosiinianalogin kohonneen verenpaineen vastaisen/iskemian vastaisen aineen kehittämisen. Tämä keksintö koskee metabolisesti stabiilien adenosiiniagonistien, ja niiden johdannaisten, luokkaa, joka omaa yllättäen halutut farmakologiset ominaisuudet, so. ne ovat kohonneen verenpaineen vastaisia, kardiosuojaavia, iskemian vastaisia ja lipolyysin vastaisia aineita, joilla on ainutlaatuinen terapeuttinen profiili.

Keksinnön yhteenveto

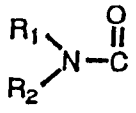
Tämän keksinnön yhdisteet kuvataan kaavalla I



jossa:

K on N, N→O tai CH;

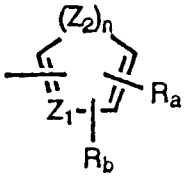
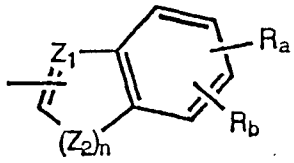
Q on CH_2 tai O;

T on  tai R_3O-CH_2;

X on haarautumattoman tai haarautuneen ketjun alkyleeni-, sykloalkyleeni- tai sykloalkenyleeniryhmä, joista kukin on mahdollisesti substituoitu ainakin yhdellä seuraavista CH_3, CH_3CH_2, Cl, F, CF_3 tai CH_3O;

Y on NR_4, O tai S;

a = 0 tai 1;

Z:lla on kaava  tai .

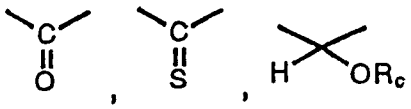
Z_1 on N, CR_5, $(CH)_m$-CR_5 tai $(CH)_m$-N, m on 1 tai 2;

Z_2 on N, NR_6, O tai S, n on 0 tai 1;

R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 ja R_6 ovat itsenäisesti vety, alkyyli, aryyli tai heterosyklyyli;

R_a ja R_b ovat itsenäisesti vety, OH, alkyyli, hydroksialkyyli, alkyylimerkaptyyli, tioalkyyli, alkoksi, alkyoksialkyyli, amino, alkyyliamino, karboksyyli, asyyli, halogeeni, karbamoyyli, alkyylikarbamoyyli, aryyli tai heterosyklyyli; ja

R' ja R" ovat itsenäisesti vety, alkyyli, aralkyyli, karbamoyyli, alkyylikarbamoyyli, dialkyylikarbamoyyli, asyyli, alkoksikarbonyyli, aralkoksikarbonyyli, aryylioksikarbonyyli, tai R' ja R" yhdessä voivat muodostaa



jossa R_c on vety tai alkyyli, 

jossa R_d ja R_e ovat itsenäisesti vety, alkyyli, tai yhdessä hiiliatomin kanssa, johon ne ovat liittyneet, voivat muodostaa 1,1-sykloalkyyliryhmän;

edellyttäen, että kun X on haarautumattoman ketjun alkyleeni ja Q on happi, niin Z merkitsee heterosyklyyliä, joka käsittää ainakin kaksi heteroatomia;

tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

Tämä keksintö koskee myös menetelmiä kardiovaskulaarisen sairauden hoitamiseksi, jolle on ominaista kohonnut verenpaine tai myokardiaalinen iskemia, käyttäen far-

maseuttisia koostumuksia, jotka käsittävät kohonneen verenpaineen vastaisen tai iskemian vastaisen tehokkaan määrän kaavan I edellä mukaista yhdistettä, menetelmää iskemiavaurion tai myokardiaalisen infarktin koon parantamiseksi käyttäen farmaseuttisia koostumuksia, jotka käsittävät kardiosuojaavan määrän kaavan I edellä mukaista yhdistettä, menetelmää hyperlipidemian tai hyperkolesterolemian hoitamiseksi käyttäen farmaseuttisia koostumuksia, jotka käsittävät lipolyysin vastaisen määrän kaavaa I, ja menetelmiä ja välituotteita, joita käytetään tällaisten yhdisteiden valmistuksessa.

Yksityiskohtainen kuvaus

Kuten edellä ja läpi koko keksinnön kuvauksen on käytetty, seuraavilla termeillä, ellei toisin mainita, on ymmärrettävä olevan seuraavat merkitykset:

"Asyyli" merkitsee haarautumatonta tai haarautunutta alkyyli-C=O ryhmää. Edullisia asyyliryhmiä ovat alempi alkanoyyli, jossa on 1 - noin 6 hiiliatomia alkyyliryhmässä.

"Alkyyli" merkitsee tyydyttynyttä alifaattista hiilivetyryhmää, joka voi olla haarautumaton tai haarautunut ja jossa on noin 1 - 20 hiiliatomia ketjussa. Haarautunut merkitsee, että alempi alkyyliryhmä, kuten metyyli, etyyli tai propyyli liitetään lineaariseen alkyyliketjuun.

"Alempi alkyyli" merkitsee alkyyliryhmää, jossa on 1 - noin 6 hiiltä.

"Alkyleeni" merkitsee haarautumatonta tai haarautunutta kaksiarvoista hiilivetyketjua, jossa on 1 - noin 20 hiiliatomia. Edullisia alkyleeniryhmiä ovat (alempi alkyleeni)ryhmät, joissa on 1 - noin 6 hiiliatomia. Edullisimmat alkyleeniryhmät ovat metyleeni, etyleeni, etyylietyleeni, metyylietyleeni ja dimetyylietyleeni.

"Sykloalkyleeni" merkitsee 1,2- tai 1,3-kaksiarvoista karbosyklistä ryhmää, jossa on noin 4 - 8 hiiliatomia. Edullisiin sykloalkyleeniryhmiin kuuluvat 4,5-cis-

tai trans-sykloheksenyleeni, 1,2-sykloheksanyleeni ja 1,2-syklopentyleeni.

"Mahdollisesti substituoitu" tarkoittaa, että annettu substituentti tai substituentit sekä voivat olla että eivät ole läsnä.

"Alkyyliamino" merkitsee aminoryhmää, joka on substituoitu yhdellä tai kahdella alkyyliryhmällä. Edullisia ryhmiä ovat (alempi alkyyli)aminoryhmät.

"Alkyylikarbamoyyli" merkitsee karbamoyyliryhmää, joka on substituoitu yhdellä tai kahdella alkyyliryhmällä. Edullisia ovat (alempi alkyyli)karbamoyyliryhmät.

"Alkyylimerkaptyyli" merkitsee alkyyliryhmää, joka on substituoitu merkaptyyliryhmällä. Merkaptyyli(alempi alkyyli)ryhmät ovat edullisia.

"Alkoksi" merkitsee alkyylioksiryhmää, jossa "alkyyli" on kuten aikaisemmin on kuvattu. (Alempi alkoksi)-ryhmät ovat edullisia. Tyypillisiin ryhmiin kuuluvat metoksi, etoksi, n-propoksi, i-propoksi ja n-butoksi.

"Alkoksialkyyli" merkitsee alkyyliryhmää, kuten aikaisemmin on kuvattu, joka on substituoitu alkoksiryhmällä, kuten aikaisemmin on kuvattu.

"Aralkyyli" merkitsee alkyyliryhmää, joka on substituoitu aryyliradikaalilla, jossa "aryyli" merkitsee fenyyliä tai fenyyliä, joka on substituoitu yhdellä tai useammalla substituentilla, joka voi olla alkyyli, alkoksi, amino, nitro, karboksi, karboalkoksi, syano, alkyyliamino, halogeeni, hydroksi, hydroksialkyyli, merkaptyyli, alkyylimerkaptyyli, karbalkyyli tai karbamoyyli.

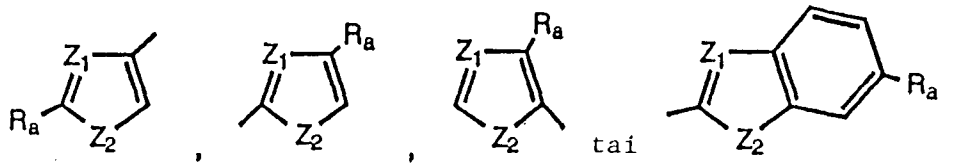
"Karbalkoksi" merkitsee karboksyylisubstituenttia, joka on esteröity alkoholilla, jolla on kaava $C_nH_{2n+1}OH$, jossa n on 1 - noin 6.

"Halogeeni" (tai "halo") merkitsee klooria, fluoria, bromia tai jodia.

"Heterosyklyyli" merkitsee noin 4 - 10-jäsenistä rengasrakennetta, jossa yksi tai useampi atomeista ren-

kaassa on muu elementti kuin hiili, esim. typpi, happi tai rikki.

Tyypillisiin heterosyklisiin ryhmiin, jotka käsittävät kaavan I yhdisteiden N6-substituentin, kuuluvat seuraavat:



Edullisiin heterosyklisiin ryhmiin kuuluvat substituoimattomat ja substituoidut tienyyli-, tiatsolyyli- ja benstotiatsolyyliryhmät, joissa substituentit voivat olla alkoksi-, alkyyliamino-, aryyli-, karbalkoksi-, karbamoyyli-, syano-, halogeeni-, hydroksi-, merkaptyyli-, alkyylimerkaptyyli- tai nitroryhmän yksi tai useampi jäsen.

"Hydroksialkyyli" merkitsee alkyyliryhmää, joka on substituoitu hydroksiryhmällä. Hydroksi(alempi alkyyli)-ryhmät ovat edullisia. Tyypillisiin edullisiin ryhmiin kuuluvat hydroksimetyyli, 2-hydroksietyyli, 2-hydroksipropyyli ja 3-hydroksipropyyli.

"Aihiolääke" merkitsee yhdistettä, joka voi olla tai ei ole itsessään biologisesti aktiivinen, mutta joka voidaan, metabolisilla, solvolyyttisillä tai muilla fysiologisilla keinoilla, muuttaa biologisesti aktiiviseksi kemialliseksi kokonaisuudeksi.

"Kardiosuojaus" viittaa vaikutukseen, jolla sydänlihas tehdään vähemmän alttiiksi iskeemiselle vauriolle ja myokardiaaliselle infarktille, joka johtuu myokardiaalisesta iskemiasta.

"Iskeemisen vaurion paraneminen" merkitsee sydänlihaksen iskeemisen vaurion ehkäisemistä tai pienentämistä, joka vaurio johtuu myokardiaalisesta iskemiasta.

"Myokardiaalisen infarktin koon paraneminen" merkitsee myokardiaalisen infarktin koon pienenemistä, tai

myokardiaalisesta iskemiasta johtuvan myokardiaalisen infarktin ehkäisyä.

Kaavan I mukaiset yhdisteet sisältävät edullisesti kiraalisen (asymmetrisen) keskuksen. Esimerkiksi, edulliset yhdisteet, joissa on tällainen asymmetrinen keskus, käsittävät yhdisteet esim., joissa X on isopropyleeni ja joilla on joko R- tai S-konfiguraatio, R-konfiguraatio on edullisin. Keksintö käsittää yksittäiset stereoisomeerit ja niiden seokset. Yksittäiset isomeerit valmistetaan tai eristetään alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä tai tässä kuvatuilla menetelmillä.

Keksinnön yhdisteitä voidaan käyttää vapaan emäksen muodossa, happoadditiosuolojen muodossa tai hydraatteina. Kaikki tällaiset muodot ovat keksinnön piirissä. Happoadditiosuolat ovat yksinkertaisesti sopivampi käyttömuoto. Käytännössä suolamuodon käyttö luonnostaan merkitsee emäsmuodon käyttöä. Happoihin, joita voidaan käyttää valmistamaan happoadditiosuoloja, kuuluvat edullisesti ne, jotka tuottavat, kun ne yhdistetään vapaan emäksen kanssa, farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja, siis suoloja, joiden anionit ovat ei-toksisia vastaanottajalle suolojen farmaseuttisissa annoksissa, jotta edullisia vapaan emäksen tuottamia verenpaineen vastaisia, kardiosuojaavia, iskemian vastaisia ja lipolyysin vastaisia vaikutuksia ei pilata anionien syyksi luettavilla sivuvaikutuksilla. Vaikka keksinnön yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat ovat edullisia, kaikki happoadditiosuolat ovat käyttökelpoisia vapaan emäsmuodon lähteinä, vaikka tietty suola itsessään halutaan vain välituotteena, esimerkiksi kun suola muodostetaan vain puhdistus- ja identifiointitarkoituksia varten, tai kun sitä käytetään välituotteena farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistuksessa ioninvaihtomenetelmillä. Farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja keksinnön piirissä ovat ne, jotka johdetaan seuraavista hapoista: mineraalihapot, kuten kloorivetyhappo, rikkihap-

po, ortofosforihappo ja sulfamiinihappo; ja orgaaniset hapot, kuten etikkahappo, sitruunahappo, maitohappo, viinihappo, malonihappo, metaanisulfonihappo, fumaarihappo, etaanisulfonihappo, bentseenisulfonihappo, p-tolueenisulfonihappo, sykloheksyylisulfaamihappo, kiniinihappo ja niiden kaltaiset. Vastaavat happoadditiosuolat käsittävät seuraavat: vetykloridi, sulfaatti, fosfaatti, sulfamaatti, asetaatti, sitraatti, laktaatti, tartraatti, metaanisulfonaatti, fumaraatti, etaanisulfonaatti, bentseenisulfonaatti, p-tolueenisulfonaatti, sykloheksyylisulfonaatti ja vastaavasti kinaatti.

Keksinnön yhdisteiden happoadditiosuolat valmistetaan sopivasti joko liuottamalla vapaa emäs vesipitoiseen tai vesipitoiseen alkoholiliuokseen tai muihin sopiviin liuottimiin, jotka sisältävät sopivan hapon, ja eristämällä suola haihduttamalla liuos, tai saattamalla vapaa emäs ja happo reagoimaan orgaanisessa liuottimessa, jossa tapauksessa suola erottuu suoraan tai se voidaan saada väkevöimällä liuos.

Kaavan I piiriin kuuluvat yhdisteiden luokat, jotka voidaan karakterisoida yleisesti N6-heterosykli-substituoituina adenosiineinä; N6-heterosykli-substituoituina karbosyklisinä adenosiineinä (tai vaihtoehtoisesti dihydroksi[N6-heterosykli-subsituoitu-9-adenyyli]syklopentaaneina) ja niiden N-oksideina; ja N6-heterosykli-substituoitu-N'-1-deatsa-aristeromysiineinä (tai vaihtoehtoisesti dihydroksi[N7-heterosykli-substituoitu[4,5-b]imidatsopyridyyli]syklopentaaneina). Kaavan I piirissä ovat myös adenosiinien, karbosyklisten adenosiinien ja 1-deatsaaristeromysiinien 5'-alkyylikarboksamidijohdannaiset, edellä olevien yhdisteluokkien johdannaiset, joissa yksi tai molemmat syklopentaanirenkaan 2- tai 3-hydroksyyliryhmistä tai, siinä tapauksessa, että luokan yhdisteet sisältävät riboosiryhmän, riboosiryhmän 2'- tai 3'-hydroksyyliryhmät ovat substituoituja. Tällaiset johdannaiset voivat itsessään

käsittää biologisesti aktiivisen kemiallisen kokonaisuuden, joka on käyttökelpoinen kohonneen verenpaineen ja myokardiaalisen iskemian hoidossa ja kardiosuojaavina ja lipolyysin vastaisina aineina, tai ne voivat toimia aihiolääkkeinä tällaisille biologisesti aktiivisille yhdisteille, jotka muodostetaan siitä käyttäen fysiologisia olosuhteita.

Tämän keksinnön tyypillisiin yhdisteisiin kuuluvat: N6-[trans-2-(tiofen-2-yyli)sykloheks-4-en-1-yyli]adenosiini; N6-[trans-2-(tiofen-3-yyli)sykloheks-4-en-1-yyli]adenosiini; N6-[trans-2-(tiofen-2-yyli)sykloheks-4-en-1-yyli]adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi; N6-[2-(2'-aminobentsotiatsolyyli)etyyli]adenosiini; N6-[2-(2'-tiobentsotiatsolyyli)etyyli]adenosiini;N6-[2-(6'-etoksi-2'-tiobentsotiatsolyyli)etyyli]adenosiini;N6-[2-(2'-aminobentsotiatsolyyli)etyyli]adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi; N6-[2-(2'-aminotiatsolyyli)etyyli]karbosyklinen adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi; N6-[2-(4'-metyylitiatsol-5'-yyli)etyyli]adenosiini; N6-[2-(2'-tiatsolyyli)etyyli]adenosiini;N6-[(R)-1-(5'-klooritien-2'-yyli)-2-propyyli]adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi;N6-[2-(2'-metyyli-4'tiatsolyyli)etyyli]adenosiini; N6-[(R)-1-metyyli-2-(2'-bentso[b]tiofenyyli)etyyli]adenosiini; N6-[2-(4"-metyyli-5"-tiatsolyyli)etyyli]karbosyklinen adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi; N6-[2-(2"-tiatsolyyli)etyyli]karbosyklinen adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi; N6-[2-(4'-fenyyli-2'-tiatsolyyli)etyyli]adenosiini; N6-[(R)-1-(5"-kloori-2"-tienyyli)prop-2-yyli]karbosyklinenadenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi; (-)-N6-[tiofen-2"-yyli)etan-2-yyli]karbosyklinen adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi; N6-[1-(tiofen-3-yyli)etan-2-yyli]karbosyklinen adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi;N6-[(R)-1-((tiofen-2-yyli)prop-2-yyli]karbosyklinen adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi; N6-[1-(tiofen-2-yyli)etan-2-yyli]-N'-1-deatsa-aristeromysiini-5'-N-etyylikarboksamidi;N6-[(R)-1-((tiatso-2-yyli)prop-2-yyli]adeno-

siini-5'-N-etyylikarboksamidi; N6-[1-(tiofen-2-yyli)-2-metyylipropyyli]adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi; N6-[(R)-1-(5'-klooritien-2-yyli)-2-butyyli]karbosyklinen adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi; N6-[2-(4'-metyyli-2'-tiatsolyyli)etyyli]adenosiini; N6-[4'-fenyyli-2'-tiatsolyyli)metyyli]adenosiini; (-)-[2S-[2α,3α-dimetyylimetyleenidioksi-4-ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino]-9-adenyyli]syklopentaani]-1-ß-N-etyylikarboksamidi; (2S)-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino]-9-adenyyli]syklopentaani]-1ß-N-etyylikarboksamidi; (2S)-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani]-1ß-N-etyylikarboksamidi-N^1-oksidi; [1S-[1α,2ß,3ß,4α(S*)]]-4-[7-[[2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-metyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi; [1S-[1α,2ß,3ß,4α]]-4-[7-[[2-(3-kloori-2-tienyyli)-1-etyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi; [1S[1α,2ß,3ß,4α]]-4-[7-[[2-(2-tienyyli)-1-isopropyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi; [1S-[1α,2ß,3ß,4α(S*)]]-4-[7-[[2-(3-kloori-2-tienyyli)-1-etyylietyyli]amino]-3H-imidatso-[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi; [1S-[1α,2ß,3ß,4α(S*)]]-4-[7-[[2-(2-tienyyli)-1-metyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi; [1S-[1α,2ß,3ß,4α]]-4-[7-[[2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-etyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi; (2S)-2α,3α-bis-metoksikarbonyylioksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani]-1ß-N-etyylikarboksamidi; (2S)-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]-syklopentaani]-1ß-N-etyylikarboksamidin etoksimetyleeni-

asetaali; (2S)-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani]-1ß-N-etyylikarboksamidi-2,3-karbonaatti; (2S)-2α,3α-bis-metyylikarbamoyylioksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani]-1ß-N-etyylikarboksamidi; (2S)-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani]-1ß-N-etyylikarboksamidi-2,3-tiokarbonaatti; N^6-[2-(3-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]-2'-O-metyyliadenosiini; N^6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]-2'-O-metyyliadenosiini; ja N^6-[trans-5-(2-tienyyli)sykloheks-1-en-4-yyli]-2'-O-metyyliadenosiini.

Edullinen luokka keksinnön yhdisteitä kuvataan kaavalla I, jossa R' ja R" ovat vetyjä.

Toinen edullinen luokka keksinnön yhdisteitä ovat N6-heterosykli-substituoitujen karbosyklisten adenosiinien 5'-N-alkyylikarboksamidijohdannaiset, toisin sanoin yhdisteet, joilla on kaava I, jossa K on N, Q on CH_2 ja T on R_1R_2N-C=O, tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat.

Vielä yksi edullinen luokka keksinnön yhdisteitä ovatN6-heterosykli-substituoitu-N'-1-deatsa-ariteromysiinien 5'-N-alkyylikarboksamidijohdannaiset, so. 4-[7-[heterosyklyyliamino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]alkyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidit, toisin sanoin yhdisteet, joilla on kaava I, jossa K on CH, Q on CH_2 ja T on R_1R_2N-C=O, tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat.

Edullisin luokka keksinnön yhdisteitä käsittää kaavan I mukaiset yhdisteet, jotka on karakterisoitu kiraalisen keskuksen läsnäololla α-asemassa puriini- tai 1-deatsapuriinirenkaan N6-atomiin, kun taas erityinen tämän luokan toteutusmuoto käsittää yhdisteet, jotka on karakterisoitu kiraalisella etyyliryhmällä, joka on liittynyt hiiliatomiin α-asemassa N6-typpeen. Erityisen edullinen yh-

disteiden luokka karakterisoidaan N6-[1-(alempi alkyyli)-2-(3-halogeenitien-2-yyli)etyyli]substituenttiryhmällä.

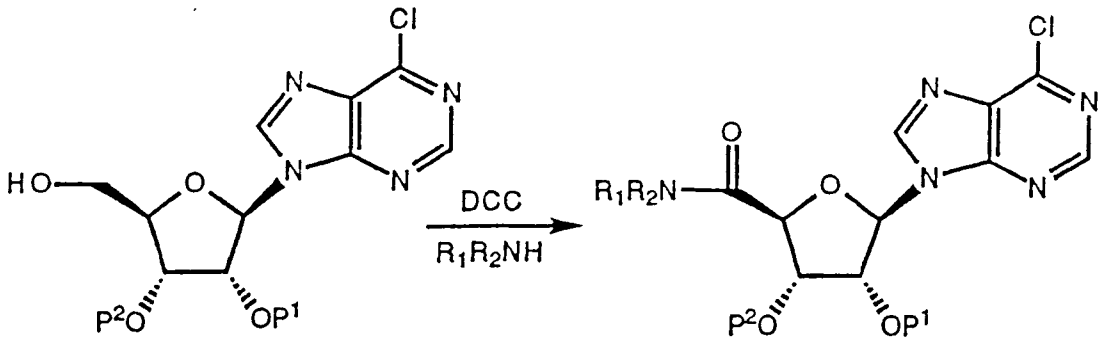
Edullisimmat keksinnön toteutusmuodot käsittävät yhdisteet (-)-[2S-[2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-(R)-metyylietyyli]amino]-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-etyylikarboksamidi, (-)-[2S-[2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[1-(R)-etyyli-2-(3-kloori-2-tienyyli)etyyli]amino]-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-etyylikarboksamidi, [1S[1α,2ß,-3ß,4α(S*)]]-4-[7-[[2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-metyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi, [1S[1α,2ß,3ß,4α-(S*)]]-4-[7-[[2-(3-kloori-2-tienyyli)-1-etyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi, ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat.

Tämän keksinnön yhdisteet voidaan valmistaa tunnetuilla menetelmillä tai alla kuvattujen reaktiosekvenssien mukaisesti. Keksinnön yhdisteiden valmistuksessa käytetyt lähtöaineet ovat tunnettuja tai kaupallisesti saatavilla, tai ne voidaan valmistaa tunnetuilla menetelmillä tai tässä kuvatuilla spesifisillä reaktiokaavioilla.

Yhdisteet, joilla on kaava I, jossa K on N, Q on O ja T on R_3O-CH_2, voidaan valmistaa saattamalla kaupallisesti saatavilla oleva 6-klooripuriiniribosidi reagoimaan erilaisten heterosyklisten amiinien kanssa, kuten alla esitetään esimerkeillä.

Yhdisteet, joilla on kaava I, jossa K on N, Q on O ja T on $R_1R_2N-C=O$, valmistetaan samalla tavalla lähtien reaktiokaavion A tuotteesta. Tässä reaktiossa 6-puriiniribosidia, jossa riboosirenkaan 2'- ja 3'-hydroksyyliryhmät on suojattu, käsitellään hapettimella, esimerkiksi Jones-reagenssilla, ja tuotehappoa käsitellään joko disykloheksyylikarbodi-imidillä (DCC) tai BOP-Cl:lla valitun amiinin ollessa läsnä, jolloin saadaan 5'-alkyylikarboksamidijohdannainen.

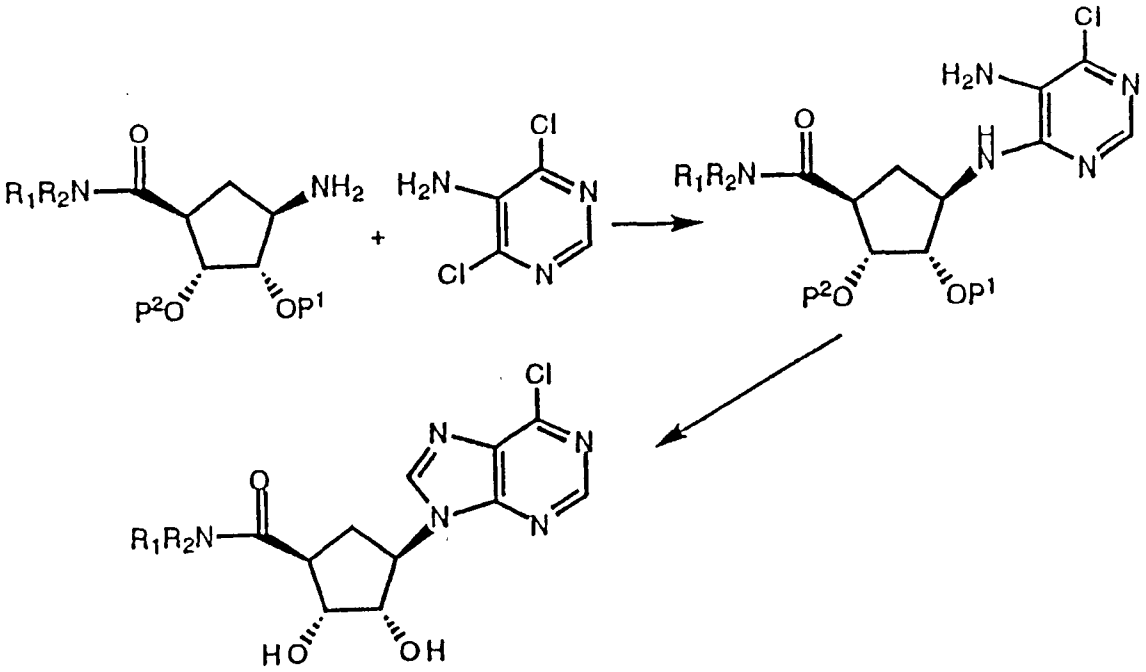
Reaktiokaavio A



(P = suojaryhmä)

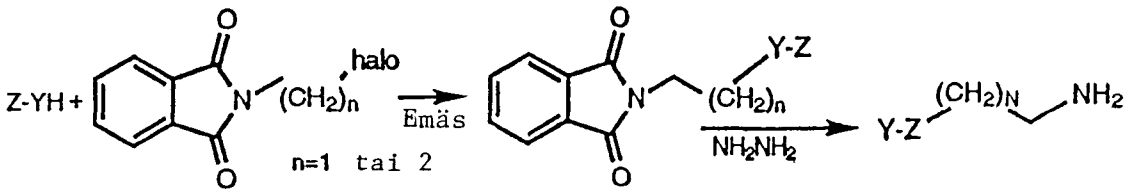
Sopivat lähtöaineet yhdisteille, joilla on kaava I, jossa K on N, Q on CH_2 ja T on R_1R_2N-C=O, voidaan valmistaa kuten on kuvattu julkaisussa Chen et al., Tetrahedron Letters 30: 5543-46 (1989). Vaihtoehtoisesti, reaktiokaaviota B voidaan käyttää valmistamaan tällaisia lähtöaineita. Suoritettaessa reaktiokaaviota B 2,3-dihydroksisyklopentyyliamiinin 4-etyylikarboksamidijohdannainen, joka valmistetaan kuten Chen et al. kuvaavat, saatetaan reagoimaan 3-amino-2,4-diklooripyrimidiinin kanssa. Alkuperäisen reaktion tuotetta kuumennetaan sitten aldehydyyliamidiiniasetaatin kanssa, esimerkiksi formamidiiniasetaatti dioksaanissa ja metoksietanolissa ajan, joka on riittävä saamaan aikaan renkaan sulkeutumisen (noin 30 min - 4 tuntia), tällöin saadaan tuote, joka voidaan sopivasti saattaa reagoimaan erilaisten heterosyklisten amiinien kanssa tavalla, joka kuvataan alla, jolloin saadaan keksinnön yhdisteitä. Reaktion järjestys ei ole ratkaiseva. Esimerkiksi reaktiokaaviossa B muodostunut välituote voitaisiin saattaa reagoimaan heterosyklisen amiinin kanssa, minkä jälkeen suljetaan rengas, jolloin saadaan haluttu lopputuote.

Reaktiokaavio B

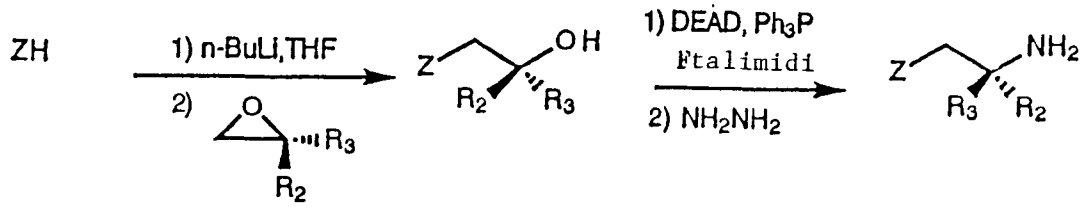


Erilaisia heterosyklisiä amiinieja, jotka ovat käyttökelpoisia muodostettaessa tämän keksinnön yhdisteitä, voidaan valmistaa yhdellä tai useammalla reaktiolla, jotka esitetään reaktiokaavioissa C - J ja valmistelevissa esimerkeissä B - G ja 50 - 74 tässä alla (Het = heterosyklinen ryhmä; Halo = halogeeni; R = esim. vety tai alempi alkyyli; R_a ja Y ovat aikaisemmin kuvattuja).

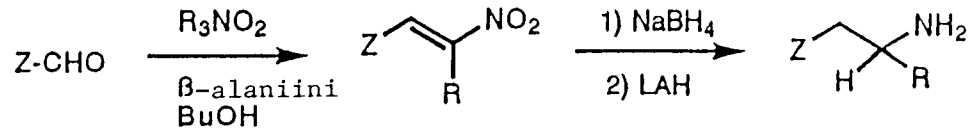
Reaktiokaavio C



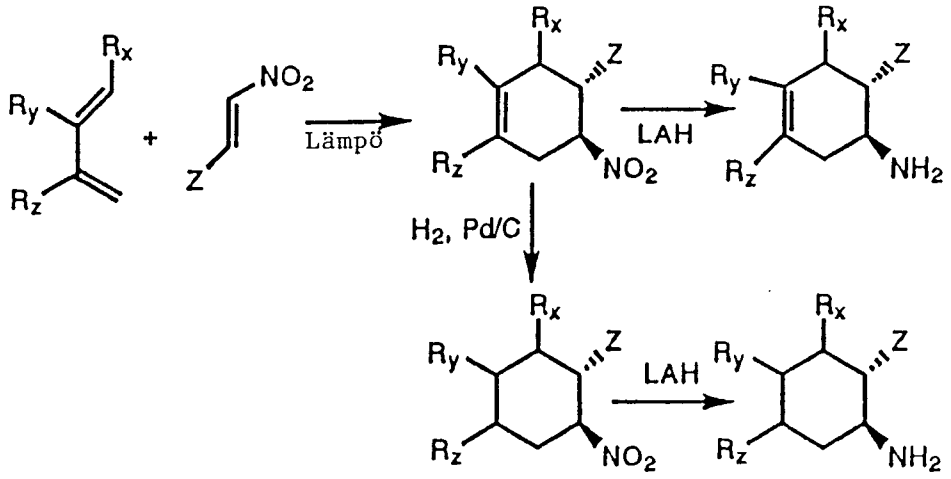
Reaktiokaavio D



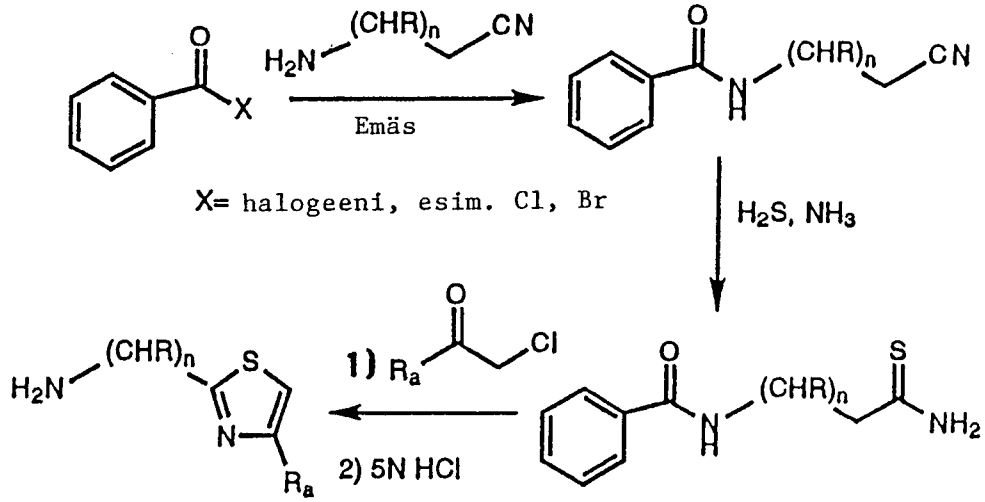
Reaktiokaavio E



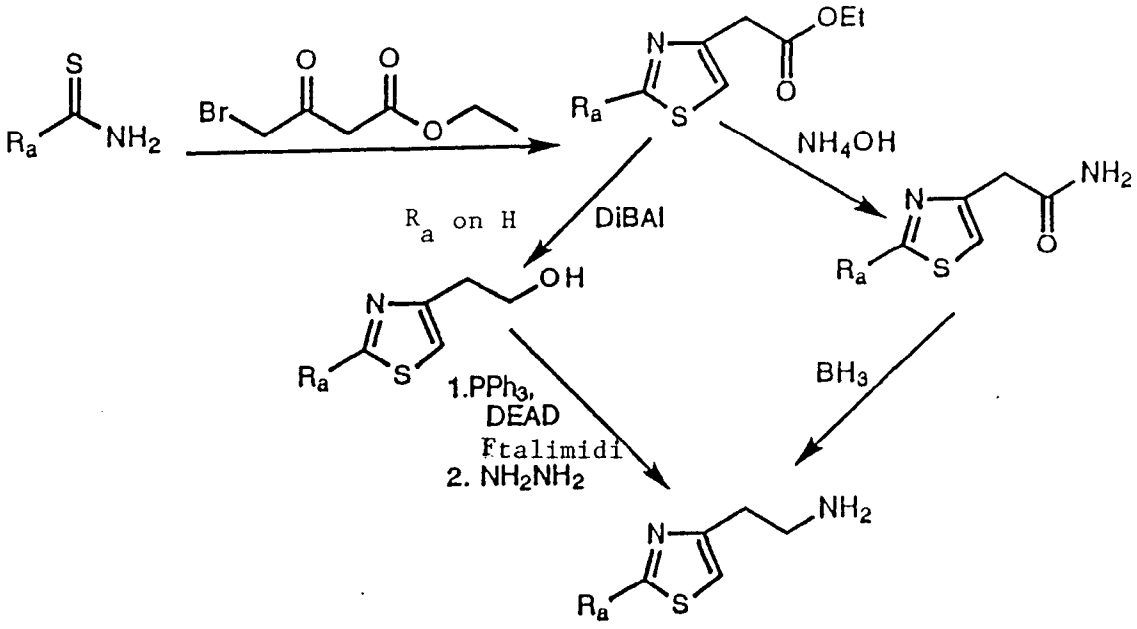
Reaktiokaavio F



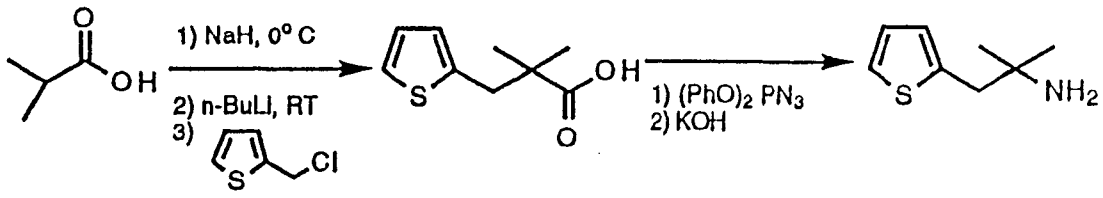
Reaktiokaavio G



Reaktiokaavio H



Reaktiokaavio I



Kaavion I edellä reaktiosekvenssi kuvataan US-patentissa nro 4 321 398, asiaankuuluvat tiedot sisällytetään tähän viittauksella.

Esimerkki B

1-(tiofen-3-yyli)etyyliamiinin valmistus

3-tiofenkarboksaldehydi (1 mmol), nitrometaani (1,5 mmol) ja ß-alaniini (0,1 mmol) butanolissa 6 tunnin ajan, jolloin saadaan 3-nitrovinyleenitiofeeni, joka pelkistetään litiumalumiinihydridillä (2,5 mmol), jolloin saadaan haluttu tuote amiini.

3-substituoidut tienyylialkyyliamiinit valmistetaan substituoimalla 3-substituoidut tiofeenit, kuten 3-kloori-tiofeeni, tiofeenilähtöaineita varten esimerkissä B yllä.

Esimerkki C

Trans-2-(tiofen-2-yyli)sykloheks-4-enyyliamiinin valmistus

1,3-butadieenin (5 ml) ja 2-nitrovinyleenitiofeenin (7 g) seosta tolueenissa kuumennetaan 140 °C:ssa yön yli suljetussa putkessa. Saatua nitrosyklohekseeniä hydrataan (~35 psi (241 kPa) H_2) (5-%:inen Pd/C MeOH) ja käsitellään litiumalumiinihydridillä (2,5 g). Raseeminen trans-2-(tiofen-2-yyli)sykloheksyyliamiini saadaan standardikäsittelyllä.

Esimerkki D

2-substituoitujen tiatsoliamiinien yleinen valmistus

Bentsoyylikloridi ja aminoetyylisyanidi saatetaan reagoimaan, jolloin saadaan N-bentsoyyliaminoetyylisyaniini, joka saatetaan reagoimaan vetysulfidin kanssa ammoniakissa, jolloin saadaan tioamidi, joka saatetaan reagoimaan sopivan α-halogeeniketonin kanssa, jolloin saadaan haluttu tiatsoli. Käsittely 5 N kloorivetyhapolla poistaa suojaavan bentsoyyliryhmän, jolloin saadaan haluttu amiinituote.

Esimerkki E

4-substituoitujen tiatsolyyliamiinien yleinen valmistus

Edullinen synteesi 2-(2'-metyyli-4'-tiatsolyyli)etyyliamiinille on saattamalla tioasetamidi reagoimaan etyylimonobromiasetoasetaatin kanssa, jolloin saadaan tiatsoliesteri, joka pelkistetään edullisesti natriumboorihydridillä, jolloin saadaan alkoholi, joka muutetaan amiiniksi. Edulliset keinot amiinille käsittävät käsittelyn (i) dietyyliatsodikarboksylaatilla, trifenyylifosfiinilla ja ftalimidillä, ja (2) hydratsiinihydraatilla.

4-substituoitujen tiatsoliamiinien valmistus voidaan suorittaa myös käyttäen edellä mainittua reaktiokaaviota saattamalla substituoitu tioamidi ja etyylimonobromiasetoasetaatti reagoimaan. Saadun tiatsolyyliesterin muuttaminen amidiksi suoritetaan vesipitoisella ammoniakilla ja amiini muodostetaan pelkistämällä boraanilla. Tyypillinen 2-(1,1-dimetyyli-1'-tiofenyyli)etyyliamiinin valmistus kuvataan US-patentissa nro 4 321 398.

Reaktiokaavioissa A - I saatujen yhdisteiden tai välituotteiden diastereomeeriset seokset voidaan erottaa yksittäisiksi raseemisiksi tai optisesti aktiivisiksi enantiomeereiksi alalla tunnetuilla menetelmillä; esimerkiksi d- tai l-(tartraatti, dibentsoyylitartraatti, mandelaatti tai kamforisulfonaatti)suolojen kromatografialla, jakotislatuksella tai jakokiteytyksellä.

Esimerkki F

(+) ja (-)-trans-2-(tiofen-2-yyli)syklohek-4-enyyliamiinin valmistus

(S)-(+)-mantelihappo (0,55 ekv.) lisätään esimerkissä C valmistetun raseemisen amiinin (3,4 g) isopropanoliliuokseen. Sakka uudelleenkiteytään isopropanolista, jolloin saadaan 1,78 g suolaa ($[\alpha]_D$RT = +4,13 (c=1,3, MeOH)). Amiinit eristetään uuttamalla neutraloidut suolat (kyll. $NaHCO_3$) CH_2Cl_2:lla, kuivaamalla (Na_2SO_4) ja väkevöimällä, jolloin saadaan vapaita amiineja osittain erotettuina.

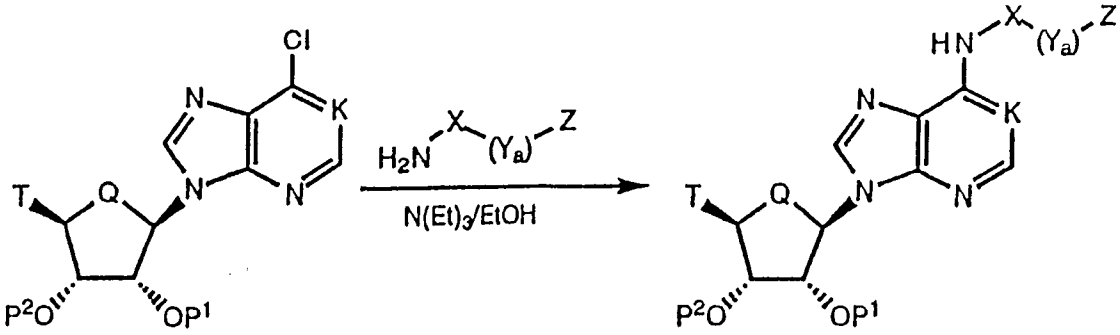
Noin 1 g vasemmalle kiertävää amiinia ($[\alpha]_D$RT = -25,8 (c=1,54, MeOH)) käsitellään 2 g:lla l-(-)-dibentsoyyliviinihappoa metanolissa ja saatua suolaa käsitellään, jolloin saadaan 0,64 g vasemmalle kiertävää amiinia ($[\alpha]_D$RT = -28,8 (c=1,65, MeOH)). Vasemmalle kiertävän amiinin MPTA-amidin korkeakenttä-NMR-analyysi paljasti > 96 %:n enantiomeerisen ylimäärän.

Noin 1,6 g rikastettua oikealle kiertävää amiiniseosta käsitellään 3,2 g:lla d(+)-dibentsoyyliviinihappoa

metanolissa. Käsittelyn jälkeen saadaan 0,87 g oikealle kiertävää amiinia ($[\alpha]_D$RT = +25,8 (c=1,67, MeOH)).

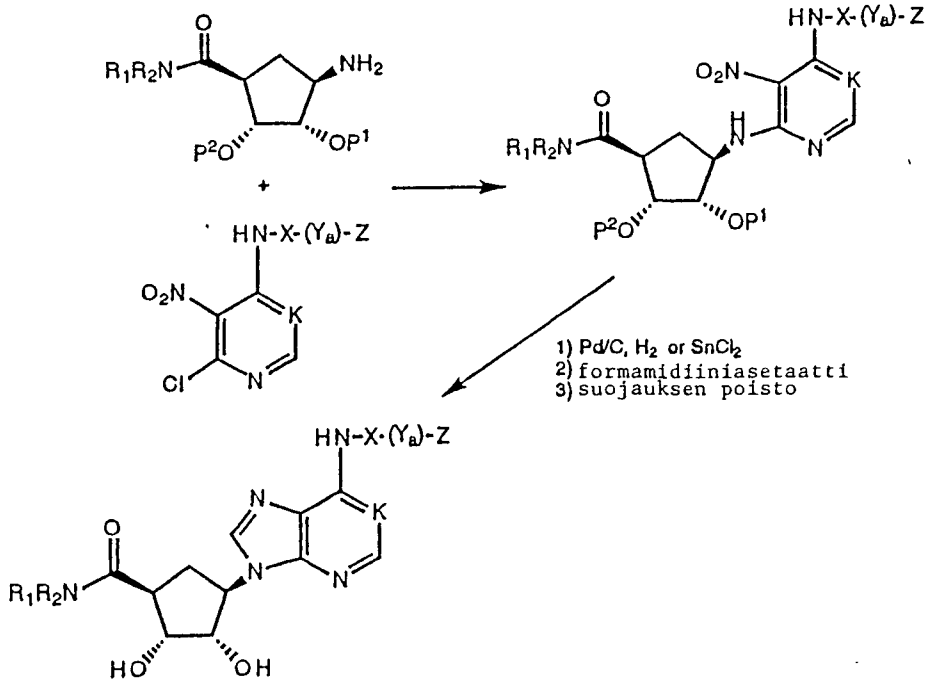
Keksinnön N6-heterosyklisubstituoidut adenosiinit ja karbosykliset adenosiinit voidaan muodostaa saattamalla 6-klooripuriiniribosidi tai reaktiokaavioiden A tai B tuotteet reagoimaan erilaisten heterosyklisten amiinien kanssa alla reaktiokaaviossa J esitetyn synteettisen reitin mukaisesti, jossa K, P, Q ja T ovat aikaisemmin määriteltyjä.

Reaktiokaavio J



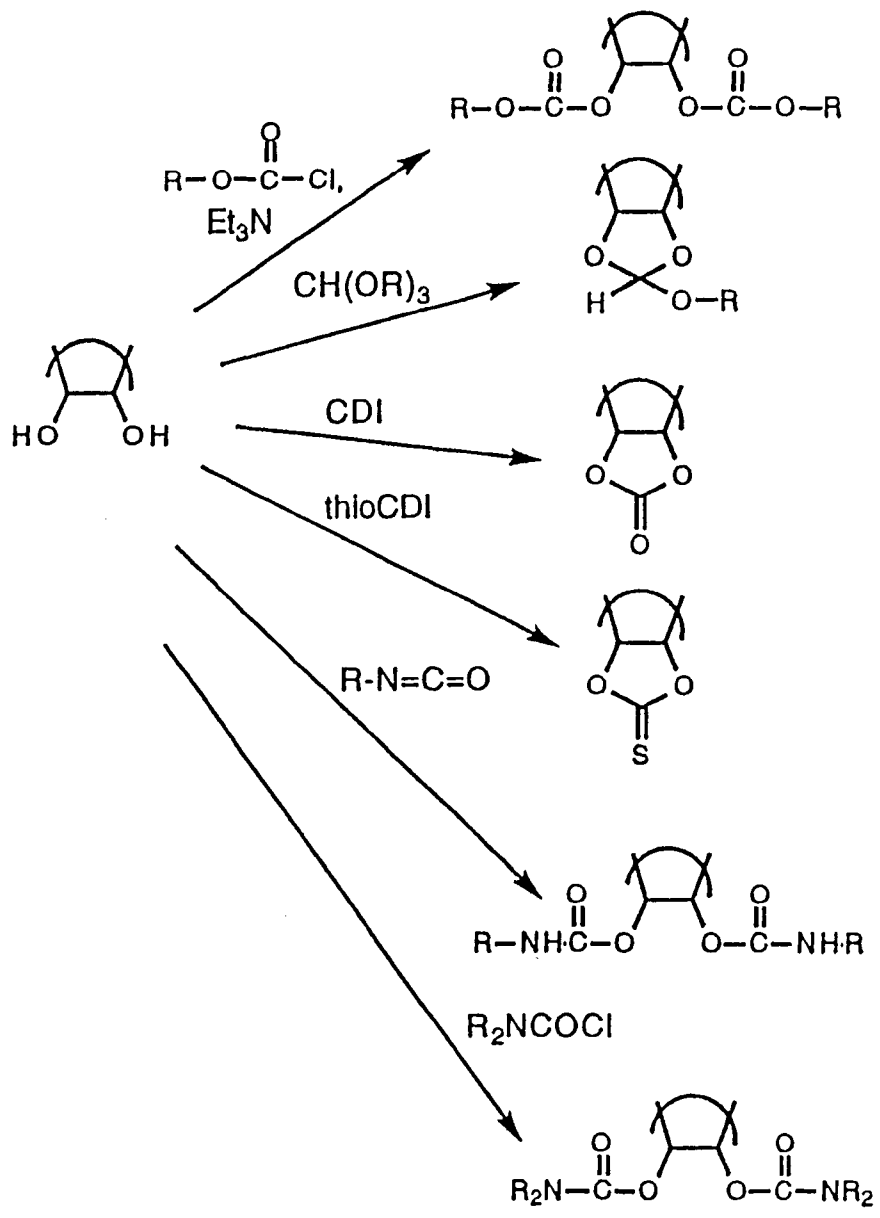
Keksinnön N6-heterosyklisubstituoitu-N'-alkyylideatsa-aristeromysiinit voidaan valmistaa kuten reaktiokaaviossa K on esitetty.

Reaktiokaavio K



Tämän keksinnön yhdisteisiin, jotka voivat toimia aihiolääkkeinä, kuuluvat ne yhdisteet, joissa hydroksyyliryhmät riboosi- tai syklopentaanirenkaassa ovat substituoituja ryhmillä R' ja R", kuten edellä kaavalle I on määritelty. Nämä voidaan valmistaa tunnetuilla menetelmillä ja valaista esimerkeillä valmistuksissa, kuten alla reaktiokaaviossa L esitetään.

Reaktiokaavio L



Dihydroksiyhdisteiden käsittelystä klooriformaattiesterillä orgaanisen emäksen, esimerkiksi trietyyliamiinin, ollessa läsnä saadaan vastaava bis-karbonaatti. Alkoksimetyleeniasetaali voidaan valmistaa käsittelemällä vastaavalla ortoesterillä katalyyttisen määrän p-tolueenisulfonihappoa ollessa läsnä. Karbonaatti on saatavissa käsittelemällä 1,1'-karbonyylidi-imidatsolilla ja tiokarbonaatti käsittelemällä tiokarbonyylidi-imidatsolilla. Alkyyli- ja dialkyylikarbamoyylijohdannaiset voidaan valmistaa käsittelemällä vastaavalla alkyyli-isosyanaatilla tai vastaavasti dialkyylikarbamoyylikloridilla orgaanisen emäksen ollessa läsnä.

Tämän keksinnön yhdisteet, joissa K on N → O, so. N-oksidit, voidaan valmistaa hapettamalla vastaava adenosiini tai karbosyklinen adenosiini tunnetuilla menetelmillä, esimerkiksi käsittelemällä vetyperoksidilla etikkahaposssa.

2'-O-alkyylijohdannaiset voidaan valmistaa tunnetuilla menetelmillä, esimerkiksi sopivan heterosyklyyliamiinin reaktiolla 6-kloori-9-(2'-O-metyyli-ß-D-ribofuranosyyli)-9H-puriinin kanssa.

Lähtöyhdisteiden ja välituotteiden, joita käytetään valmistamaan keksinnön yhdisteitä, funktionaaliset ryhmät voidaan suojata alalla tunnetuilla yleisillä suojaryhmillä. Tavanomaiset suojaryhmät amino- ja hydroksyylifunktionaalisille ryhmille kuvataan esimerkiksi julkaisussa T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley, New York (1984).

Hydroksyyliryhmät voidaan suojata kuten esterit, kuten asyylijohdannaiset, tai eettereiden muodossa. Hydroksyyliryhmät viereisissä hiiliatomeissa voidaan edullisesti suojata ketaalien tai asetaalien muodossa. Käytännössä lähtöyhdisteiden reaktiokaavioissa A ja B viereiset 2'- ja 3'-hydroksyyliryhmät suojataan sopivasti muodostamalla 2',3'-isopropylideenijohdannaisia. Vapaat hydroksyy-

lit voidaan palauttaa happohydrolyysillä, esimerkiksi, tai muilla solvolyysi- tai hydrogenolyysireaktioilla, joita käytetään yleisesti orgaanisessa kemiassa.

Synteesin jälkeen keksinnön yhdisteet tyypillisesti puhdistetaan keskipainenestekromatografialla (MPLC), kromatotronilla, säteittäin kiihdytetyllä ohutkerroskromatografialla, flash-kromatografialla tai pylväskromatografialla silikageelin tai Florsil-matriisin läpi, minkä jälkeen kiteyttämällä. Yhdisteille, joilla on kaava I, jossa K on N, Q on O ja T on R_3O-CH_2, tyypillisiin liuotinsysteemeihin kuuluvat kloroformi:metanoli, etyyliasetaatti:heksaani ja metyleenikloridi:metanoli. Eluaatit voidaan kiteyttää metanolista, etanolista, etyyliasetaatista, heksaanista tai kloroformista.

Yhdisteille, joilla on kaava I, jossa K on N, Q on O ja T on $R_1R_2N-C=O$, tyypilliset liuotinsysteemit käsittävät kloroformi:metanolin. Eluaatit voidaan kiteyttää 50 - 100-%:isesta etanolista (vesipitoinen).

Yhdisteille, joilla on kaava I, jossa Q on CH_2, K on N ja T on $R_1R_2N-C=O$, tyypilliset liuotinsysteemit käsittävät metyleenikloridi:metanolin. Eluaatit voidaan kiteyttää etyyliasetaatista metanolin, etanolin tai heksaanin kanssa tai ilman.

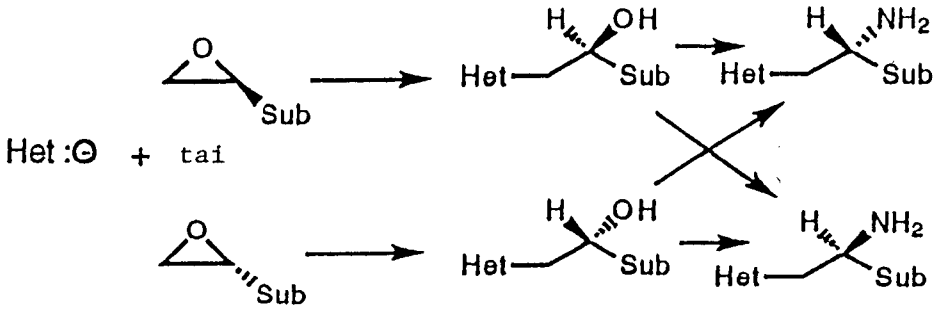
Yhdisteet, jotka vaativat neutralointia, voidaan neutraloida heikolla emäksellä, kuten natriumbikarbonaatilla, minkä jälkeen pestä metyleenikloridilla ja suolaliuoksella. Tuotteet, jotka puhdistetaan öljyinä, joskus trituroidaan heksaani/etanolin kanssa ennen lopullista kiteytystä.

Tämän keksinnön lisäaspekti koskee paranunutta menetelmää oleellisesti optisesti puhtaan 2-substituoitu-2-amino-1-(heteroar-2- tai 3-yyli)etaanijohdannaisen valmistamiseksi. 2-(heteroaryyli)etyyliamiineja ja niiden alkyyli- ja fenyylijohdannaisia on valmistettu erilaisilla keinoilla, mukaan lukien heteroaryyliformaldehydeistä valmis-

tettujen 2-ß-nitrovinyyliheteroaryyliyhdisteiden pelkistyksen (katso, esim. W. Foye ja S. Tovivich, J. Pharm. Scien. **68** (5), 591 (1979), S. Conde, et al., J. Med. Chem. **21** (9), 978 (1978), M. Dressler ja M. Joullie, J. Het. Chem. **7**, 1257 (1970)); syanometyyliheteroaryyliyhdisteiden pelkistyksen (katso, esim. B. Crowe ja F. Nord, J. Org. Chem. **15**, 81 (1950), J. McFarland ja H. Howes, J. Med. Chem. **12**, 1079 (1969)); 2-(2-tienyyli)propyyliamidin Hoffmanin hajotusreaktion (katso, esim. G. Barger ja A. Easson, J. Chem. Soc. **1938**, 2100); ja 2-(2-tienyyli)etyylipara-tolueenisulfonaattien aminoinnin, US-patentti nro 4 128 561.

Tämä menetelmä käsittää kiraalisen 2-substituoidun etyleenioksidijohdannaisen saattamisen reagoimaan heteroaryyliyhdisteen 2- tai 3-yylianionin kanssa ja mainitussa reaktiossa muodostuneen hydroksiryhmän muuttamisen aminoryhmäksi stereospesifillä keinoilla. Tämän keksinnön menetelmä esitetään reaktiokaaviossa M alla.

Reaktiokaavio M



Jossa Sub merkitsee substituenttiryhmää mainitussa kiraalisessa etyleenioksidissa ja Het merkitsee heterosyklistä ryhmää.

Tämän keksinnön menetelmän etu verrattuna alalla tunnettuihin 2-substituoitu-2-amino-1-(heteroar-2- tai 3-yyli)etaanijohdannaisten valmistusmenetelmiin on oleellisesti optisesti puhtaan johdannaisen valmistaminen suoraan verrattuna raseemiseen seokseen, joka täytyy sitten erot-

taa muilla menetelmillä, jolloin saadaan optisesti puhtaat isomeerit.

Tämän keksinnön menetelmän edullinen luokka on se, jossa (heteroar-2- tai 3-yyli)ryhmä on substituoitu tai substituoimaton tien-2- tai 3-yyli tai substituoitu tai substituoimaton (bentsotiofen-2- tai 3-yyli)ryhmä.

Tämän keksinnön menetelmän edullisempi luokka on se, jossa mainittu anioni muodostetaan saattamalla substituoitu tai substituoimaton tiofeeni tai bentsotiofeeni, jossa on vetysubstituentti 2- tai 3-asemassa, reagoimaan metalliorgaanisen emäksen kanssa aproottisessa orgaanisessa liuottimessa.

Tämän keksinnön menetelmän toinen edullisempi luokka on se, jossa mainittu kiraalinen 2-substituoitu etyleenioksidi substituoidaan 2-asemaan ryhmällä, joka valitaan ryhmästä, joka koostuu alkyylistä, aryylistä, trihalogeenimetyylistä ja bentsyylioksista.

Tämän keksinnön menetelmän edullisin luokka on se, jossa mainittu metalliorgaaninen emäs on alkyylilitium- tai litiumdi-isopropyyliamidi, mainittu aproottinen orgaaninen liuotin on tetrahydrofuraani, eetteri, heksaani tai näiden liuottimien seos, ja mainittu kiraalinen 2-substituoitu etyleenioksidi on 2-alkyylietyleenioksidijohdannainen.

Keinot hydroksiryhmän muuttamiseksi stereospesifisesti aminoryhmäksi tunnetaan alalla (katso, esim. Mitsunobu, Synthesis **1981** (1), 1).

Tulisi olla ilmeistä, että (R)- tai (S)-2-substituoitu-2-hydroksi-1-heteroaryylietaanijohdannainen voidaan muodostaa suoraan, kuten edellä on kuvattu käyttämällä vastaavaa (S)- tai (R)-2-substituoitua etyleenioksidijohdannaista lähtöaineena tai, jos halutaan tai on tarpeellista, saatu (R)- tai (S)-2-substituoitu-2-hydroksi-1-heteroaryylietaani voitaisiin muuttaa vastaavaksi (S)- tai (R)-2-substituoitu-2-hydroksi-1-heteroaryylietaanijohdan-

naiseksi, vastaavasti, alalla hyvin tunnetuilla keinoilla konfiguraation kääntämiseksi hydroksiryhmässä (katso, esim. Mitsunobu, Synthesis **1981** (1), 1).

Tämän keksinnön menetelmän spesifinen toteutusmuoto on se, jossa: (a) substituoitua tai substituoimatonta tiofeeniä tai bentsotiofeeniä, jossa on vetysubstituentti 2- tai 3-asemassa, käsitellään butyylilitiumilla tetrahydrofuraanin ja heksaanien seoksessa alennetussa lämpötilassa, esimerkiksi noin -30 °C, ajan, joka on riittävä muodostamaan mainitun tiofeenin tai bentsotiofeenin anioni; (b) sen jälkeen (S)- tai (R)-2-alkyylietyleenioksidi lisätään ja seosta pidetään korkeammassa lämpötilassa, esimerkiksi noin 0 °C, ajan, joka on riittävä muodostamaan vastaava (R)- tai (S)-2-alkyyli-2-hydroksi-1-tienyyli- tai bentsotienyylietaanijohdannainen; ja (c) sen jälkeen mainitun etaanijohdannaisen hydroksiryhmä muutetaan, stereospesifisillä keinoilla, aminoryhmäksi.

Tämän keksinnön menetelmää havainnollistetaan edelleen ja selitetään esimerkeillä 50 - 74 tässä alla.

Esimerkit 1 - 3 kuvaavat esiasteyhdisteiden valmistuksen, joita käytetään tämän keksinnön yhdisteiden valmistuksessa, jotka kuvataan alla.

Esimerkki 1

6-kloori-2',3'-dimetyylimetyleenidioksi-N-5'-etyylikarboksamidoadenosiinin valmistus

Kohta 1: 6-klooripuriiniribosidin 2',3'-dimetyylimetyleenijohdannainen

6-klooripuriiniribosidia (31,5 g), trietyyliortoformaattia (73 ml) ja TsOH:a (19,8 g) sekoitetaan 600 ml:ssa asetonia 2 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Liuos oli reaktioseos väkevöidään tyhjössä, yhdistetään etyyliasetaatin kanssa ja pestään kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella ja suolaliuoksella, kuivataan (Na_2SO_4) ja väkevöidään, jolloin saadaan 6-klooripuriiniribosidin 2',3'-dimetyylimetyleenijohdannainen valkoisena kiinteänä aineena.

Kohta 2: 6-kloori-2',3'-dimetyylimetyleenidioksi-adenosiini-5'-karboksyylihappo

Kohdan 1 tuote (10 g) altistetaan Jones-hapetukselle, happo uutetaan etyyliasetaatista 2,5-%:isella NaOH-liuoksella, ja vesipitoinen osa pestään etyyliasetaatilla ja tehdään happamaksi väkevällä HCl:lla ja uutetaan etyyliasetaatilla. Orgaaninen kerros pestään H_2O:lla ja suolaliuoksella, kuivataan (Na_2SO_4), suodatetaan ja väkevöidään tyhjössä kuiviin, jolloin saadaan haluttu 5'-karboksyylihappo.

Kohta 3: 6-kloori-2',3'-dimetyylimetyleenidioksi-N-5'-etyylikarboksamidoadenosiini

Kohdan 2 tuotetta (5,7 g) sekoitetaan BOP-Cl:n (bis-(2-okso-3-oksatsoladinyyli)fosfiinikloridi) (4,26 g) ja trietyyliamiinin (2,33 ml) kanssa 100 ml:ssa metyleenikloridia 20 minuutin ajan huoneenlämpötilassa. Etyyliamiini (3,46 g) sekoitetaan liuokseen, jota sekoitetaan 2 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Orgaaninen osa pestään laimealla HCl-liuoksella, laimealla NaOH:lla, H_2O:lla, suolaliuoksella ja kuivataan (Na_2SO_4), jolloin saadaan lopputuote vaahtona.

Esimerkki 2

(+)-2S-[2α,3α-dimetyylimetyleenidioksi]-4ß-[6-kloori-9-adenyyli]syklopentaani-1-ß-N-etyylikarboksamidinvalmistus

Kohta 1: 5,6-dimetyleenidioksi-2-atsabisyklo-[2.2.1]heptan-3-oni

5,6-dihydroksi-2-atsabisyklo[2.2.1]heptan-3-oni (23,5 g), (Aldrich) tai valmistettu Cermakin ja Vincen menetelmän mukaisesti, Nucleic Acid Chemistry, Improved and New Synthetic Procedures, Methods and Techniques, Part Three, s. 26 (J. Wiley 1986), liuotetaan asetoniin (150 ml), joka sisältää 2,2-dimetoksipropaania (185 ml) ja p-tolueenisulfonihappoa (5,25 g), ja seosta palautusjäähdytetään 10 minuutin ajan, jäähdytetään, käsitellään NaH-

CO_3:lla (9,3 g) ja väkevöidään tyhjössä. Jäännös liuotetaan CH_2Cl_2:iin, pestään suolaliuoksella, kuivataan $MgSO_4$:lla ja liuotin haihdutetaan, jolloin saadaan öljy. Öljy kromatografoidaan SiO_2 (4:1, etyyliasetaatti heksaani), jolloin saadaan 17,0 g (63 %) kullanruskeaa valkoista kiinteää ainetta (sp. 153 - 154 °C).

Kohta 2: (+)-4ß-amino-2α,3α-dimetyleenidioksisyklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidi

(A) 5,6-dimetyleenidioksi-2-atsabisyklo[2.2.1]heptan-3-onia (5 g), valmistettu kohdassa 1, käsitellään etyyliamiinilla (15 ml) 140 °C:ssa noin 7 tunnin ajan. Saatu tuote puhdistetaan flash-kromatografialla (CH_2Cl_2/CH_3OH/N,N-dimetyylietyyliamiini, (90/7/3)), jolloin saadaan (±)-4ß-amino-2α,3α-dimetyleenidioksisyklopentaani-1ß-etyylikarboksamidi (5,8 g).

(B) Raseemisen amiinin (13,1 g), valmistettu kuten osassa A on kuvattu, käsittelystä D-dibentsoyyliviinihapolla (21,6 g) saadaan 15,1 g enantiomeerisesti puhdasta suolaa, $[\alpha]_D$RT = +70,1 (C. 1,77, CH_3OH). Suola liuotetaan 10-%:iseen vesipitoiseen NaOH:iin ja vesipitoista faasia uutetaan etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset kerrokset pestään suolaliuoksella, kuivataan $MgSO_4$:lla ja liuotin poistetaan, jolloin saadaan optisesti puhdas yhdiste. $[\alpha]_D$RT = +31,4 [C. 1,40, MeOH].

Kohta 3: 4-ß-(3-amino-4-kloori-2-pyrimidinyyliamino)-2,3-dimetyleenidioksisyklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidi

(+)-4ß-amino-2α,3α-dimetyleenidioksisyklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidin (2,10 g), valmistettu kohdan 2 osassa B, kondensaatiosta 3-amino-2,4-diklooripyridiinin (1,5 g) kanssa n-butanolissa (70 ml), joka sisältää trietyyliamiinia (3 ml), noin 14 tunnin palautusjäähdytyksen ajan, minkä jälkeen liuottimen poistosta tyhjössä saadaan öljy, joka liuotetaan etyyliasetaattiin ja pestään vesipitoisella $NaHCO_3$:lla. Orgaaninen uute kuivataan Na_2SO_4:lla

ja väkevöidään tyhjössä, jolloin saadaan optisesti puhdas yhdiste. $[\alpha]_D RT$ = +15,8 (C. 41,48, CH_3OH).

Kohta 4: (+)-4ß-(3-amino-4-kloori-2-pyrimidinyyliamino)-2α,3α-dimetyleenidioksisyklopentaania (2,10 g), formamidiiniasetaattia (1,85 g) metoksietanolissa (2 ml) ja dioksaanissa (80 ml) sekoitetaan 70 °C:ssa noin 3 tunnin ajan. Seos jäähdytetään huoneenlämpötilaan ja liuotin poistetaan tyhjössä. Jäännös liuotetaan etyyliasetaattiin, joka pestään vesipitoisella $NaHCO_3$:lla ja suolaliuoksella, orgaaninen uute kuivataan Na_2SO_4:lla, väkevöidään tyhjössä ja puhdistetaan flash-pylväskromatografialla (metyleenikloridi/metanoli 95:5), jolloin saadaan puhdas (+)-[2α,3α-dimetyylimetyleenidioksi]-4ß-[6-kloori-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidi (1,45 g).

Vaihtoehtoisesti, optisesti puhtaat 2α,3α-disuojatutdioksi-4ß-6-substituoitu-9-adenyylisyklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidijohdannaiset voidaan valmistaa esimerkissä 3 esitetyllä reaktiokaaviolla.

Esimerkki 3

2S-[2α,3α-sykloheksylideenidioksi]-4ß-[N6-(2-tienetan-2-yyli)-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidin valmistus

Kohta 1: 4ß-etyleeni-2α,3α-[sykloheksylideenidioksi]syklopentanoni

(-)-2α,3α-[sykloheksylideenidioksi]-4-syklopentenoni (2,95 g), joka on valmistettu Borchardt et al., J. Org. Chem. 1987, 52, 5457, menetelmä seuraten, lisätään liuoksena THF:ssa (5 ml) vinyylimagnesiumbromidin (15,2 mmol) ja CuI:n (15,2 mmol) seokseen THF:ssa (100 ml). Tätä seosta pidetään -78 °C:ssa käyttäen inerttiä atmosfääriä noin 2 tunnin ajan, lämmitetään 0 °C:seen ja vaimennetaan kylläisellä vesipitoisella NH_4Cl:lla. Orgaaninen faasi pestään suolaliuoksella, kuivataan $MgSO_4$:lla ja väkevöidään tyhjössä, jolloin jää keltainen öljy, joka puhdistetaan flash-

kromatografialla (metyleenikloridi, 100 %), jolloin saadaan 2,9 g haluttua yhdistettä öljynä.

Kohta 2: 4ß-etyleeni-1-ß-hydroksi-2α,3α-[syklohek-sylideenidioksi]syklopentaani

3,95 ml 1 M di-isobutyylialumiinihydridin liuosta tetrahydrofuraanissa lisätään THF:n (75 ml) ja kohdassa 1 valmistetun ketonin (0,73 g) liuokseen, joka jäähdytetään -78 °C:seen. Seos lämmitetään -40 °C:seen noin 2,5 tunniksi, käsitellään 2 N NaOH:lla (5 ml), lämmitetään huoneenlämpötilaan ja sekoitetaan noin 1,5 tunnin ajan. Vesipitoista faasia uutetaan dietyylieetterillä ja yhdistetyt orgaaniset faasit pestään suolaliuoksella, kuivataan $MgSO_4$:llä ja väkevöidään tyhjössä keltaiseksi öljyksi, joka puhdistetaan flash-pylväskromatografialla (metyleenikloridi/metanoli, 95:5), jolloin saadaan 0,65 g puhdasta tuotetta viskoosina öljynä.

Kohta 3: 4ß-etyleeni-1ß-trifluorimetaanisulfonyyli-2,3-[sykloheksylideenidioksi]syklopentaani

4ß-etyleeni-1ß-hydroksi-2α,3α-[sykloheksylideenidioksi]syklopentaani (0,65 g) metyleenikloridissa (5 ml) ja pyridiinissä (0,24 ml) lisätään trifluorimetyylisulfonyylianhydridin (0,49 ml) sekoitettuun liuokseen metyleenikloridissa (25 ml) 0 °C:ssa käyttäen argonia. Noin 20 minuutin kuluttua suolaliuos lisätään reaktioseokseen, orgaaninen faasi kuivataan Na_2SO_4:llä ja liuotin poistetaan tyhjössä, jolloin saadaan haluttu tuote oranssina öljynä, jota käytetään ilman lisäpuhdistusta.

Kohta 4: 1-ß-etyleeni-[2α,3α-sykloheksylideenidioksi]-4-ß-[N6-(2-tienyylietaani-2-yyli)-9-adenyyli]syklopentaani

Liuos, jonka muodostivat N6-tiofenyylietyylipuriini (2,13 g) NaH (50-%:inen öljydispersio, 0,35 g) ja 18-kruunu-6 (0,15 g) DMF:ssa (60 ml), lisätään 4ß-etyleeni-1ß-trifluorimetyylisulfonyyli-2α,3α-[sykloheksylideenidioksi]syklopentaanin, joka on valmistettu kohdassa 4, liuok-

seen DMF:ssa (2 ml) 0 °C:ssa. Seosta sekoitetaan 0 °C:ssa noin 8 tunnin ajan, vaimennetaan kylläisellä NH_4Cl:lla, liuotin poistetaan tyhjössä, ja jäännös yhdistetään etyyliasetaatin (100 ml) ja suolaliuoksen kanssa. Orgaaninen kerros kuivataan $MgSO_4$:lla ja väkevöidään tyhjössä, ja raaka tuote puhdistetaan flash-kromatografialla (metyleenikloridi/metanoli (99:1)), jolloin saadaan 0,85 g puhdasta tuotetta.

Kohta 5: 2S-[2α,3α-sykloheksylideenidioksi]-4ß-[N6-(2-tienyylietan-2-yyli)-9-adenyyli]syklopentaani-1-ß-N-etyylikarboksamidi

1ß-etyleeni-[2α,3α-sykloheksylideenidioksi]-4-ß-[N6-(2-tienyylietan-2-yyli)-9-adenyyli]syklopentaanin (0,32 g) liuos 2 ml:ssa bentseeniä lisätään kaliumpermanganaatin (0,29 g) ja 18-kruunu-6:n (0,016 g) bentseeniliuokseen 0 °C:ssa. Reaktioseosta pidetään huoneenlämpötilassa noin 6 tunnin ajan, 5-%:inen vesipitoinen NaOH (15 ml) lisätään ja vesipitoinen faasi suodatetaan Celite®:n läpi ja tehdään happamaksi pH-arvoon 5 1 N HCl:lla ja uutetaan etyyliasetaatilla. Orgaaniset uutteet kuivataan $MgSO_4$:lla ja väkevöidään tyhjössä, jolloin saadaan 0,1 g [2α,3α-sykloheksylideenidioksi]-4ß-[N6-(2-tienyylietan-2-yyli)-9-adenyyli]syklopentaani-1-ß-karboksylaattia keltaisena öljynä, joka liuotetaan metyleenikloridiin (4 ml), joka sisältää disykloheksyylikarbodi-imidiä (DCC) (0,044 g). Etyyliamiini (0,4 ml) lisätään seokseen, jonka annetaan sekoittua huoneenlämpötilassa noin 18 tunnin ajan, liuotin poistetaan tyhjössä ja raaka tuote puhdistetaan flash-kromatografialla (metyleenikloridi/metanoli 98:2), jolloin saadaan 0,077 g puhdasta tuotetta.

Esimerkki 4

N6-[trans-2-(tiofen-2-yyli)sykloheks-4-enyyli]adenosiinin valmistus

Trans-2-(2'-tiofenyyli)sykloheks-4-enyyliamiinia (0,3 g), joka on valmistettu esimerkissä C edellä kuvatun

menetelmän mukaisesti, 6-klooripuriiniribosidia (0,28 g) ja trietyyliamiinia (0,27 ml) 20 ml:ssa etanolia kuumennetaan palautusjäähdyttäen yön yli käyttäen argonia. Reaktioseos jäähdytetään huoneenlämpötilaan, liuotin poistetaan ja jäännös puhdistetaan MPLC:llä (kloroformi:metanoli; 95:5), minkä jälkeen kuivataan tyhjössä noin 80 °C:ssa, jolloin saadaan lopputuote kiinteänä aineena, sp. 105 - 110 °C; alkuaineanalyysi, $C_{20}H_{23}N_5O_4S$.

Esimerkki 5

N6-[trans-2-(tiofen-2-yyli)sykloheks-4-en-1-yyli]-adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidin valmistus

Kohta 1: (+)-trans-2-(tiofen-2-yyli)sykloheks-4-enyyliamiini ja 6-Cl-NECA:n 2',3'-dimetyylimetyleenidioksijohdannainen saatetaan reagoimaan käyttäen esimerkissä 4 kuvattuja olosuhteita, jolloin saadaan lopputuotteen 2',3'-dimetyylimetyleenidioksijohdannainen.

Kohta 2: Halutun tuotteen 2',3'-dimetyylimetyleenidioksijohdannaista sekoitetaan trifluorietikkahappo/veden (90/10) kanssa 30 minuutin ajan huoneenlämpötilassa, neutraloidaan kaatamalla seos hitaasti kylläiseen natriumbikarbonaattiliuokseen ja uutetaan metyleenikloridilla. Vesipitoista kerrosta uutetaan metyleenikloridilla ja orgaaniset kerrokset yhdistetään, pestään suolaliuoksella, kuivataan magnesiumsulfaatilla ja suodatetaan, ja suodatettu kirkas liuos haihdutetaan. Jäännös puhdistetaan flash-kromatografialla (metyleenikloridi:metanoli 9:1), jolloin saadaan, tyhjössä kuivauksen jälkeen, lopputuote valkoisena lasimaisena vaahtona, sp. 112 - 117 °C; $C_{22}H_{26}N_6O_4S$.

Esimerkki 6

(-)-[2S-[2α,3α-dihydroksi-4-ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino]-9-adenyyli]syklopentaani]-1-ß-N-etyylikarboksamidin valmistus

Kohta 1: Optisesti puhdas (+)-[2S-[2α,3α-dimetyylimetyleenidioksi]-4-ß-(6-kloori-9-adenyyli)]syklopentaani-1-ß-N-etyylikarboksamidi, joka on valmistettu kuten esi-

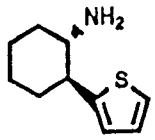
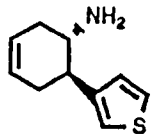
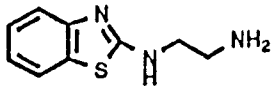
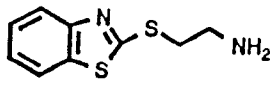
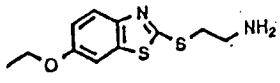
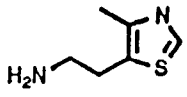
merkissä 2 kuvataan, ja 2'R-(5-klooritien-2-yyli)-2-propyyliamiini, $[\alpha]_D RT$ = -15,6 (C. 3,7, CH_3OH), joka on valmistettu kuten esimerkissä 4 kuvataan, yhdistetään kuten esimerkissä 4 kuvataan, jolloin saadaan lopputuotteen 2,3-dimetyylimetyleenidioksijohdannainen.

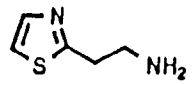
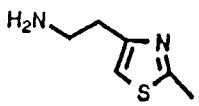
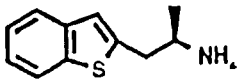
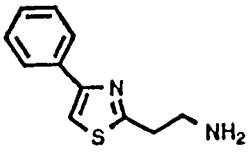
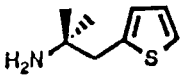
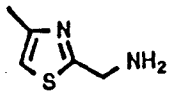
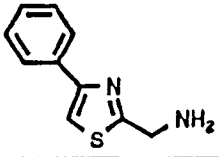
Kohta 2: Kohdan (1) dimetyylimetyleenidioksijohdannaista kuumennetaan 5 ml:ssa 50-%:ista vesipitoista muurahaishappoa palautusjäähdyttäen noin 3 tunnin ajan. Jäähdytetty reaktioseos haihdutetaan, tolueeni lisätään kiinteään jäännökseen ja liuotin haihdutetaan. Jäännös liuotetaan etyyliasetaattiin, pestään natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella, kuivataan, suodatetaan ja haihdutetaan, jolloin saadaan uunissa yön yli kuivauksen jälkeen valkoinen kiinteä tuote (0,240 g), sp. 188-4 °C; $C_{20}H_{25}N_6SO_3Cl$, $[\alpha]_D RT$ = -86,49 (C. 5,5, MeOH).

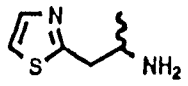
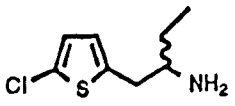
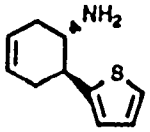
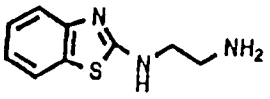
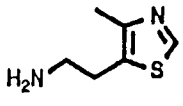
Esimerkit 7 - 29, 31 - 34

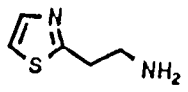
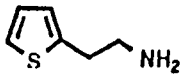
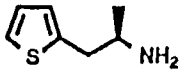
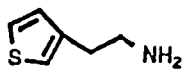
Seuraten esimerkkien 1 - 6 edellä yleisiä menetelmiä valmistettiin taulukossa 1 esitetyt keksinnön yhdisteet. Esimerkeissä 7 - 21, 31 ja 32 heterosyklinen amiini saatettiin reagoimaan kaupallisesti saatavilla olevan 6-klooripuriiniribosidin kanssa; esimerkeissä 22 ja 23 heterosyklinen amiini saatettiin reagoimaan N6-kloori-5'-N-etyylikarboksamidoadenosiinin kanssa; ja esimerkeissä 24 - 31, 33 ja 34 heterosyklinen amiini saatettiin reagoimaan joko (±) tai (+)-[2S-[2α,3α-dimetyylimetyleenidioksi-4-ß-(6-kloori-9-adenyyli)syklopentaani-1-ß-N-etyylikarboksamidin kanssa.

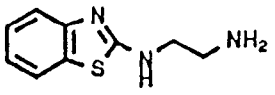
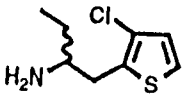
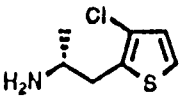
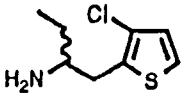
Taulukko 1

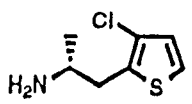
Esimerkki/ RXN kaavio	Amiini	Tuote	Sp./°C
7 (F)		N^6-[trans-2-(tiofen-2-yyli)-sykloheks-1-yyli]adenosiini	165 - 170
8 (F)		N^6-[trans-2-(tiofen-3-yyli)-sykloheks-4-en-1-yyli]adenosiini	99 - 105
9 (C)		N^6-[2-(2'-aminobentsotiatsolyyli)etyyli]-adenosiini	218 - 219
10 (C)		N^6-[2-(2'-tiobentsotiatsolyyli)etyyli]-adenosiini	149 - 150
11 (C)		N^6-[2-(6'-etoksyyli-2'-tiobentsotiatsolyylietyyli]adenosiini	154 - 155
12 (H)		N^6-[2-(4'-metyylitiatsol-5'-yyli)etyyli]adenosiini	202 - 203

Esimerkki/ RXN kaavio	Amiini	Tuote	Sp./°C
13 (G)		N^6-[2-(2'-tiatsolyyli)etyyli]adenosiini	181 - 183
14 (H)		N^6-[2-(2'-metyyli-4'-tiatsolyyli)etyyli]adenosiini	116 - 118
15 (D)		N^6-[(R)-1-metyyli-2-(2'-bentso[b]-tiofenyyli)-etyyli]adenosiini[a]	133 - 134
16 (G)		N^6-[2-(4'-fenyyli-2'-tiatsolyyli)etyyli]adenosiini	124 - 126
17 (I)		N^6-[2-(1,1-dimetyyli-2'-tiofenyyli)etyyli]adenosiini	172 - 176
18 (G)		N^6-[2-(4'-metyyli-2'-tiatsolyyli)metyyli]adenosiini	104 - 105
19 (G)		N^6-[4-fenyyli-2-tiatsolyyli)metyyli]adenosiini	137 - 139

Esimerkki/ RXN kaavio	Amiini	Tuote	Sp./°C
20 (D)		N^6-[1-(tiatsol-2-yyli)prop-2-yyli]adenosiini	99 - 106
21 (D)		N^6-[1-(5"-kloo-ritien-2"-yyli)-2-butyyli]adeno-siini	135 - 136
22 (F^d)		N^6-[trans-2(tio-fen-2-yyli)syk-loheks-4-en-1-yyli]adenosiini-5-N-etyylikar-boksamidi[b]	108 - 112
23 (C^d)		N^6-[2-(2'-(ami-nobentsotiatso-lyyli)etyyli]-adenosiini-5-N-etyylikarboksa-midi	123 - 124
24 (H)		(±)-N^6-[2-(4"-metyyli-5"-tiat-solyyli)etyy-li]karbosyklinen adenosiini-5'-N-etyylikarboksa-midi	92 - 93

Esimerkki/ RXN kaavio	Amiini	Tuote	Sp./°C
25 (G)		(±)-N^6-[2-(2"-tiatsolyyli)-etyyli]karbosyklinen adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi	170
26		(-)-N^6-[(tiofen-2"-yyli)etan-2-yyli]karbosyklinen adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi	185 - 187
27 (D)		(-)-N^6-[(R)-1-(tiofen-2-yyli)prop-2-yyli]karbosyklinen adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi[c]	85 - 87
28 (E)		(±)-N^6-[1-(tiofen-3-yyli)etan-2-yyli]karbosyklinen adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi	195 - 198

Esimerkki/ RXN kaavio	Amiini	Tuote	Sp./°C
29 (C)		(±)-N^6-[2-(2'-aminobentsotiatsolyyli)etyyli]karbosyklinen adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi	209 - 211
31 (D)		N^6-[1-etyyli-2-(3-klooritien-2-yyli)etyyli]adenosiini	137 - 139
32 (D)		N^6-[1-metyyli-2-(3-klooritien-2-yyli)etyyli]adenosiini	137 - 139
33 (D)		(-)-[2S-[2α,3α-dihydroksi-4ß-[N^6-[2-(3-kloori-2-tienyyli)-1(R,S)-etyylietyyli]amino]-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-etyylikarboksamidi	88 - 91

Esimerkki/ RXN kaavio	Amiini	Tuote	Sp./°C
34		(-)-[2S-[2α,3α-dihydroksi-4ß-[N^6-[2-(3-kloori-2-tienyyli)-1(R)-etyylietyyli]amino]-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-etyylikarboksamidi	95 - 96

[a] amiinin alkoholin esiasteen optinen rotaatio: $[\alpha]^{RT}$ = +14,9° (C. 1,27, CH_3OH)

[b] amiinin optinen rotaatio: $[\alpha]^{RT}$ = +25,8° (C. 1,67, CH_3OH)

[c] optinen rotaatio: $[\alpha]^{RT}$ = -15,6° (C. 3,04, CH_3OH)

[d] amiini reagoi N^6-kloori-5'-N-etyylikarboksamidiadenosiinin 2',3'-isopropylideenijohdannaisen kanssa; suojauksen poisto esimerkin 11 menetelmän mukaisesti.

Esimerkki 30

(±)-N6-[1-(tiofen-2-yyli)etan-2-yyli]-N'-1-deatsaaristeromysiini-5'-N-etyylikarboksamidin valmistus

Kohta 1: 2-kloori-3-nitro-4-[2-(2-tiofenyyli)etyyli]aminopyridiini

Seosta, jonka muodostavat 2,4-dikloori-3-nitropyridiini (1,5 g), 2-aminoetyylitiofeeni (1 g) ja trietyyliamiini (5 ml), kuumennetaan palautusjäähdyttäen EtOH:ssa (60 ml). Reaktioseos jäähdytetään, liuotin haihdutetaan ja jäännös kromatografoidaan silikageelillä (10-%:inen heksaani/CH_2Cl_2), jolloin saadaan haluttu lisätuote.

Kohta 2: (±)-1ß-N-etyylikarboksamidi-2α,3α-isopropylideenidioksi-4ß-[2-(3-nitro-4-[2-(2-tiofenyyli)etyyli]-aminopyridyyli)amino]syklopentaani

Seosta, jonka muodostavat kohdan (1) tiofenyyliaminopyridiini (1,8 mmol), (±)-1ß-N-etyylikarboksamidi-4ß-amino-2α,3α-isopropylideenidioksisyklopentaani (0,3 g) ja trietyyliamiini (0,3 ml), kuumennetaan palautusjäähdyttäen nitrometaanissa (15 ml) noin 5 tunnin ajan. Liuotin poistetaan ja jäännös otetaan talteen metyleenikloridiin, kromatografoidaan silikageelillä (2-%:inen metanoli/kloroformi), jolloin saadaan kiinteä tuote, jota käytetään seuraavassa kohdassa.

Kohta 3: (±)-1ß-N-etyylikarboksamidi-2α,3α-isopropylideenidioksi-4ß-[2-(3-nitro-4-[2-(2-tiofenyyli)etyyli]-aminopyridyyli)amino]syklopentaani

Seosta, jonka muodostavat kohdan (2) nitroyhdiste (0,39 g), Pd/C (0,01 g) etanolissa (7 ml), sekoitetaan käyttäen vetyatmosfääriä noin 5 tunnin ajan. Katalyytti suodatetaan ja suodos haihdutetaan, jolloin saadaan öljy, joka puhdistetaan florisilillä (10-%:inen metanoli/metyleenikloridi), jolloin saadaan haluttu tuote kiinteänä aineena.

Kohta 4: (±)-N6-[1-(tiofen-2-yyli)etan-2-yyli]-N'-1-deatsa-aristeromysin-5'-N-etyylikarboksamidi

Seosta, jonka muodostavat kohdan (3) aminoyhdiste (0,31 g) ja formamidiiniasetaatti (0,72 g) metoksietanolissa (30 ml), kuumennetaan palautusjäähdyttäen noin 3 tunnin ajan. Reaktioseos jäähdytetään, liuotin haihdutetaan ja vesi (5 ml) ja muurahaishappo (5 ml) lisätään jäännökseen. Hapanta seosta kuumennetaan 50 °C:seen noin 5 tunnin ajan, minkä jälkeen liuotin poistetaan ja jäännös kromatografoidaan silikageelillä (10-%:inen metanoli/metyleenikloridi), jolloin saadaan öljy, joka uudelleenkiteytetään etyyliasetaatista halutuksi tuotteeksi kiteisenä kiinteänä aineena, sp. 155 - 156 °C.

Optisesti puhdas yhdiste valmistetaan käyttäen syklopentaaniamiinin + tai - enantiomeeriä kohdassa (2).

Esimerkki 35

(2S)-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidi-N^1-oksidin valmistus

Liuosta, jonka muodostavat 2S-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidi (0,25 g) ja jääetikka (20 ml) 30-%:isessa vetyperoksidissa (1 l), sekoitetaan 4 vuorokauden ajan huoneenlämpötilassa ja seos väkevöidään tyhjössä. Jäännös puhdistetaan flash-kromatografialla eluoiden 20-%:isella metanolilla etyyliasetaatissa, minkä jälkeen sekoitetaan kuuman metanolin kanssa ja suodatetaan, jolloin saadaan haluttu tuote, sp. > 240 °C.

Esimerkki 36

[1S-[1α,2ß,3ß,4α(S*)]]-4-[7-[[2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-metyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidin valmistus

Kohta 1: 2-kloori-4-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-3-nitropyridiinin valmistus

Käyttäen olennaisesti esimerkin 30 kohdan 1 menetelmää ja puhdistaen raakatuote flash-kromatografialla, eluoiden gradientilla 10 - 30-%:inen etyyliasetaatti heptaanissa valmistetaan haluttu tuote 2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyliamiinista.

Kohta 2: (-)-1ß-N-etyyli-2α,3α-isopropylideenidioksi-4ß-[4-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]-amino-3-nitro-2-pyridyyli]aminosyklopentaanikarboksamidin valmistus

2-kloori-4-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-3-nitropyridiini (0,68 g), (-)-1ß-N-etyyli-2α,3α-isopropylideenidioksi-4ß-aminosyklopentaanikarboksa-

midi (0,381 g) ja trietyyliamiini (0,85 ml) yhdistetään etanolissa (50 ml) ja seosta kuumennetaan palautusjäähdyttäen noin 18 tunnin ajan. Seos väkevöidään tyhjössä ja raakatuote puhdistetaan flash-kromatografialla eluoiden 0,5-%:isella metanolilla metyleenikloridissa, jolloin saadaan haluttu tuote.

Kohta 3: (-)-1ß-N-etyyli-2α,3α-isopropylideenidioksi-4ß-[3-amino-4-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-2-pyridyyli]aminosyklopentaanikarboksamidin valmistus

(-)-1ß-N-etyyli-2α,3α-isopropylideenidioksi-4ß-[4-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-3-nitro-2-pyridyyli]aminosyklopentaanikarboksamidi (0,90 g) ja tina(II)kloridin dihydraatti (2,1 g) yhdistetään etanolissa (20 ml) ja seosta kuumennetaan 70 °C:ssa noin 30 minuutin ajan. Seos kaadetaan jäähän, tehdään hieman alkaliseksi vesipitoisella natriumbikarbonaatilla ja vesipitoista uutetaan etyyliasetaatilla. Etyyliasetaattiliuos kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan ja väkevöidään tyhjössä, jolloin saadaan haluttu tuote, jota käytetään seuraavaa kohtaa varten ilman lisäkäsittelyä.

Kohta 4: [1S-[1α,2ß,3ß,4α(S*)]]-4-[7-[[2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-metyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidin valmistus

Käyttäen olennaisesti esimerkin 30 kohdan 4 menetelmää valmistetaan haluttu tuote, sp. 164 - 165 °C, (-)-1ß-N-etyyli-2α,3α-isopropylideenidioksi-4ß-[3-amino-4-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-2-pyridyyli]aminosyklopentaanikarboksamidista.

Käyttäen olennaisesti esimerkin 30 menetelmää valmistetaan esimerkkien yhdisteet sopivista lähtöaineista.

Esimerkki 37

[1S-[1α,2ß,3ß,4α]]-4-[7-[[2-(3-kloori-2-tienyyli)-1-etyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-

etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi, sp. 79 - 82 °C.

Esimerkki 38

[1S-[1α,2ß,3ß,4α]]-4-[7-[[2-(2-tienyyli)-1-isopropyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi, sp. 75 - 85 °C.

Esimerkki 39

[1S-[1α,2ß,3ß,4α(S*)]]-4-[7-[[2-(3-kloori-2-tienyyli)-1-etyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi, sp. 75 - 78 °C.

Esimerkki 40

[1S-[1α,2ß,3ß,4α(S*)]]-4-[7-[[2-(2-tienyyli)-1-metyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi, sp. 155 - 60 °C.

Esimerkki 41

[1S-[1α,2ß,3ß,4α]]-4-[7-[[2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-etyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidin valmistus

Käyttäen olennaisesti esimerkin 36 menetelmiä valmistetaan haluttu tuote, sp. 77 - 85 °C, 2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-etyylietyyliamiinista.

Esimerkki 42

(2S)-2α,3α-bis-metoksikarbonyylioksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidin valmistus

Liuokseen, jonka muodostavat (2S)-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidi (0,56 g) ja trietyyliamiini (0,5 ml) ja 4-dimetyyliaminopyridiini (1 mg) tetrahydrofuraanissa (25 ml), lisätään metyylikloorifomaatti (0,21 ml) ja liuosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa 1 tunnin ajan. Seos laimennetaan etyy-

liasetaatilla, pestään suolaliuoksella, ja orgaaninen liuos kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan ja väkevöidään tyhjössä. Raaka tuote uudelleenkiteytetään heksaani/etyyliasetaatista, jolloin saadaan haluttu tuote, sp. 74 - 76 °C.

Esimerkki 43

(2S)-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidin etoksimetyleeniasetaalin valmistus

Liuosta, jonka muodostavat (2S)-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidi (0,14 g), trietyyliortoformaatti (3 ml) ja p-tolueenisulfonihappo (1 mg), kuumennetaan palautusjäähdyttäen noin 1 tunnin ajan ja liuotin poistetaan sitten tyhjössä. Jäännös liuotetaan etyyliasetaattiin ja liuos pestään suolaliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla, suodatetaan, väkevöidään tyhjössä. Raaka tuote puhdistetaan flash-kromatografialla eluoiden 5-%:isella metanolilla metyleenikloridissa, minkä jälkeen uudelleenkiteytetään heksaani/etyyliasetaatista, jolloin saadaan haluttu tuote, sp. 67 - 70 °C.

Esimerkki 44

(2S)-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidi-2,3-karbonaatin valmistus

Liuosta, jonka muodostavat (2S)-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidi (0,17 g) ja 1,1'-karbonyylidi-imidatsoli (0,071 g) bentseenissä (5 ml), palautusjäähdytetään 5 tunnin ajan, sitten sekoitetaan 60 °C:ssa noin 18 tunnin ajan. Liuos pestään suolaliuoksella, kuivataam magnesiumsulfaatilla, suodatetaan ja väkevöidään tyhjössä. Jäännös puhdistetaan flash-kromatografialla eluoiden 5-%:isella metanolilla

metyleenikloridissa, minkä jälkeen kiteytetään heksaani/etyyliasetaatista, jolloin saadaan haluttu tuote, sp. 87 - 89 °C.

Esimerkki 45

(2S)-2α,3α-bis-metyylikarbamoyylioksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]-syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidin valmistus

Liuokseen, jonka muodostaa (2S)-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidi (0,16 g) tetrahydrofuraanissa (5 ml), lisätään metyyli-isosyanaatti (0,05 ml) ja 1,8-diatsabisyklo[5.4.0]undek-7-eeni (1 tippa). Liuosta sekoitetaan 50 °C:ssa noin 2,5 tunnin ajan, jäähdytetään huoneenlämpötilaan, laimennetaan etyyliasetaatilla ja pestään suolaliuoksella. Orgaaninen liuos pestään suolaliuoksella, kuivataan magnesiumsulfaatilla ja väkevöidään tyhjössä. Jäännös puhdistetaan flash-kromatografialla eluoiden 5-%:isella metanolilla metyleenikloridissa, minkä jälkeen kiteytetään heksaani/etyyliasetaatista, jolloin saadaan haluttu tuote, sp. 97 - 99 °C.

Esimerkki 46

(2S)-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidi-2,3-tiokarbonaatin valmistus

Liuosta, jonka muodostavat (2S)-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidi (0,35 g) ja tiokarbonyylidi-imidatsoli (0,134 g) bentseenissä (10 ml), kuumennetaan 45 °C:ssa noin 2 tunnin ajan. Liuos pestään suolaliuoksella, kuivataan magnesiumsulfaatilla ja väkevöidään tyhjössä. Jäännös puhdistetaan flash-kromatografialla eluoiden 5-%:isella metanolilla heksaanissa, minkä jälkeen kiteytetään heksaanista, jolloin saadaan haluttu tuote, sp. 115 - 117 °C.

Esimerkki 47

N^6-[2-(3-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]-2'-O-metyyliadenosiinin valmistus

Liuosta, jonka muodostavat 6-kloori-9-(2'-O-metyyli-ß-D-ribofuranosyyli)-9H-puriini (valmistettu kuten EP-julkaisussa nro 0 378 518) (0,28 g), 2-(3-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyliamiini (0,163 g) ja trietyyliamiini (0,5 ml) etanolissa (30 ml), palautusjäähdytetään noin 18 tunnin ajan, jäähdytetään ja väkevöidään tyhjössä. Jäännös puhdistetaan flash-kromatografialla eluoiden 10-%:isella metanolilla metyleenikloridissa, minkä jälkeen kiteytetään heksaani/etyyliasetaatista, jolloin saadaan haluttu tuote, sp. 75 - 76 °C.

Esimerkki 48

N^6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]-2'-O-metyyliadenosiinin valmistus

Käyttäen olennaisesti esimerkin 47 menetelmää valmistetaan haluttu tuote, sp. 84 - 85 °C, 2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyliamiinista.

Esimerkki 49

N^6-[trans-5-(2-tienyyli)sykloheks-1-en-4-yyli]-2'-O-metyyliadenosiinin valmistus

Käyttäen olennaisesti esimerkin 47 menetelmää valmistetaan haluttu tuote, sp. 86 - 89 °C, trans-2-(2-tienyyli)sykloheks-4-enyyliamiinista.

Esimerkki 50

1(R)-2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiinin valmistus

Kohta1: 1(S)-2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-hydroksi-1-metyylietaanin valmistus

2-klooritiofeenin (8,17 g) liuos tetrahydrofuraanissa (80 ml) jäähdytetään -30 °C:seen ja 1,6 M n-butyylilitium heksaaneissa (43,0 ml) lisätään tipoittain. Seosta sekoitetaan -30 °C:ssa noin 1 tunnin ajan, (S)-propyleenioksidi (4,00 g) lisätään ja seos lämmitetään 0 °C:seen ja

sekoitetaan siinä lämpötilassa noin 3 tunnin ajan. Reaktio vaimennetaan kylläisellä vesipitoisella ammoniumkloridiliuoksella, laimennetaan eetterillä ja kerrokset erotetaan. Orgaaninen kerros pestään suolaliuoksella, kuivataan magnesiumsulfaatilla ja väkevöidään tyhjössä, jolloin saadaan haluttu tuote.

Kohta 2: 1(R)-2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-metyyli-1-ftalimidoetaanin valmistus

Liuokseen, jonka muodostavat 1(S)-2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-hydroksi-1-metyylietaani (8,8 g), trifenyylifosfiini (13,1 g) ja ftalimidi (7,35 g) tetrahydrofuraanissa (80 ml), lisätään tipoittain dietyyliatsidikarboksylaatti (7,9 ml). Liuosta sekoitetaan noin 18 tunnin ajan ja liuotin poistetaan tyhjössä. Jäännös puhdistetaan flash-kromatografialla eluoiden 20-%:isella heksaaneilla metyleenikloridissa, jolloin saadaan haluttu tuote.

Kohta 3: 1(R)-2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-metyyli-etyyliamiinin valmistus

1(R)-2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-metyyli-1-ftalimidoetaani (13,0 g) liuotetaan etanoliin (75 ml) ja hydratsiinihydraatti (2,5 ml) lisätään ja seosta sekoitetaan palautusjäähdyttäen noin 1 tunnin ajan. Seos jäähdytetään huoneenlämpötilaan, kiinteä aine poistetaan suodattamalla ja suodos väkevöidään tyhjössä. Jäännös liuotetaan etyyliasetaattiin ja tätä liuosta sekoitetaan 5 N vesipitoisen kloorivetyhapon kanssa. Kerrokset erotetaan ja vesipitoinen kerros säädetään pH > 10 10-%:isella natriumhydroksidiliuoksella, sitten uutetaan etyyliasetaatilla. Orgaaninen liuos pestään suolaliuoksella, kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan ja väkevöidään tyhjössä, jolloin saadaan haluttu tuote, $[\alpha]_D$ = -22,96° (c = 11,5, metanoli).

Esimerkki 51

1(R)-2-(2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiinin valmistus

Kohta 1: 1(S)-2-(2-tienyyli)-1-hydroksi-1-metyylietaanin valmistus

Käyttäen olennaisesti esimerkin 50 kohdan 1 menetelmää valmistetaan haluttu tuote tiofeenistä.

Kohta 2: 1(R)-2-(2-tienyyli)-1-metyyli-1-ftalimidoetaanin valmistus

Käyttäen olennaisesti esimerkin 50 kohdan 2 menetelmää valmistetaan haluttu tuote 1(S)-2-(2-tienyyli)-1-hydroksi-1-metyylietaanista.

Kohta 3: 1(R)-2-(2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiinin valmistus

Käyttäen olennaisesti esimerkin 50 kohdan 3 menetelmää valmistetaan haluttu tuote $[\alpha]_D$ = -15,6° (c = 1, metanoli) 1(R)-2-(2-tienyyli)-1-metyyli-1-ftalimidoetaanista.

Esimerkki 52

1(S)-2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiinin valmistus

Kohta 1: 1(S)-2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-hydroksi-1-metyylietaanin valmistus

1(S)-2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-hydroksi-1-metyylietaanin (5,70 g) sekoitettuun liuokseen tetrahydrofuraanissa (100 ml) lisätään trifenyylifosfiini (5,34 g) ja bentsoehappo (2,49 g). Dietyyliatsodikarboksylaatti (3,22 ml) lisätään tipoittain ja seosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa noin 18 tunnin ajan. Liuotin poistetaan tyhjössä. Jäännös puhdistetaan flash-kromatografialla eluoiden 30-%:isella heksaaneilla metyleenikloridissa, jolloin saadaan (R)-3-(5-kloori-2-tienyyli)-2-propyylibentsoaatti. Esteri (3,91 g) liuotetaan dioksaaniin (50 ml) ja 20-%:inen vesipitoinen natriumhydroksidi (15 ml) lisätään. Seosta kuumennetaan 55 °C:ssa 3 tunnin ajan ja väkevöidään

tyhjössä. Jäännös otetaan talteen etyyliasetaattiin (200 ml) ja orgaaninen kerros pestään suolaliuoksella, kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan, väkevöidään tyhjössä, jolloin saadaan haluttu tuote.

Kohta 2: 1(S)-2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-metyyli-etyyliamiinin valmistus

Käyttäen olennaisesti esimerkin 50 kohtien 2 ja 3 menetelmää valmistetaan haluttu tuote, α_D = +21,71° (c = 1,1, metanoli), 1(S)-2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-hydroksi-1-metyylietaanista.

Käyttäen olennaisesti esimerkkien 50, 51 ja 52 menetelmiä valmistetaan seuraavat yhdisteet sopivista lähtöaineista.

Esimerkki 53

1(R)-2-(bentsotiofen-2-yyli)-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 54

1(S)-2-(2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini, α_D = 15,5° (c = 1, metanoli)

Esimerkki 55

1(R)-2-(3-bromi-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 56

1(R)-2-[5-(2-pyridyyli)-2-tienyyli]-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 57

1(R)-2-[5-(2-tienyyli)-2-tienyyli]-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 58

1(R)-2-(5-fenyyli-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 59

1(R)-2-(5-metoksi-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 60

1(R)-2-(5-metyyli-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 61

1(R)-2-(5-bromi-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 62

1(R)-2-(5-jodi-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 63

1(R)-2-(5-metyylitio-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 64

1(R)-2-(5-metyylisulfonyyli-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 65

1(R)-2-(5-etyyli-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 66

1(R)-2-(5-n-heptyyli-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 67

1(R)-2-(3-metyyli-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 68

1(R)-2-(4-metyyli-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 69

1(R)-2-(3-kloori-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini, $[\alpha]_D$ = -6,1° (c = 1, metanoli)

Esimerkki 70

1(R)-2-(4-kloori-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 71

1(R)-2-(3-kloori-5-fenyyli-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 72

1(R)-2-(5-bromi-2-kloori-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 73

1(R)-2-(4-metyyli-5-kloori-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini

Esimerkki 74

1(R)-2-(2,5-dikloori-2-tienyyli)-1-metyylietyyliamiini

Tämän keksinnön yhdisteet ovat käyttökelpoisia antihypertensiivisinä aineina kohonneen verenpaineen hoitamiseksi; ne myös lisäävät sepelvaltimon veren virtausta ja ovat siis käyttökelpoisia myokardiaalisen iskemian hoidossa; ne toimivat myös kardiosuojaavina aineina, jotka ovat käyttökelpoisia sydänlihaksen vaurion, joka johtuu myokardiaalisesta iskemiasta, ehkäisemiseksi tai vähentämiseksi; ja ne toimivat myös lipolyysin vastaisina aineina, jotka ovat käyttökelpoisia hyperlipidemian ja hyperkolesterolemian hoitamiseksi.

Tämän keksinnön piirissä olevat yhdisteet osoittavat aktiivisuutta standardi A_1/A_2-reseptorin sitoutumisanalyyseissä adenosiinin reseptoriagonistiaktiivisuuden määrittämistä varten nisäkkäissä. Tyypillisiä koemenetelmiä, jotka ovat käyttökelpoisia tämän keksinnön yhdisteiden reseptorin sitoutumisaffiniteetin määrittämiseksi, kuvataan alla.

A. In vitro adenosiinireseptorin sitoutumisaffiniteetin määrittäminen

A_1-reseptorin sitoutumisaffiniteetti määritettiin kilpailuanalyysillä, joka pohjautuu ^{3}H-CHA:n (sykloheksyyliadenosiini) ligandin korvaamiseen [Research Biochemicals Inc., Natick, Mass.] reseptorista käyttäen koko rotan aivojen membraanivalmistetta R.F. Bruns et al., Mol. Pharmacol., 29:331 (1986) menetelmän mukaisesti. Ei-spesifinen sitoutuminen arvioitiin 1 mM teofylliiniä ollessa läsnä.

A_2-reseptorin sitoutumisaffiniteetti määritettiin samanlaisella analyysitekniikalla, joka pohjautuu ^{3}H-CGS 21680, tunnetun A_2-reseptorispesifisen adenosiiniagonistin, ligandin korvaamiseen reseptorista käyttäen membraaneja rotan aivojuoniosta. Ei-spesifinen sitoutuminen arvioitiin 20 μm 2-klooriadenosiinia ollessa läsnä.

Analyysit suoritettiin lasikoeputkissa kaksoiskappaleena 25 °C:ssa. Kun membraanit oli lisätty putkia käsiteltiin vortexilla ja inkuboitiin 25 °C:ssa 60 minuutin ajan (A_1-analyysi) tai 90 minuutin ajan (A_2-analyysi) kiertoravistimessa. Analyysiputkia käsiteltiin vortexilla puoliväliin inkubointia ja uudelleen lähellä loppua. Analyysit päätettiin nopealla suodatuksella 2,4 cm GF/B-suodattimien läpi käyttäen Brandel Cell Harvestoria. Koeputket pestiin kolme kertaa kylmällä 50 mM tris-HCl:lla (pH 7,7 tai 7,4), suodatus lopetettiin 15 sekunnin kuluessa. Kosteat suodatinpyörylät asetettiin lasituikeviaaleihin, jotka täytettiin 10 ml:lla Aquasol II (New England Nuclear). Viaalien annettiin ravistua yön yli kiertoravistimella ja asetettiin nestetuikeanalysaattoriin kahden minuutin laskentaa varten. IC_{50}-arvot reseptorisitoutumiselle, so. pitoisuus, jossa keksinnön yhdiste korvasi radioleimatun standardin, saatiin käyttäen käyränsovitustietokoneohjelmaa (RS/1, Bolt, Beranek and Newman, Boston, MA).

B. In vitro vasorelaksaation määrittäminen eristetyissä sian sepelvaltimoissa

Sian sepelvaltimot saatiin paikallisesta teurastamosta, leikattiin huolellisesti ja puhdistettiin rasvasta, verestä ja kiinni olevasta kudoksesta. Leikattiin noin 2 - 3 mm leveitä renkaita ja ne siirrettiin vesivaipallisiin kudoskylpyihin (10 ml), jotka täytettiin lämpimällä (37 °C), hapetetulla (O_2/CO_2: 95 %/5 %) Krebs-Henseleitpuskurilla ja kiinnitettiin L-muotoisillan koukuilla ruostumatonta terästä olevien sauvojen ja voima-anturin väliin. Krebs-puskurin koostumus on seuraava (mM): NaCl, 118; KCl, 4,7; $CaCl_2$, 2,5; $MgSO_4$, 1,2; KH_2PO_4, 1,2; $NaHCO_3$, 25,0 ja glukoosi, 10,0. Renkaita tasapainotettiin 90 minuutin ajan vaihtaen puskuria usein lepojännityksessä 5 g. Optimi jännityksen kehittymisen varmistamiseksi valtimorenkaita esikäsiteltiin kahdesti 36 mM KCl:lla ja kerran 10 μm PGF2α:lla, ennen kuin se altistettiin 3 μM

PGF2α:lle. Kun isometrinen jännitys oli saavuttanut vakaan tilan, keksinnön adenosiiniagonistien akkumulatiiviset annokset (yleensä 1 mM - 100 μM, puolilogaritmissa) lisättiin kylpyihin. Jännitystä, joka saavutettiin 3 μM:lla PGF2α:a, pidettiin ekvivalenttina 100-%:lle; kaikki muut arvot ilmaistiin prosenttiosuutena siitä maksimista. IC_{50}-arvot relaksaatiolle, so. pitoisuus, jossa keksinnön yhdiste aiheutti 50-%:n vähenemisen jännityksessä, määritettiin käyttäen edellä mainittua lineaarista käyränsovitustietokoneohjelmaa.

C. In vivo valtimoverenpaineen keskiarvon (MAP) ja sydämen lyöntitiheyden (HR) määrittämiset normaalin verenpaineen omaavissa nukutetuissa ja spontaanisti kohonneen verenpaineen omaavissa rotissa

1. Nukutettu rotta

Normaalin verenpaineen omaavat rotat nukutettiin natriumpentobarbitaalilla (50 mg/kg, i.p.) ja asetettiin kuumennetulle kirurgiselle pöydälle. Kanyylit sijotettiin reisivaltimoon ja juovitettiin, jolloin sallittiin valtimopaineen mittaus ja helpotettiin laskimonsisäistä koeyhdisteiden antamista. Eläinten annettiin tasapainottua 10 minuutin ajan leikkauksen jälkeen. Valtimonpaineen keskiarvo mitattiin jatkuvasti ja tallennettiin ja sydämen lyöntitiheyttä tarkkailtiin käyttäen valtimopainepulssia laukaisemaan kardiotakometri. Kun perustason parametrit oli luotu ja tallennettu, testattavia keksinnön yhdisteen kasvavia annoksia (1, 3, 10, 30, 100, 300 ja 1000 μg/kg) annettiin laskimonsisäisesti. Maksimimuutokset kardiovaskulaarisissa parametreissä havaittiin kunkin adenosiiniagonistiannoksen jälkeen. Vain yhtä yhdistettä annettiin rottaa kohti. Yhdisteiden voima alentaa sydämen lyöntitiheyttä ja valtimopaineen keskiarvoa arvioitiin määrittämällä aineen annos, joka on tarpeen alentamaan sydämen lyöntitiheyttä tai valtimopainetta 25-%:lla (ED_{25}).

2. Spontaanisti kohonneen verenpaineen omaava rotta (SHR)

Keksinnön yhdisteiden oraalinen kohonneen verenpaineen vastainen aktiivisuus tutkittiin tajuissaan olevissa spontaanisti kohonneen verenpaineen omaavissa rotissa. Rotat nukutettiin natriumpentabarbatolilla (50 mg/kg i.p.). Kaukomittausanturi siirrettiin rottien vatsaan keskiviivaleikkauksen kautta. Anturin kanyyli sijoitettiin vatsaaorttaan sallimaan suora valtimopaineen mittaus tajuissaan olevissa SHR:ssä. Anturi kiinnitettiin lujasti vatsaseinään. Leikkauksesta toipumisen jälkeen (minimi seitsemän vuorokautta) SHR asetettiin vastaanottolevylle ja anturi/siirtolaite aktivoitiin. Systolinen, diastolinen ja valtimopaineen keskiarvo ja sydämen lyöntitiheys tallennettiin 1,5 tunnin ajan vapaassa tajuissaan olevassa rotassa, jolloin luotiin stabiili perustaso. Kukin rotta sai sitten yksittäisen annoksen testattavaa keksinnön yhdistettä, tai vehikkeliä, ja muutoksia valtimopaineessa ja sydämen lyöntitiheydessä tarkkailtiin 20 tunnin ajan ja tallennettiin.

Taulukko II esittää tulokset biologisen aktiivisuuden määrityksistä tyypillisille yhdisteille, ja esimerkin 6 kohdan 1 yhdisteelle, jotka ovat keksinnön piirissä.

Taulukko II

Esim. nro	Adenosiinireseptorin sitoutumisaktiivisuus/ IC50 (nM)		Vasorelaksaatio sian sepelvaltimossa IC50 (µM)	Verenpaine/sydämen lyöntitiheys				
				Nukutettu rotta			SHR*	
	A_1	A_2		MAP/ED25 (µg/kg)	HR/ED25 (µg/kg)	Annos (mg/kg)	MAP/%	HR/%
4	1,66	55	0,73	13	19	5	28 (D)	20 (D)
5	4,26	91	0,068	-	-	-	-	-
6	2,69	12,88	0,021	-	-	1	18 (D)	7 (I)
6(1)	>1000	>1000	19,1	-	-	-	-	
7	3,5	28	4	6	18	5	45 (D)	22 (D)
8	5	138	-	10	23	-	-	-
9	4	1000	11,9	5	4	-	-	-
10	3,8	>1000	-	-	-	-	-	-
11	7,4	>1000	-	-	-	-	-	-
12	23	224	0,5	4	17	-	-	-
13	41	191	0,24	3	>10	-	-	-
14	79,4	>1000	-	-	-	-	-	-
15	4,07	1000	2,45	1.5	1,4	-	-	-
16	1,7	>1000	-	-	-	-	-	-
17	67,6	5248	18,77	-	-	-	-	-
18	166	52	0,46	2	>10	-	-	-
19	36	1000	0,75	-	-	-	-	-
20	3,98	158	-	-	-	-	-	-
21	0,09	14,8	-	-	-	-	-	-
22	2,69	29,5	0,1	-	-	-	-	-
23	0,32	891	4,4	6	7	-	-	-
24	>1000	>1000	-	6	>10	5	17 (D)	6 (I)
25	1258,3	355	0,64	-	-	-	-	-
26	87,1	63,1	0,082	4	>30	2,5	41 (D)	3 (I)
27	5,01	29,5	0,043	-	-	1	27 (D)	1 (I)
28	417	>1000	-	-	-	-	-	-
29	35,48	>1000	22	16	31	5	18 (D)	12 (D)
30	562	>1000	12,1	6	>10	-	-	-
31	0,03	8,9	-	-	-	-	-	-

Taulukko II (jatkoa)

Esim. nro	Adenosiinireseptorin sitoutumisaktiivisuus/ IC50 (nM)		Vasorelaksaatio sian sepelvaltimossa IC50 (µM)	Verenpaine/sydämen lyöntitiheys				
				Nukutettu rotta			SHR*	
	A_1	A_2		MAP/ED25 (µg/kg)	HR/ED25 (µg/kg)	Annos (mg/kg)	MAP/%	HR/%
32	0,049	45	-	-	-	-	-	-
34	1,6	23	0,072	-	-	-	-	-
35	1087	6351	3,3	-	-	-	-	-
36	8,8	43,4	0,493	-	-	-	-	-
37	16,2	110	0,45	-	-	-	-	-
38	5,7	55,5	0,47	-	-	-	-	-
39	3,98	46,8	-	-	-	-	-	-
40	9,3	68,8	,283	-	-	-	-	-
41	14,2	158	-	-	-	-	-	-
42	>1000	>10000	2,44	-	-	-	-	-
43	8428	>10000	7,83	-	-	-	-	-
44	55	331	0,316	-	-	-	-	-
45	6351	>10000	4,1	-	-	-	-	-
46	13,5	81	3,52	-	-	-	-	-
47	23	2818	5,7	-	-	-	-	-
48	8,35	1445	-	-	-	-	-	-
49	69	2884	9,81	-	-	-	-	-

* D merkitsee laskua; I merkitsee kasvua.

Kun veren virtaus sydämeen keskeytetään lyhyiksi ajanjaksoiksi (2 - 5 minuuttia), minkä jälkeen veren virtaus palautetaan (reperfuusio), sydämestä tullee suojattu vaurion kehittymistä vastaan, kun veren virtaus keskeytetään pidemmiksi ajanjaksoiksi (esimerkiksi 30 minuuttia).

Keksinnön yhdisteet osoittavat aktiivisuutta kokeissa, joita käytetään määrittämään yhdisteiden kyky matkia myokardiaalisen esikonditioinnin kardiosuojaavaa ak-

tiivisuutta. Tyypilliset koemenetelmät, jotka ovat käyttökelpoisia tämän keksinnön yhdisteiden kardiosuojaavan aktiivisuuden määrittämisessä, kuvataan alla.

Kardiosuojaavan aktiivisuuden määrittäminen rotassa

1. Yleinen kirurginen valmistelu

Aikuiset Sprague-Dawley rotat nukutetaan Inactinilla (100 mg/kg i.p.). Henkitorvi intuboidaan ja positiivisen paineen ilmanvaihto tuotetaan pienen eläimen hengityskoneen kautta. Katetrit asetetaan reisilaskimoon ja -valtimoon tämän keksinnön testattavien yhdisteiden antamista varten ja verenpaineen mittausta varten vastaavasti. Leikkaus tehdään rintakehän vasemmalle puolelle rintalihasten päältä ja lihakset vedetään sisään, jolloin paljastetaan neljännen kylkiluun välinen tila. Rintaontelo avataan ja sydän paljastetaan. 4 - 0-pituinen proliiniommel asetetaan kammioseinän läpi lähelle vasenta pääsepelvaltimoa ja sitä käytetään keskeyttämään veren virtaus sepelvaltimon läpi kiristämällä vetosolmu. Pulssitettu Doppler virtauskoetin (laite, joka mittaa veren virtausta) asetetaan sydämen pinnalle vahvistamaan, että sepelvaltimo on identifioitu kunnolla. Katetri asetetaan myös vasempaan kammioon tarkkailemaan vasemman kammion toimintaa kokeen aikana.

2. Esikonditiointi ja koemenetelmät

Sydämen esikonditioimiseksi sepelvaltimo tukitaan (virtaus keskeytetään) kahden minuutin jakson ajaksi. Vetosolmu vapautetaan sitten virtauksen palauttamiseksi (reperfuusio) kolmen minuutin jakson ajaksi. Tätä tukkimis/reperfuusio-menetelmää toistetaan kahdesti. Viisi minuuttia lopullisen esikonditiointitapahtuman päättämisen jälkeen valtimo tukitaan uudelleen 30 minuutin ajaksi, mitä seuraa reperfuusio kolmen tunnin ajan. Kun testataan tämän keksinnön yhdistettä, sen sijaan, että suoritetaan tukkimis/reperfuusio-menetelmä, yhdistettä tiputetaan 30 minuutin ajan ennen 30 minuutin tukkimisjaksoa. Kolmen tunnin reperfuusiojakson lopussa valtimo tukitaan uudelleen ja

1 ml patenttisinistä väriä annetaan vasempaan kammiokateteriin ja sydän pysäytetään antamalla laskimonsisäisesti kaliumkloridia. Tämä menetelmä sallii värin virtaavan sydämen läpi normaaleille alueille, kun taas se osa sydämestä, joka tehtiin iskeemiseksi, ei pidätä väriainetta (tämä on "riskialue"). Sydän poistetaan nopeasti infarktin koon analyysiä varten. Infarktin koko määritetään paloittelemalla sydän huipulta pohjaan 1 - 2 mm paksuiksi neljästä viiteen viipaleeksi. Viipaleita inkuboidaan 1-%:isessa trifenyylitetratsoliumin liuoksessa 15 minuutin ajan. Väri reagoi elävän kudoksen kanssa ja aiheuttaa sen kehittymisen tiilenpunaiseksi. Infarktoitunut kudos ei reagoi värin kanssa ja on kalpean valkoinen ulkonäöltään. Kudosviipaleet asetetaan videokuvantamisanalyysisysteemiin ja infarktin koko määritetään planimetrillä. Tämän keksinnön testattavan yhdisteen vaikutus myokardiaalisen infarktin kokoon arvioidaan ja käytetään määrittämään kardiosuojaavan aktiivisuuden laajuutta. Tulokset annetaan riskialueen, joka infarktoituu, prosenttiosuutena.

Tulokset tämän keksinnön piirissä olevan tyypillisen yhdisteen testaamisesta edellä olevilla menetelmillä annetaan taulukossa III alla.

Taulukko III

Eläinryhmä	**% riskialueesta infarktoitunut**
Kontrolli[1]	63 ± 5
Esikäsitelty[2]	15 ± 8
Yhdiste alhainen[3]	23 ± 9
Yhdiste korkea[4]	18 ± 5

[1]Eläimiä ei esikäsitelty tai hoidettu yhdisteellä.

[2]Eläimet esikäsiteltiin tukkimis/reperfuusio-menetelmällä.

[3]Eläimet saivat laskimonsisäisesti boluksen 1 μg/kg, minkä jälkeen laskimonsisäisesti infuusion 0,1 μg/kg/min esimerkin 39 yhdistettä 30 minuutin ajan ennen 30 minuutin tukkimisjaksoa.

[4]Eläimet saivat laskimonsisäisesti boluksen 10 μg/kg, minkä jälkeen laskimonsisäisesti infuusion 1 μg/kg/min esimerkin 39 yhdistettä 30 minuutista ennen 30 minuutin tukkimisjaksoa 2 tuntiin reperfuusion aloittamisen jälkeen.

Tämän keksinnön yhdisteet osoittavat aktiivisuutta kokeissa, joita käytetään määrittämään yhdisteiden kykyä inhiboida lipolyysiä. Tyypilliset koemenetelmät, jotka ovat käyttökelpoisia määritettäessä tämän keksinnön yhdisteiden lipolyysin vastaista aktiivisuutta, kuvataan alla.

Lipolyysin vastaisen aktiivisuuden määrittäminen rotan adiposyyteissä

1. Adiposyyttien eristäminen lisäkivesrasvakerroksista

Rasvakudos poistetaan nukutetuista rotista ja huuhdellaan kahdesti inkubointiväliaineessa (2,09 g natriumbikarbonaattia ja 0,04 g EDTA:ta, dinatriumsuolaa, 1 l:ssa Krebs-puskuria). Kustakin rotasta (300 - 350 g) saadaan noin 4 ml rasvakudosta. Rasvakudos (35 ml) leikataan pieniksi paloiksi saksilla ja pestään inkubointiväliaineella (50 ml). Seos kaadetaan 50 ml:n ruiskun lieriöön, johon liitetään lyhyt pala puristettua putkea neulan sijaan. Vesipitoisen faasin annetaan tyhjentyä. Toinen pesuliuos inkubointiväliaineella viedään ruiskun läpi. Kudos lisätään 50 ml:aan kollagenaasiliuosta (kollagenaasi (90 mg), naudan seerumialbumiini (BSA) (500 mg), ja 0,1 M kalsiumkloridiliuos (1 ml), inkubointiväliaineessa (50 ml)) 1 l:n pullossa. Seosta ravistellaan ympäristössä 37 °C:ssa noin 60 minuutin ajan käyttäen 95 % happi/5 % hiilidioksidi atmosfääriä vaikuttamaan kudoksen digestioon. Dispergoitu-

neet solut kaadetaan 2 juustokangaskerroksen läpi 100 ml:n muovidekantteriin. Digestoitumattomia möykkyjä kankaassa huuhdellaan kerran inkubointiväliaineella (20 ml). Dekantterissa olevia soluja sentrifugoidaan 2 muoviputkessa 30 sekunnin ajan huoneenlämpötilassa kierrosnopeudella 300 rpm. Vesipitoinen faasi aspiroidaan löyhästi pakatun kelluvan rasvasolujen kerroksen alapuolelta ja heitetään pois. Adiposyytit kaadetaan varovasti 250 ml:n muovidekantteriin, joka sisältää 100 ml huuhteluliuosta (1 g BSA 100 ml:aa inkubointiväliainetta kohti). Varovaisen sekoituksen jälkeen sentrifugointivaihe toistetaan. Toinen pesu huuhteluliuoksella seuraa. Solut yhdistetään ja niiden tilavuus arvioidaan mittalasilla. Adiposyytit laimennetaan kaksinkertaisessa tilavuudessa analyysipuskuria (inkubointiväliaine (120 ml), BSA (1,2 g), palorypälehappo (13 mg)).

2. In vitro lipolyysianalyysi

Analyysi suoritetaan 20 ml:n muovituikeviaaleissa ja kokonaisanalyysitilavuus on 4,2 ml. Analyysipuskuria (2,5 ml), laimennettuja adiposyyttejä (1,5 ml) ja testattavan yhdisteen liuosta (12,3 µl) adenosiiniagonistia (12,3 µl; vaihteleva pitoisuus) inkuboidaan ympäristön olosuhteissa ravistimessa 15 minuutin ajan, sitten reaktio aloitetaan norepinefriiniliuoksella (41,2 µl) (10 nM kantajaliuoksessa, joka sisältää vettä (100 ml), BSA:a (4 mg) ja 0,1 M EDTA:a (20 µl) ja adenosiinideamininaasia (1 µg/ml, 41,2 µl). 60 minuutin ravistimessa olon jälkeen reaktio päätetään asettamalla viaalit jäähän. Kunkin viaalin sisällöt siirretään 12 x 75 mm lasiputkeen ja sentrifugoidaan 8 - 10 °C:ssa kierrosnopeudella 3 600 rpm 20 minuutin ajan. Kova lipidikerros poistetaan aspiraatiolla ja vesipitoisesta kerroksesta analysoidaan glyseroli (400 µl näytettä). Positiivinen kontrolli tehdään kaiken adenosiiniagonistin ollessa poissa korvaten testattava liuos vedellä.

Tulokset tämän keksinnön testattavista yhdisteistä annetaan taulukossa IV alla ja ne raportoidaan 1 μM ja/tai 0,1 μM testattavan yhdisteen glyserolin tuotannon inhibointiprosenttina positiivista kontrollia vastaan ja EC_{50}-arvoina, so. testattavan yhdisteen pitoisuutena, joka on tarpeen saamaan aikaan 50-%:n glyserolin tuotannon inhibitio. Vertailutarkoituksia varten tulokset annetaan myös kirjallisuuden yhdisteille N-syklopentyyliadenosiini (CPA), N-etyylikarboksamidoadenosiini (NECA), R-fenyyli-isopropyyliadenosiini (R-PIA) ja 2-[[2-[4-[(2-karboksietyyli)fenyyli]etyyli]amino]-N-etyylikarboksamidoadenosiini (CGS21680).

Taulukko IV

Yhdiste esim. nro	**Inhibitio-%**		**EC_{50}**
	1 μM	**0,1 μM**	
6			0,76 nM
26	96		89 nM
31			0,26 pM
39			5,4 nM
41		88	
46			4 nM
47		94	0,63 nM
48		88	1,86 nM
49		85	18,6 nM
CPA	100	97	0,31 nM
NECA			2,5 nM
R-PIA			1 nM
CGS21680	0		

A_1 ja A_2-adenosiinireseptorin sitoutuminen ja vasorelaksaatioaktiivisuus kirjallisuuden yhdisteille taulu-

kossa IV, määritettynä tässä edellä kuvatuilla menetelmillä, annetaan taulukossa V alla.

Taulukko V

Yhdiste	Adenosiinireseptorin sitoutuminen (IC_{50})		Vasorelaksaatio (IC_{50})
	A_1 (nM)	A_2 (nM)	
CPA	0,72	1 584	3,18
NECA	12	17	0,017
R-PIA	2,4	300	0,76
CGS21680	30 000	70	0,08

Adenosiinin lipolyysin vastaista aktiivisuutta välitetään A_1-reseptorialatyypin aktivoinnin kautta. A_2-reseptorialatyypin selektiiviset agonistit, kuten CGS 21680, eivät osoita lipolyysin vastaista aktiivisuutta. Siis vaikka tietyillä A_1 selektiivisillä agonisteilla ei saata olla toivottavaa kohonneen verenpaineen vastaista aktiivisuutta ja A_2-agonistit eivät saata olla tehokkaita lipolyysin vastaisia aineita, tämän keksinnön yhdisteet, jotka ovat seka-agonisteja, sopivat ainutlaatuisesti hoitamaan molempia tässä edellä keskusteltuja riskitekijöitä, so. kohonnutta verenpainetta ja hyperlipidemiaa.

Tämän keksinnön yhdisteet voidaan normaalisti antaa oraalisesti tai parenteraalisesti hoidettaessa potilaita, jotka kärsivät kohonneesta verenpaineesta, myokardiaalisesta iskemiasta, tai potilailla, jotka tarvitsevat kardiosuojausterapiaa tai lipolyysin vastaista terapiaa. Kuten tässä on käytetty, termi "potilaat" käsittää ihmiset ja muut nisäkkäät.

Tämän keksinnön yhdisteet, edullisesti suolan muodossa, voidaan formuloida annettavaksi millä tahansa sopivalla tavalla ja keksintö käsittää piirissään farmaseuttiset koostumukset, jotka sisältävät ainakin yhden keksinnön

mukaisen yhdisteen muokattuna käytettäväksi ihmis- tai eläinlääketieteessä. Tällaiset koostumukset voidaan formuloida tavanomaisella tavalla käyttäen yhtä tai useampaa farmaseuttisesti hyväksyttävää kantajaa tai täyteainetta. Sopiviin kantajiin kuuluvat laimentimet tai täyteaineet, steriilit vesipitoiset väliaineet ja erilaiset ei-toksiset orgaaniset liuottimet. Koostumukset voidaan formuloida tablettien, kapseleiden, pastillien, pillerien, kovien makeisten, jauheiden, vesipitoisten suspensioiden tai liuosten, injektoitavien liuosten, eliksiirien, siirappien ja niiden kaltaisten muodossa, ja ne voivat sisältää yhden tai useamman aineen valittuna ryhmästä, joka käsittää makeutusaineet, makuaineet, väriaineet ja säilöntäaineet, jotta saadaan farmaseuttisesti hyväksyttävä valmiste.

Tietty kantaja ja adenosiiniagonistien suhde kantajaan määritetään yhdisteiden liukoisuus- ja kemiallisilla ominaisuuksilla, tietyllä antamismallilla ja standardi farmaseuttisella käytännöllä. Esimerkiksi täyteaineita, kuten laktoosia, natriumsitraattia, kalsiumkarbonaattia ja dikalsiumfosfaattia, ja erilaisia hajotusaineita, kuten tärkkelystä, algiinihappoa ja tiettyjä kompleksisilikaatteja, yhdessä voiteluaineiden, kuten magnesiumstearaatin, natriumlauryylisulfaatin ja talkin kanssa, voidaan käyttää tablettien tuotannossa. Kapselimuotoa varten laktoosi ja suuren moolimassan polyetyleeniglykoli ovat edullisten farmaseuttisesti hyväksyttävien kantajien joukossa. Silloin kun formuloidaan vesipitoisia suspensioita oraalista käyttöä varten, kantaja voi olla emulgointi- tai suspendointiaine. Laimentimia, kuten etanolia, propyleeniglykolia, glyseriiniä ja kloroformia ja niiden yhdistelmiä voidaan käyttää samoin kuin muita materiaaleja.

Parenteraalista antamista varten voidaan käyttää näiden yhdisteiden liuoksia tai suspensioita seesami- tai maapähkinäöljyssä tai vesipitoisia propyleeniglykoliliuoksia, samoin kuin tässä kuvattujen liukenevien farmaseutti-

sesti hyväksyttävien suolojen steriilejä vesipitoisia liuoksia. Näiden yhdisteiden suolojen liuokset ovat erityisen sopivia annettavaksi lihaksensisäisellä ja ihonalaisella injektiolla. Vesipitoiset liuokset, mukaan lukien suolojen, jotka on liuotettu puhtaaseen tislattuun veteen, ovat sopivia annettavaksi laskimonsisäisellä injektiolla, edellyttäen että niiden pH on kunnolla säädetty ja että ne ovat sopivasti puskuroituja, tehty isotonisiksi riittävällä suolaliuoksella tai glukoosilla ja steriloitu kuumentamalla tai mikrosuodattamalla.

Annosohje, jota käytetään tämän keksinnön menetelmien totetuksessa on se, joka varmistaa maksimi terapeuttisen vasteen, kunnes saadaan paraneminen ja sen jälkeen minimi tehokas taso, joka antaa helpotuksen. Siten, yleensä annokset ovat niitä, jotka ovat terapeuttisesti tehokkaita alentamaan verenpainetta kohonneen verenpaineen hoidossa, lisäämään sepelvaltimon veren virtausta myokardiaalisen iskemian hoidossa, tuottamaan kardiosuojaavan vaikutuksen, so. iskeemisen vaurion tai myokardiaalisesta iskemiasta johtuvan myokardiaalisen infarktin koon parantamisen, tai tuottamaan lipolyysin vastaisen vaikutuksen. Yleensä oraalinen annos voi olla välillä noin 0,1 - 100 (edullisesti alueella 1 - 10 mg/kg) ja laskimonsisäinen annos noin 0,01 - 10 mg/kg (edullisesti alueella 0,1 - 5 mg/kg), pitäen tietenkin mielessä, että valittaessa sopivaa annosta missä tahansa spesifisessä tapauksessa, täytyy ottaa huomioon potilaan paino, yleinen terveys, ikä ja muut tekijät, jotka voivat vaikuttaa vasteeseen lääkkeelle.

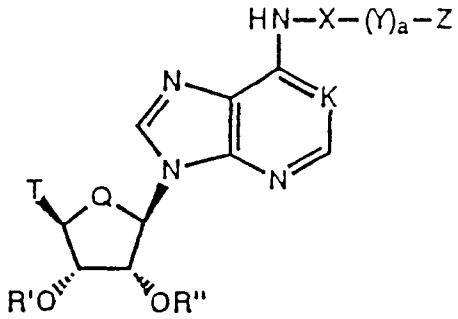
Keksinnön yhdisteet voidaan antaa niin usein kuin on tarpeen saamaan aikaan ja ylläpitämään haluttu terapeuttinen vaste. Jotkut potilaat voivat reagoida nopeasti suhteellisen suureen tai pieneen annokseen ja vaatia pienen tai ei lankaan ylläpitoannosta. Toisaalta muut potilaat voivat tarvita ylläpitoannostuksen noin 1 - 4 kertaa

vuorokaudessa riippuen tietyn potilaan fysiologisista tarpeista. Yleensä lääke voidaan antaa oraalisesti noin 1 - 4 kertaa vuorokaudessa. Ennakoidaan, että monet potilaat eivät tarvitse enempää kuin noin 1 - 2 annosta vuorokaudessa.

Lisäksi ennakoidaan, että tämä keksintö olisi käyttökelpoinen injektoitavana annosmuotona, joka voidaan antaa hätätilassa potilaalle, joka kärsii akuutista kohonneesta verenpaineesta tai myokardiaalisesta iskemiasta, tai potilaalle, joka tarvitsee kardiosuojausta tai lipolyysin vastaista terapiaa. Tällaista hoitoa voi seurata aktiivisen yhdisteen laskimonsisäinen infuusio, ja tällaiseen potilaaseen infusoidun yhdisteen määrän tulisi olla tehokas saamaan aikaan ja ylläpitämään haluttu terapeuttinen vaste.

Patenttivaatimukset

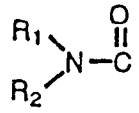
1. Yhdiste, jolla on kaava



jossa:

K on N, N→O tai CH;

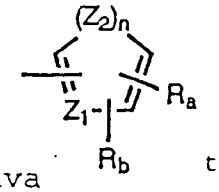
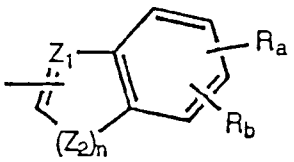
Q on CH_2 tai O;

T on  tai R_3O-CH_2;

X on haarautumattoman tai haarautuneen ketjun alkyleeni-, sykloalkyleeni- tai sykloalkenyleeniryhmä, joista kukin on mahdollisesti substituoitu ainakin yhdellä seuraavista CH_3, CH_3CH_2, Cl, F, CF_3 tai CH_3O;

Y on NR_4, O tai S;

a = 0 tai 1;

Z:lla on kaava  tai ;

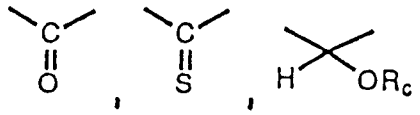
Z_1 on N, CR_5, $(CH)_m$-CR_5 tai $(CH)_m$-N, m on 1 tai 2;

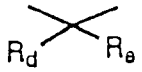
Z_2 on N, NR_6, O tai S, n on 0 tai 1;

R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 ja R_6 ovat itsenäisesti vety, alkyyli, aryyli tai heterosyklyyli;

R_a ja R_b ovat itsenäisesti vety, OH, alkyyli, hydroksialkyyli, alkyylimerkaptyyli, tioalkyyli, alkoksi, alkyoksialkyyli, amino, alkyyliamino, karboksyyli, asyyli, halogeeni, karbamoyyli, alkyylikarbamoyyli, aryyli tai heterosyklyyli; ja

R' ja R" ovat itsenäisesti vety, alkyyli, aralkyyli, karbamoyyli, alkyylikarbamoyyli, dialkyylikarbamoyyli, asyyli, alkoksikarbonyyli, aralkoksikarbonyyli, aryylioksikarbonyyli, tai R' ja R" yhdessä voivat muodostaa



jossa R_c on vety tai alkyyli, 
jossa R_d ja R_e ovat itsenäisesti vety, alkyyli, tai yhdessä hiiliatomin kanssa, johon ne ovat liittyneet, voivat muodostaa 1,1-sykloalkyyliryhmän;

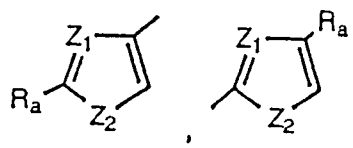
edellyttäen, että kun X on haarautumattoman ketjun alkyleeni ja Q on happi, niin Z merkitsee heterosyklyyliä, joka käsittää ainakin kaksi heteroatomia;

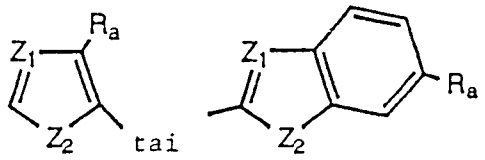
tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, jossa R' ja R" ovat vety.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, jossa X on alempi alkyleeni, joka on mahdollisesti substituoitu ainakin yhdellä seuraavista CH_3, CH_3CH_2, Cl, F, CF_3 tai CH_3O.

4. Patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, jossa Z on





5. Patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, jossa Z on substituoitu tai substituoimaton tiatsolyyliryhmä tai substituoitu tai substituoimaton bentsotiatsolyyliryhmä.

6. Patenttivaatimuksen 4 mukainen yhdiste, jossa X merkitsee alkyleeniryhmää CR_9H-CH_2, jossa R_9 on vety, alempi alkyyli, halogeeni, halogeeni(alempi alkyyli) tai alempi alkoksi.

7. Patenttivaatimuksen 6 mukainen yhdiste, jossa alkyleenihiili, johon R_9 on sitoutunut, on kiraalinen keskus.

8. Patenttivaatimuksen 7 mukainen yhdiste, jossa R_9 on metyyli tai etyyli.

9. Patenttivaatimuksen 7 mukainen yhdiste, jossa mainittu kiraalinen keskus on oleellisesti yksinomaan R.

10. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, jossa: K on N; Q on CH_2; ja T on $R_1R_2N-C=O$.

11. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, jossa: K on CH; Q on CH_2; ja T on $R_1R_2N-C=O$.

12. Patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, joka on N6-[trans-2-(tiofen-2-yyli)sykloheks-4-en-1-yyli]adenosiini, N6-[trans-2-(tiofen-3-yyli)sykloheks-4-en-1-yyli]adenosiini, N6-[2-(2'-aminobentsotiatsolyyli)etyyli]adenosiini, N6-[2-(2'-tiobentsotiatsolyyli)etyyliadenosiini, N6-[2-(6'-etoksi-2'-tiobentsotiatsolyyli)etyyli]adenosiini, N6-[2-(4'-metyylitiatsol-5'-yyli)etyyli]adenosiini, N6-[2-(2'-tiatsolyyli)etyyli]adenosiini, N6-[2-(4'-fenyyli-2'-tiatsolyyli)etyyli]adenosiini, N6-[4'-fenyyli-2'-tiatsolyyli)metyyli]adenosiini, N6-[2-(4'-metyyli-2'-tiatsolyyli)etyyli]adenosiini, N6-[2-(2'-metyyli-4'-tiatsolyyli)-

etyyli]adenosiini, N6-[(R)-1-metyyli-2-(2'-bentso-[b]-tiofenyyli)etyyliadenosiini tai (-)-[2S-[2α,3α-dihydroksi-4ß-[N^6-[2-(3-kloori-2-tienyyli)-1(R)-etyylietyyli]amino]-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-etyylikarboksamidi, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

13. Patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, joka on N6-[trans-2-(tiofen-2-yyli)sykloheks-4-en-1-yyli]adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi, N6-[2-(2'-aminobentsotiatsolyyli)etyyli]adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi, N6-[(R)-1-(5'-klooritien-2'-yyli)-2-propyyli]adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi, N6-[(R)-1-((tiatso-2-yyli)prop-2-yyli)]adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi, tai N6-[(R)-1-(tiofen-2-yyli)-2-metyyli-2-propyyli]adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

14. Patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, joka on N6-[2-(4"-metyyli-5"-tiatsolyyli)etyyli]karbosyklinenadenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi, N6-[2-(2'-aminobentsotiatsolyyli)etyyli]karbosyklinen adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi, N6-[2-(2"-tiatsolyyli)etyyli]karbosyklinen adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi, (-)-[2S-[2α,3α-dihydroksi-4-ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-metyylietyyli]amino]-9-adenyyli]syklopentaani]-1-ß-N-etyylikarboksamidi, N6-[1-(tiofen-2"-yyli)etan-2-yylikarbosyklinenadenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi, N6-[1-(tiofen-3-yyli)etan-2-yyli]karbosyklinen adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi, N6-[(R)-1-((tiofen-2-yyli)prop-2-yyli)]karbosyklinen adenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi tai N6-[(R)-1-(5"-klooritien-2-yyli)-2-butyyli]karbosyklinenadenosiini-5'-N-etyylikarboksamidi, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

15. Patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, joka on (-)-[2S-[2α,3α-dihydroksi-4-ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino]-9-adenyyli]syklopentaani]-1-ß-N-etyylikarboksamidi, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

16. Patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, joka on (±)-N6-[1-(tiofen-2-yyli)etan-2-yyli]-N'-deatsa-aristeromysin-5'-N'-etyylikarboksamidi, [1S-[1α,2ß,3ß,4α(S*)]]-4-[7-[[2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-metyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi, [1S-[1α,2ß,3ß,4α]]-4-[7-[[2-(3-kloori-2-tienyyli)-1-etyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi, [1S-[1α,2ß,3ß,4α]]-4-[7-[[2-(2-tienyyli)-1-isopropyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi, [1S[1α,-2ß,3ß,4α(S*)]]-4-[7-[[2-(3-kloori-2-tienyyli)-1-etyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi, [1S[1α,2ß,3ß,4α-(S*)]]-4-[7-[[2-(2-tienyyli)-1-metyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi, tai [1S-[1α,2ß,3ß,4α]]-4-[7-[[2-(5-kloori-2-tienyyli)-1-etyylietyyli]amino]-3H-imidatso-[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

17. Patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, joka on (2S)-2α,3α-dihydrokdi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidi-N^1-oksidi, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

18. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, joka on N^6-[2-(3-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]-2'-O-metyyliadenosiini, N^6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]-2'-O-metyyliadenosiini tai N^6-[trans-5-(2-tienyyli)sykloheks-1-en-4-yyli]-2'-O-metyyliadenosiini, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

19. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, joka on (2S)-2α,3α-bis-metoksikarbonyylioksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklo-

pentaani-1ß-N-etyylikarboksamidi, (2S)-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidinetoksimetyleeniasetaali, (2S)-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidi-2,3-karbonaatti, (2S)-2α,3α-bis-metyylikarbamoyylioksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidi tai (2S)-2α,3α-dihydroksi-4ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]-amino-9-adenyyli]syklopentaani-1ß-N-etyylikarboksamidi-2,3-tiokarbonaatti, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

20. Patenttivaatimuksen 16 mukainen yhdiste, joka on [1S-[1α,2ß,3ß,4α(S*)]]-4-[7-[[2-(3-kloori-2-tienyyli)-1-etyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidi, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

21. Koostumus kardiovaskulaarisen sairauden, jolle on ominaista kohonnut verenpaine tai myokardiaalinen iskemia, hoitamiseksi, mainittu koostumus käsittää kohonneen verenpaineen vastaisen tehokkaan määrän, tai iskemian vastaisen tehokkaan määrän, patenttivaatimuksen 1 mukaista yhdistettä ja sen farmaseuttisesti hyväksyttävän kantajan.

22. Koostumus iskeemisen vaurion parantamiseksi tai myokardiaalisesta iskemiasta johtuvan myokardiaalisen infarktin koon pienentämiseksi, mainittu koostumus käsittää kardiosuojaavan määrän patenttivaatimuksen 1 mukaista yhdistettä ja sen farmaseuttisesti hyväksyttävän kantajan.

23. Koostumus lipiditasojen, triglyseriditasojen tai kolesterolitasojen alentamiseksi nisäkkäässä, mainittu koostumus käsittää lipolyysin vastaisen määrän patenttivaatimuksen 1 mukaista yhdistettä ja sen farmaseuttisesti hyväksyttävän kantajan.

24. Patenttivaatimuksen 21 mukainen koostumus, joka käsittää (-)-[2S-[2α,3α-dihydroksi-4-ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino]-9-adenyyli]syklopentaani]-1-ß-N-etyylikarboksamidin tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan.

25. Patenttivaatimuksen 22 mukainen koostumus, joka käsittää (-)-[2S-[2α,3α-dihydroksi-4-ß-[N6-[2-(5-kloori-2-tienyyli)-(1R)-1-metyylietyyli]amino]-9-adenyyli]syklopentaani]-1-ß-N-etyylikarboksamidin tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan.

26. Patenttivaatimuksen 21 mukainen koostumus, joka käsittää [1S-[1α,2ß,3ß,4α(S*)]]-4-[7-[[2-(3-kloori-2-tienyyli)-1-etyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]-pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidin tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan.

27. Patenttivaatimuksen 22 mukainen koostumus, joka käsittää [1S-[1α,2ß,3ß,4α(S*)]]-4-[7-[[2-(3-kloori-2-tienyyli)-1-etyylietyyli]amino]-3H-imidatso[4,5-b]-pyridin-3-yyli]-N-etyyli-2,3-dihydroksisyklopentaanikarboksamidin tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan.

28. Menetelmä oleellisesti optisesti puhtaan 2-substituoitu-2-amino-1-(heteroar-2- tai 3-yyli)etaanijohdannaisen valmistamiseksi, joka menetelmä käsittää vaiheet, joissa saatetaan kiraalinen 2-substituoitu etyleenioksidijohdannainen reagoimaan heteroaryyliyhdisteen 2- tai 3-yylianionin kanssa ja muutetaan, stereospesifisillä keinoilla, mainitussa reaktiossa muodostunut hydroksiryhmä aminoryhmäksi.