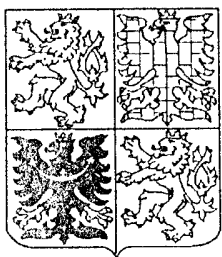


ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(22) 16.01.92

(32) 26.07.91

(31) 91/16212

(33) GB

(40) 17.02.93

(21) 131-92

(13) A3

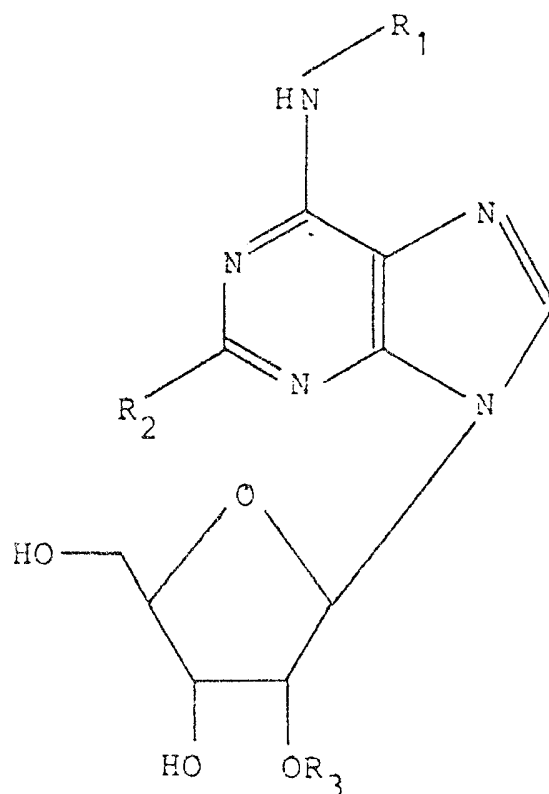
(51) A 61 K 31/70
A 61 K 31/52

(71) SANDOZ A.G., Basle, CH;

(72) Gadiant Fulvio dr., Birsfelden, CH;
Milavec Maria dr., St. Louis, FR;
Mueller Else dr., Oberdorf, CH;

(54) Nové použití 2'-O-alkyladenosinových derivátů
pro přípravu léčiva vhodného pro léčení
neurodegenerativních poruch

(57) Použití 2'-O-alkyladenosinových derivátů, které jsou
předmětem britského patentu 2226027 a evropské patento-
vé přihlášky 378518 a které mají obecný vzorec I, ve kterém
R₁, R₂ a R₃ mají významy uvedené v nároku 1, pro přípravu
léčiva pro léčení neurodegenerativních poruch, některých
periferních neuropatií, například diabetické neuropatie, a
poruch spojených s periferním vaskulárním onemocněním
a/nebo poruch spojených s neuronální degenerací, hy-
pertriglyceridemie, zvýšené hladiny volných mastných ky-
selin a/nebo cukrovky typu I a typu II a arytmií a pro
ochranu proti infarktu myokardu. Některé sloučeniny obe-
cného vzorce I mohou být použity pro snížení vysoké hladi-
ny krevních lipidů.



1131-92	10 2 5 7 6	16. 1. 92	UŘAD PRŮV. KANCELÁŘ A OBLASTI
---------	------------	-----------	-------------------------------------

Nové použití 2'-O-alkyladenosinových derivátů pro přípravu léčiva vhodného pro léčení neurodegenerativních poruch

Oblast techniky

Vynález se týká nového použití 2'-O-alkyladenosinových derivátů, které jsou předmětem britské patentové přihlášky 2226027 A a evropských patentových přihlášek 378518 a 269574,, farmaceutických kompozic, které tyto sloučeniny obsahují a jejich použití v lékařství. Dále se vynález týká 6-cyklohexyl-2'-O-methyladenosinhydrátu.

Dosavadní stav techniky

Z výše uvedených britské patentové přihlášky je známo, že uvedené sloučeniny mohou být použity jako antihypertenzní činidla a koronární vasodilatátory. Je zde zmíněno, že k antihypertenzní účinnosti přispívá jak inhibice sekrece reninu, tak i inhibice uvolňování noradrenalinu z nervových ukončení a přímá vasodilatace. Dále je zde uvedeno, že uvedené sloučeniny chrání vaskulární endotel mechanismem inhibice jak agregace trombocytů, tak i aktivace leukocytů. Uvedené sloučeniny údajně rovněž snižují hladinu lipidů v krvi. Dále je uvedeno, že některé z výše uvedených 2'-O-alkyladenosinových derivátů vykazují rovněž protekční účinek vůči onemocněním způsobeným hypertensí, jakými jsou kongestivní srdeční nedostatečnost, infarkt myokardu nebo náhlá srdeční zástava a renální insuficience (viz evropské patentové přihlášky 378518 a 269574).

Podstata vynálezu

Nyní bylo nově zjištěno, že sloučeniny, které jsou předmětem britské patentové přihlášky 2226027 a evropských patentových přihlášek 378518 a 269574 mají překvapivé potenciální použití při léčení periferních vaskulárních onemocnění, jakými jsou intermitující klaudikace a Raynaudova nemoc.

Uvedené sloučeniny jsou rovněž účinné při léčení arytmií. Ve funkci agonistů adenosinových A1-receptorů reastaurují tyto sloučeniny sinusový rytmus při supraventrikulárních tachykardiích a vracejí ventrikulární tachykardie, indukované beta-adrenergickou stimulací, zpět do normálního rytmu.

Ve funkci adenosinových A1-receptorů prekondicionují srdce tím, že imitují krátkou periodu ischemie a tím činí srdce resistantním vůči infarktu následnou ischemií. Tyto sloučeniny mohou být proto použity k ochraně srdce proti infarktu.

U uvedených sloučenin byla rovněž zjištěna neuroprotekční účinnost. Tyto sloučeniny jsou proto použitelné pro léčení neurodegenerativních poruch a některých periferních neuropatií, zejména diabetické neuropatie, a pro profylaxi periferních vaskulárních poruch spojených s neuronální degenerací.

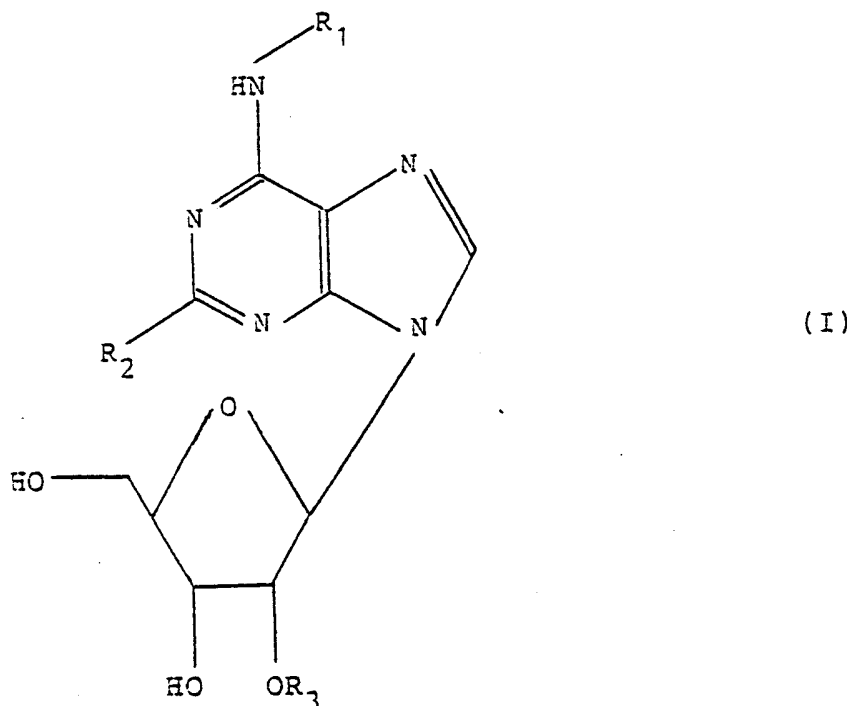
Uvedené sloučeniny snižují hladinu insulínu v krevní plasmě, aniž by přitom ovlivňovaly glukosovou toleranci. Tyto sloučeniny podporují účinek insulínu na vzrůst glukosy v tukové tkáni. Uvedené sloučeniny rovněž snižují obsah volných mastných kyselin v krevní plasmě. Účinek spočívající v optimalizaci hospodaření organismu s insulinem a/nebo ve snižování obsahu volných mastných kyselin v krevní plasmě činí uvedené sloučeniny použitelnými pro léčení cukrovky typu I a typu II.

Vzhledem k tomu, že uvedené sloučeniny snižují hladinu triglyceridů a volných mastných kyselin v plasmě, jsou tyto sloučeniny použitelné v případech, kdy došlo ke zvýšení hladiny triglyceridů a volných mastných kyselin v plasmě.

Závěrem lze uvést, že uvedené sloučeniny vykazují dobrou metabolickou stabilitu.

V souladu s výše uvedeným vynález poskytuje způsob léčení neurodegenerativních poruch, některých periferních neuropatií, například diabetické neuropatie, jakož i poruch spojených s periferním vaskulárním onemocněním a/nebo poruch spojených s neuronální degenerací, hyperglyceridemie, zvýšené hladiny volných mastných kyselin a/nebo cukrovky

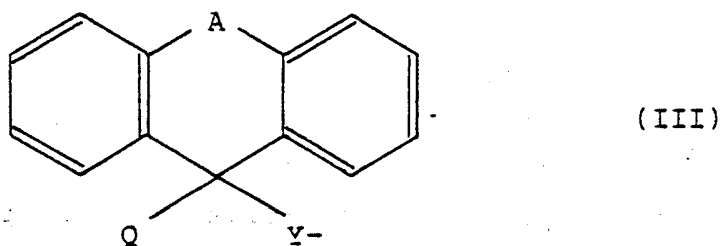
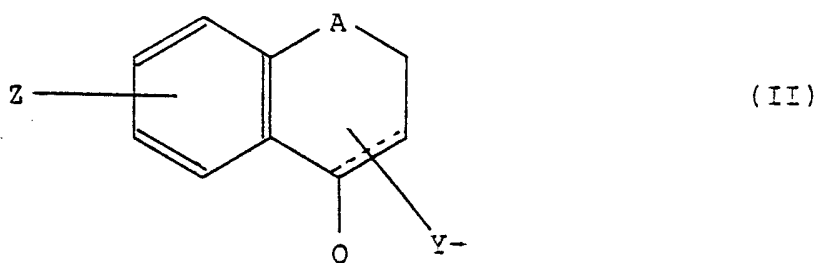
typu I a typu II a arýtmie a způsob ochrany proti infarktu myokardu, jehož podstata spočívá v podání účinného netoxického množství sloučeniny obecného vzorce I



ve kterém

R^1 znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy, allylovou skupinu, methallylovou skupinu, přímou nebo rozvětvenou alkinylovou skupinu se 3 až 7 uhlíkovými atomy, cykloalkylovou skupinu se 3 až 8 uhlíkovými atomy, fenylovou skupinu, která je nezávisle mono- nebo disubstituována atomem halogenu s atomovým číslem 9 až 35, alkylovou skupinou s 1 až 4 uhlíkovými atomy, alkoxylovou skupinou s 1 až 4 uhlíkovými atomy nebo trifluormethylovou skupinou, nebo fenylnalkylovou skupinu, ve které alkylový zbytek obsahuje 1 až 4 uhlíkové atomy a jejíž fenylový kruh je případně nezávisle mono- nebo disubstituován atomem halogenu s atomovým číslem 9 až 35, alkylovou skupinou s 1 až 4 uhlíkovými atomy, alkoxylovou skupinou s 1 až 4 uhlíkovými atomy nebo trifluormethylovou skupinou,

alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy mající alespoň jednu hydroxylovou skupinu nebo alespoň dvě fenylové skupiny, bicykloalkylovou skupinu, naftylalkylovou skupinu, ve které alkylový zbytek obsahuje 1 až 4 uhlíkové atomy, acenaftylenylalkylovou skupinu, ve které alkylový zbytek obsahuje 1 až 4 uhlíkové atomy nebo skupinu obecného vzorce II nebo obecného vzorce III



ve kterých

Z znamená atom vodíku, hydroxylovou skupinu nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy,

Q znamená atom vodíku nebo hydroxylovou skupinu,

A znamená skupinu $-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ nebo přímou vazbu,

n znamená číslo 1 až 3 a

přerušovaná čára v obecném vzorci II znamená případnou vazbu,

R^2 znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy, aminovou skupinu, cykloalkylovou skupinu

se 3 až 5 uhlíkovými atomy nebo atom halogenu s atomovým číslem 9 až 35 a

R_3 znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy, osobě vyžadující takové léčení.

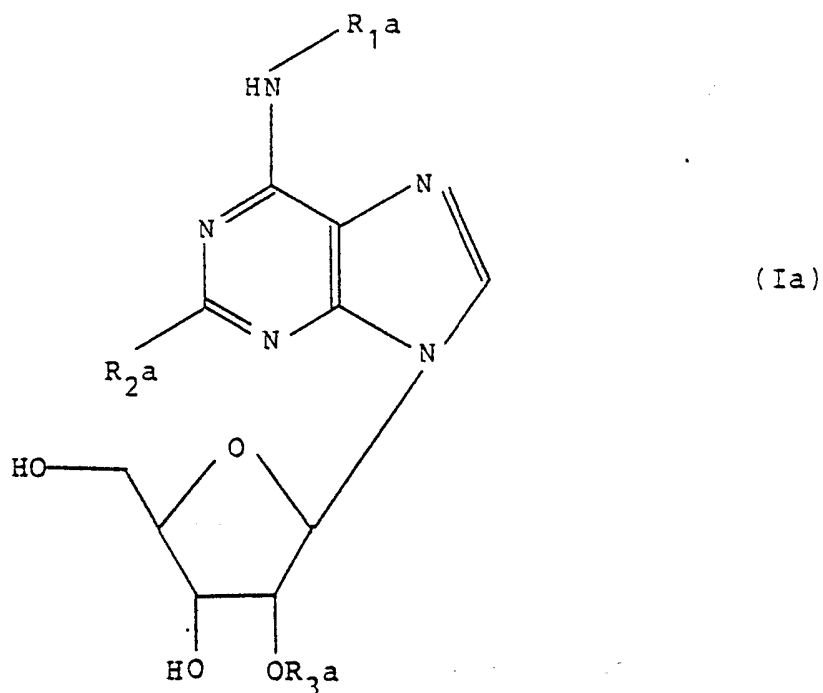
Sloučeniny obecného vzorce I mohou být použity jako takové, jako hydráty nebo jako adiční produkty s dalšími rozpouštědly, například s ethanolem, přičemž některé sloučeniny obecného vzorce I mohou být použity ve formě solí.

Předmětem vynálezu je dále použití sloučeniny obecného vzorce I nebo jejího hydrátu nebo adičního produktu s jinými rozpouštědly nebo jejích solí pro přípravu léčiva pro léčení neurodegenerativních poruch, některých periferních neuropatií, například diabetické neuropatie, a poruch spojených s periferním vaskulárním onemocněním a/nebo poruch spojených s neuronální degenerací, hyperglyceridemie, zvýšené hladiny mastných kyselin a/nebo cukrovky typu I nebo typu II, arytmií a pro ochranu proti infarktu myokardu.

Předmětem vynálezu je také farmaceutická kompozice, jejíž podstata spočívá v tom, že obsahuje sloučeninu obecného vzorce I nebo její hydrát nebo adiční produkt s ostatními rozpouštědly nebo její soli a farmaceuticky přijatelný nosič.

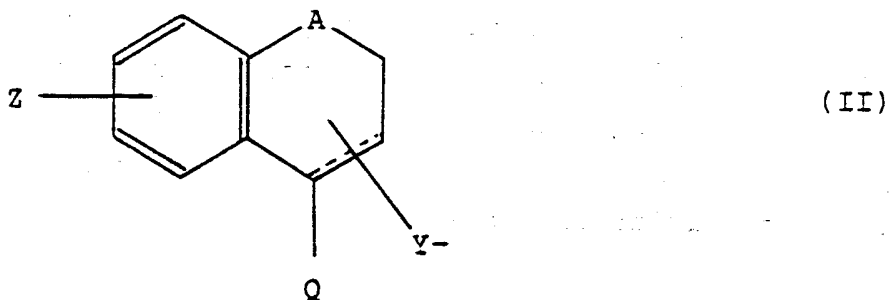
Předmětem vynálezu je zejména použití sloučeniny obecného vzorce I, ve kterém R_1 znamená cykloalkylovou skupinu se 3 až 8 uhlíkovými atomy, zejména cyklohexylovou skupinu, R_2 znamená atom vodíku a R_3 znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy, zejména methylovou skupinu, nebo jejího hydrátu pro přípravu léčiva pro léčení neurodegenerativních poruch, některých periferních neuropatií, například diabetické neuropatie, a poruch spojených s periferním vaskulárním onemocněním a/nebo poruch spojených s neuronální degenerací, hypertriglyceridemie, zvýšené hladiny mastných kyselin a/nebo cukrovky typu I a typu II a arytmií a pro ochranu proti infarktu myokardu.

Sloučeniny obecného vzorce Ia

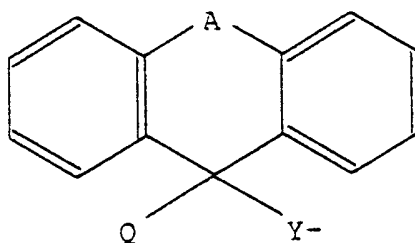


ve kterém

R_1a znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy mající případně alespoň jednu hydroxylovou skupinu nebo alespoň dvě fenylové skupiny, bicykloalkylovou skupinu, naftylalkylovou skupinu, ve které alkylový zbytek obsahuje 1 až 4 uhlíkové atomy, ace-naftylenylalkylovou skupinu, ve které alkylový zbytek obsahuje 1 až 4 uhlíkové atomy nebo skupinu obecného vzorce II.



nebo obecného vzorce III



(III)

ve kterých

Z, Q, A, Y a n mají výše uvedený význam,

R₂a znamená atom vodíku, amino-skupinu, alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy nebo atom halogenu s atomovým číslem 9 až 35 a

R₃a znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy,

jsou velmi účinné při snižování hladiny lipidů v plasmě.

V souladu s tím jsou sloučeniny obecného vzorce Ia použitečné pro léčení poruch spojených s vysokou hladinou lipidů v krvi, přičemž podstata tohoto léčení spočívá v tom, že se osobě, která takové léčení potřebuje, podá účinné netoxické množství sloučeniny obecného vzorce Ia.

Sloučeniny obecného vzorce Ia mohou být takto použity pro přípravu léčiv pro léčení vysokého obsahu lipidů v krvi.

Následující sloučeniny 1 až 13 obecného vzorce I, ve kterém R₁, R₂ a R₃ mají níže uvedený význam, jsou popsány v britské patentové přihlášce 2226027 A. Následující sloučeniny 14 až 41 obecného vzorce I, ve kterém R₁, R₂ a R₃ mají níže uvedený význam, jsou popsány v evropské patentové přihlášce 378518 a následující sloučeniny 42 až 54 obecného vzorce I, ve kterém R₁ a R₂ a R₃ mají níže uvedený význam, jsou popsány v evropské patentové přihlášce 269574. Tyto sloučeniny jsou obzvláště výhodné pro použití podle vynálezu.

Tabulka

Slouče-
nina

č.	R ₁	R ₂	R ₃
1	cyklopentyl	H	CH ₃
2	p-methoxyfenyl	H	CH ₃
3	cyklopentyl	H	C ₂ H ₅
4	cyklopentyl	CH ₃	CH ₃
5	cyklopentyl	Br	CH ₃
6	cyklopropyl	H	CH ₃
7	cyklohexyl	H	CH ₃
8	cykloheptyl	H	CH ₃
9	p-fluorfenyl	H	CH ₃
10	p-chlorfenyl	H	CH ₃
11	(R)fenyl-CH ₂ CH(CH ₃)-	H	CH ₃
12	allyl	H	CH ₃
13	prop-2-ynyl	H	CH ₃
14	2,3-dihydroxypropyl	H	CH ₃
15	benzyl	H	CH ₃
16	2,2-difenylethyl	H	CH ₃
17	exo-dicyklo/2.2.1/heptyl	H	CH ₃
18	endo-dicyklo/2.2.1/heptyl	H	CH ₃

Tabulka (pokračování)

Sloučenina			
č.	R ₁	R ₂	R ₃
19	(1-naftyl)methyl	H	CH ₃
20	(1-acenaftylenyl)methyl	H	CH ₃
21	(1,2-dihydro-1-acenaftylenyl)methyl	H	CH ₃
22	(2,3-dihydro-1H-inden-1-yl)	H	CH ₃
23	(2,3-dihydro-1H-inden-2-yl)	H	CH ₃
24	(2,3-dihydro-1H-inden-1-yl)methyl	H	CH ₃
25	(3H-inden-1-yl)methyl	H	CH ₃
26	(5-methoxy-2,3-dihydro-1H-inden-1-yl)	H	CH ₃
27	(1-tetrahydronaftyl)	H	CH ₃
28	(2-tetrahydronaftyl)	H	CH ₃
29	(3,4-dihydro-1-naftyl)methyl	H	CH ₃
30	(5-hydroxy-1-tetrahydronaftyl)	H	CH ₃
31	(1-hydroxy-1-tetrahydronaftyl)methyl	H	CH ₃
32	(5-methoxy-1-tetrahydronaftyl)	H	CH ₃
33	(6-methoxy-1-tetrahydronaftyl)	H	CH ₃
34	(7-methoxy-1-tetrahydronaftyl)	H	CH ₃
35	(4-chromanyl)	H	CH ₃
36	(4-thiochromanyl)	H	CH ₃
37	(9-fluorenyl)	H	CH ₃)

Tabulka (pokračování)

Slouče- nina			
č.	R ₁	R ₂	R ₃
38	(9-fluorenyl)methyl	H	CH ₃
39	(9-hydroxy-9-fluorenyl)methyl	H	CH ₃
40	(9-xanthenyl)methyl	H	CH ₃
41	cyklohexyl	CH ₃	CH ₃
42	H	H	CH ₃
43	H	H	C ₂ H ₅
44	H	H	C ₄ H ₉
45	H	CH ₃	CH ₃
46	H	C ₃ H ₇	CH ₃
47	H	CH ₃	C ₄ H ₉
48	CH ₃	H	CH ₃
49	C ₄ H ₉	H	CH ₃
50	CH ₃	CH ₃	CH ₃
51	CH ₃	CH ₃	C ₂ H ₅
52	C ₄ H ₉	CH ₃	CH ₃
53	H	Cl	CH ₃
54	H	F	CH ₃

Nejvýznamnější sloučeninou pro použití podle vynálezu je sloučenina č. 7, která se s výhodou používá ve formě hydrátu. Tato hydrátová forma sloučeniny č.7 je novou sloučeninou a spadá rovněž do rozsahu vynálezu. Tento hydrát se vytvoří reakcí známého monoetherátu sloučeniny č.7 s vodným rozpouštědlem.

Obzvláště výhodnou hydrátovou formou je 1,5-hydrátová forma.

1,5-Hydrát sloučeniny č.7, tj. 6-cyklohexyl-2'-O-methyladenosin-1,5-hydrát může být připraven následujícím způsobem: 0,7 g 6-chlor-9-puriny-2'-O-methyl-D-ribosy se zahřívá ve 30 ml cyklohexylaminu na teplotu 80 °C po dobu 2 hodin. Směs se potom odpaří k suchu za sníženého tlaku. Získaný zbytek se chromatografuje na silikagelu za použití směsi methylenchloridu a ethanolu v objemovém poměru 95:5 jako eluční soustavy. Takto přečištěný produkt se nechá vykrytalizovat ze směsi methylenchloridu a diethyletheru. Poněvadž produkt obsahuje diethylether, který nemůže být odstraněn dokonce ani za vysokého vakua, rekrystalizuje se ze směsi ethanolu a vody. Takto získaný 6-cyklohexyl-2'-O-methyladenosin-1,5-hydrát má teplotu tání 88 až 91 °C a

$[\alpha]_D^{20} = -57,2^\circ$ ($c = 1$ v dimethylformamidu).

Elementární analýza:

Vypočteno: C : 52,3 %

H : 7,2 %

N : 17,9 %

O : 22,5 %

Nalezeno: C : 52,5 %

H : 7,2 %

N : 18,0 %

O : 22,4 %

Infračervené spektrum tohoto 1,5-hydrátu, výsledek DSC-termální analýzy a výsledky nukleární magnetickorezonanč-

ní spektroskopie jsou uvedeny na připojených obrázcích. Výsledky těchto měření společně s výsledky elementární analýzy, ukazují, že výše uvedeným postupem byl připraven 6-cyklohexyl-2'-O-methyladenosin-1,5-hydrát.

Sloučeniny obecného vzorce I jsou výhodně ve farmaceuticky přijatelné formě nebo ve formě hydrátu nebo jako adiční produkty s ostatními rozpouštědly, například s ethanolem anebo jako soli. Pod pojmem farmaceuticky přijatelná forma se např. rozumí farmaceuticky přijatelná čistota uvedených sloučenin, jakož i farmaceutických přísad, jakými jsou ředidla a nosiče, přičemž do uvedeného pojmu nespádají látky, které jsou v normálních dávkovacích koncentracích toxické.

Solemi mohou být soli s alkalickými kovy, například sodné a draselné soli, nebo adiční soli, například hydrochloridy.

Sloučeniny obecného vzorce I mohou být za účelem podání formulovány do libovolné vhodné galenické formy, přičemž výhodná galenická forma bude záviset na onemocnění, jehož léčení je žádoucí a bude s výhodou tvořena jednotkovou dávkovací formou, kterou si humánní pacient může sám podávat v jediné dávce. S výhodou se sloučeniny obecného vzorce formulují do galenické formy, která je vhodná pro perorální, rektální, topickou, parenterální, intravenózní nebo intramuskulární podání.

Sloučeniny obecného vzorce I mohou být rovněž formulovány do galenické formy, ze které se účinná látka uvolňuje pomalu a rovnoměrně.

Sloučeniny podle vynálezu mohou být formulovány do farmaceutických kompozic podle vynálezu majících formu tablet, kapslí, tobolek, prášků, granulí, kosočtverečných pastilek nebo kapalných preparátů, jakými jsou sterilní parenterální roztoky nebo suspenze, nebo čípků a rekonstituovatelných prášků. V případě potřeby přichází v úvahu i topické formulace.

Vzhledem k dosažení konsistence podání je výhodné, když je farmaceutická kompozice podle vynálezu ve formě jednotkové dávky.

Jednotkovými dávkovací formami mohou být tablety a kapsle a tyto tablety a kapsle mohou obsahovat konvenční pomocné látky, jakými jsou pojiva, například sirup, akácie, želatina, sorbitol, tragant nebo polyvinylpyrrolidon, plniva, například laktóza, cukr, kukuřičný škrob, fosforečnan vápenatý, sorbitol nebo glycin, tabletizační maziva, například stearát hořečnatý, desintegrační činidla, například škrob, polyvinylpyrrolidon, natriumglykolát škrobu nebo mikrokrystalická celulóza, nebo farmaceuticky přijatelná smáčecí činidla, například natriumlaurylsulfát.

Pevné perorální kompozice mohou být připraveny konvenčními směšovacími, plnicími, tabletizačními nebo jinými postupy. Opakované směšovací operace mohou být použity za účelem distribuce účinné látky ve farmaceutických kompozicích, ve kterých je použito velkého množství plniv.

Takové operace a postupy jsou velmi dobře známé. Tablety mohou být ovrstveny některou z velmi dobře známých metod, zejména enterickým povlakem.

Perorální kapalná formulace mohou být například ve formě emulzí, sirupů nebo elixírů anebo mohou mít formu suchých prášků, ze kterých se potom bezprostředně před použitím rekonstituuje kapalná formulace za použití vody nebo jiného vhodného vehikula. Takové kapalná formulace mohou obsahovat konvenční přísady, jakými jsou suspenzační činidla, například sorbitol, sirup, methylcelulóza, želatina, hydroxyethylcelulóza, karboxymethylcelulóza, gel stearátu hlinitého, hydrogenované jedlé tuky, emulgační činidla, například lecitin, sorbitanmonooleát nebo akácie, nevodná vehikula (která zahrnují jedlé oleje), například mandlový olej, frakcionovaný kokosový olej, olejové estery, jakými jsou estery glycerinu, propylenglykol nebo ethylalkohol, konzervační činidla, na-

příklad methyl- nebo propyl-p-hydroxybenzoát kyseliny sorbové, a případně aromatizační nebo barvicí činidla.

Pro parenterální podání se tekuté jednotkové dávkovací formy připravují za použití účinné sloučeniny a sterilního vehikula, přičemž účinná látka může být v závislosti na použité koncentraci buď suspendována nebo rozpuštěna v kapalném vehikulu. Při přípravě roztoků může být účinná sloučenina rozpuštěna v polyethylenglykolu nebo ethanolu a zředěna vodou pro injekce a sterilizována filtrací před naplněním do vhodné lékovky nebo ampule a zatavením nebo vzduchotěsným uzavřením. S výhodou může být ve vehikulu rozpuštěna vhodná přísada, jakou je lokální anestetikum nebo konzervační nebo pufrovací činidlo. Parenterální suspenze se připraví v podstatě stejným způsobem s výjimkou spočívající v tom, že se účinná sloučenina ve vehikulu suspenduje a nikoliv rozpustí, přičemž sterilizace nemůže být v tomto případě provedena filtrací. Účinná sloučenina může být sterilizována vystavením účinku ethylenoxidu před suspendováním ve sterilním vehikulu. S výhodou je v této farmaceutické kompozici obsaženo povrchově aktivní smáčecí činidlo, které usnadňuje jednotnou distribuci účinné sloučeniny.

Tyto farmaceutické kompozice mohou obsahovat 0,1 až 99 % hmotnosti, výhodně 10 až 60 % hmotnosti účinné látky v závislosti na způsobu podání.

Sloučeniny obecného vzorce I nebo jejich hydrát nebo adiční produkt s jinými rozpouštědly nebo soli mohou být rovněž podány ve formě topické formulace, ve které se účinná sloučenina nachází v kombinaci s konvenčními topickými pomocnými látkami.

Tyto topické formulace mohou mít například formu mastí, krémů nebo vodiček, impregnovaných obvazů, gelů, sprejů a aerosolů, a mohou obsahovat vhodné konvenční přísady, jakými jsou konzervační činidla, rozpouštědla podporující penetraci účinné látky a změkčovadla v mastích a krémech.

Tyto formulace mohou obsahovat kompatibilní konvenční nosiče, jakými jsou základy mastí a ethanol nebo oleylalkohol pro kapalné formulace, například pro vtírané roztoky a emulze.

Vhodné farmaceutické formulace ve formě krémů, vodiček, gelů, impregnovaných náplastí, mastí, sprejů nebo aerosolů, ve kterých může být použita sloučenina obecného vzorce I nebo její hydrát nebo adiční produkt s jinými rozpouštědly nebo soli, jsou velmi dobře známými konvenčními formulacemi, které jsou například popsány ve standardní farmaceutické a kosmetické literatuře, jakou je například Harry's Cosmeticology, vydaná nakladatelstvím Leonard Hill Books, Remington's Pharmaceutical Sciences, a v lékopisech Velké Británie a Spojených států amerických.

Vhodně tvoří sloučenina obecného vzorce I nebo její hydrát nebo adiční produkt s jinými rozpouštědly nebo soli asi 0,5 až 20 % hmotnosti formulace, výhodně asi 1 až 10 %, například 2 až 5 %.

Dávka sloučeniny obecného vzorce I, použitá při výše uvedeném léčení, se bude měnit obvyklým způsobem v závislosti na vážnosti léčeného onemocnění, hmotnosti pacienta a relativní účinnosti použité účinné sloučeniny obecného vzorce I. Obecně však vhodná jednotková dávka může činit 0,1 až 1000 mg, jako například 0,5 až 200 mg, 0,5 až 100 mg nebo 0,5 až 10 mg, zejména 0,5 mg, 1 mg, 2 mg, 3 mg, 4 mg nebo 5 mg, přičemž tato jednotková dávka může být podávána vícekrát než jednou denně, například 2x, 3x, 4x, 5x nebo 6x denně, avšak s výhodou se tato dávka podává jednou nebo dvakrát denně tak, aby celková denní dávka pro dospělého pacienta s tělesnou hmotností 70 kg činila asi 0,1 až 1000 mg, tj. asi 0,001 až 20 mg/kg/den, jako například 0,007 až 3 mg/kg/den, 0,007 až 1,4 mg/kg/den, 0,007 až 0,14 mg/kg/den nebo 0,01 až 0,5 mg/kg/den, zejména 0,01 mg/kg/den, 0,02 mg/kg/den, 0,04 mg/kg/den, 0,05 mg/kg/den, 0,06 mg/kg/den, 0,08 mg/kg/den, 0,1 mg/kg/den nebo 0,2 mg/kg/den. Taková terapie může být prováděna po dobu několika týdnů nebo měsíců.

Výraz "farmaceuticky přijatelný" zahrnuje materiály, které jsou vhodné jak pro humánní, tak i pro veterinární použití.

Při výše vymezených dávkách sloučenin obecného vzorce I nebylo zjištěno, že by tyto dávky sloučenin obecného vzorce I měly jakýkoliv toxický účinek.

Za účelem stanovení farmakologické účinnosti sloučenin obecného vzorce I byly provedeny následující farmakologické testy.

a) Afinita k adenosinovým receptorům

Postupem popsaným H. Bruns-em a kol. v Molecular Pharmacology 29 (1986), str. 331 až 344 se připraví prasečí striatální membrány. Pro značení jak A_1 , tak i A_2 receptorů se použije neselektivní agonist adenosinových receptorů 3H -NECA. Inhibiční koncentrace IC_{50} se odvodí z vytěšňovacích křivek přizpůsobením nelineární křivky získané metodou nejmenších čtverců Langmuirově rovnici, načež se vypočtou hodnoty pK_p .

Získané výsledky jsou uvedené v následující tabulce, přičemž v souladu s literaturou produkt CPA vykazuje potentní a vysoce selektivní vytěšňovací účinnost z vazby k A_1 -receptorům, produkt CV 1808 je relativně slabým avšak selektivním A_2 -receptorovým ligandem a produkt CGS 21680 vykazuje vysokou potenci a selektivitu pro receptory A_2 . Sloučenina č.7 ve formě 1,5-hydrátu vykazuje dobrou afinitu a vysokou selektivitu pro receptory A_1 .

Tabulka

Afinita adenosinových receptorových ligandů vůči receptorům A_1 a A_2

	A_1 (K_D ; nM)	A_2 (K_D ; nM)	$A_1:A_2$ selektivita	n
CPA ^a	0,74 ± 0,01	33 ± 110	1260	6
CV 1808 ^a	2460 ± 757	269 ± 70	0,1	5
CGS 21680 ^a	4360 ± 1080	10 ± 4	0,004	4
Sloučenina č.7	23 ± 2	24500 ± 5160	1090	5

CPA^a = cyklopentyladenosin

CV 1808^a = 2-fenylaminoadenosin (Carbohydrates sv.81 (1974) ref. 91898 K)

CGS 21680^a = 2-/p-(2-karboxyethyl)fenethylamino/-5'-N-ethyl-karboxamidoadenosin (FASEB J, 1989, 3 (4), ref. 4770 a 4773).

b) Arytmie

Aktivace adenosinových receptorů snižuje výskyt supra-ventrikulární tachykardie a ostatních arytmí. Použitá testovací metoda byla popsána Clarke-m a kol. v The Pharmaceutical Journal , sv. 244, 595 až 597 (1990). Při tomto testu se sloučenina č. 7 použije ve formě 1,5 hydrátu.

- c) Střední arteriální krevní tlak, bradykardie a periferní vasodilatace u anestetizovaných krys

Tento test byl proveden za použití krysích samečků Wistar s tělesnou hmotností 300 až 350 g (323 ± 3 g), anestetizovaných inaktinem (150 mg/kg, intraperitoneálně), přičemž se postupuje podle metodiky, popsané Schroeder-em a kol. (Measurement of the cardiodynamics, haemodynamics and the ECG in the anesthetized rat, effects of catecholamines (dopamine and isoproterenol) in Budden et al. "The Rat Electrocardiogram in Pharmacology and Toxicology" Oxford Pergamon Press 1981, 155-9). Katetry byly umístěny do pravé jugulární a pravé femorální žíly, do levé srdeční komory (zaveden přes karotidu), do levé femorální arterie a aorty (zaveden přes pravou femorální arterii). Při testu byly měřeny nebo vypočteny následující proměnné veličiny: systolický, diastolický a střední arteriální krevní tlak (mm Hg, levá femorální arterie, Stathamův snímač tlaku P 23 Gb), pulsní tlak (mm Hg), puls (počet tepů za minutu; odvozen z křivky krevního tlaku), rychlost vzrůstu levého ventrikulárního tlaku ($dP/dt_{\max}$, mm Hg/s; Stathamův snímač tlaku P 23 Gb), srdeční výstup (ml/min/100 g tělesné hmotnosti, tepelně zředovací metoda, pravá jugulární žíla a aorta), totální periferní resistence ($\text{dyn.s.cm}^{-5}/100$ g tělesné hmotnosti), ECG III. Arteriální krevní tlak, $dP/dt_{\max}$, puls a elektrokardiogram se kontinuálně zaznamenávají za použití Schwarzerova polygrafu. Uvedené parametry se měří 30, 20, 10 a 2 minuty před podání testované látky a 1, 10, 30 a 60 minut po injekci testované látky do pravé femorální žíly. Sloučenina č.7 ve formě 1,5-hydrátu se testuje v dávkách 0,003, 0,01 a 0,03 mg/kg, přičemž se pro každou dávku testované sloučeniny použije pět pokusných zvířat.

- d) Průtok krve skrze ischemický skeletový sval

Krysí samečkové s normálním krevním tlakem (s tělesnou hmotností asi 300 g) se anestetizují produktem Evipan Na

(160 mg/kg, i.p.), načež se jim podvazuje pravá femorální arterie. Tři týdny po tomto podvázání se krysy anestetizují pentothalem (Thiopental-Na, 40 mg/kg, intraperitoneálně), načež se umístí do speciální konzoly pro měření rezonancí fosfokreatinu (PCr), anorganického fosfátu (Pi), tří fosfátů ATP a fosfomonoesterů a cukerných fosfátů (PM) použitím spektrometru Bruker Biospec 47/15, vybaveného 4,7 T-horizontálním magnetem (15 cm světlý otvor). Přívod krve do pravé zadní nohy byl potom dočasně zastaven na dobu asi 30 až 40 minut turniketem, umístěným okolo vrchní části uvedené nohy až do okamžiku, kdy hodnota PC klesne na asi 1/3 původního stavu. Potom se obnoví přívod krve a sleduje se rychlost restaurace (τ_1) PC. Třicet minut později se stejný postup opakuje bez a po intravenózním podání testované sloučeniny, tj. sloučeniny č.7 ve formě 1,5-hydrátu, přičemž se opět sleduje rychlost restaurace PC (τ_2). Poměr obou restauračních časů (τ_1/τ_2) je považován za kritérium pro vyhodnocení účinku testované sloučeniny na periferní cirkulaci. Některá pokusná zvířata byla testována sympatetickým neurotoxin-6-hydroxydopaminem v okamžiku podvázání femorální arterie, přičemž byly stanoveny účinky sloučeniny č.7 ve formě 1,5-hydrátu na uvedeným způsobem indukovanou periferní vaskulární insuficienci.

e) Glukosový transport v krysích adipocytech

Adipocyty se izolují z epididymálních tukových polštářů normálně krmených krys digescí kollagenázou. Buňky (finální koncentrace 2 % hmotnosti) se preinkubují s adenosin-deaminázou (1 U/ml), testovanými sloučeninami, například sloučeninou č.7 ve formě 1,5-hydrátu a dalších přísad po dobu 30 minut při teplotě 37 °C. Potom se přidá /3-³H/-glukóza (finální koncentrace 50 μ M, 0,5 μ Ci/ml) a v inkubaci se pokračuje po dobu dalších 60 minut. Inkorporace radioaktivity z /3-³H/-glukózy do buněčných lipidů (míra transportu glukózy) byla vyhodnocena extrakcí buněčné suspenze (0,5 ml) s 5 ml scintilačního činidla na bázi toluenu a potom scintilačním vy-

hodnocením uvedené kapalného scintilačního činidla; ve vodě rozpustné metabolity a zbylá $3\text{-}^3\text{H}$ -glukóza zůstanou ve vodné fázi a nejsou detekovány.

f) Dyslipidemie charakterizovaná zvýšenou hladinou triglyceridů v krevním séru

Některé výzkumné studie prokázaly pozitivní vazbu mezi hladinou triglyceridů v krevním séru a výskytem koronárního srdečního onemocnění (CHD - coronary heart disease) (Grundy v Cholesterol and Atherosclerosis: Diagnosis and Treatment, Lippincott, Philadelphia (1990)). Možnost snížení rizika koronárního srdečního onemocnění snížením zvýšené hladiny triglyceridů v krevním séru vyplývá z Helsinky Heart Study, kde bylo po léčení gemfibrozilem dosaženo největšího omezení vážných koronárních příhod u hyperlipidemických pacientů typu IIB, u kterých byla zvýšena hladina jak LDL-cholesterolu, tak i celkových triglyceridů v krevním séru. Sloučenina č. 7 ve formě 1,5-hydrátu způsobuje výrazný a dlouhodobý pokles hladiny volných mastných kyselin a triglyceridů u opic.

g) Ochrana proti infarktu prekondicionací

Prekondicionace (5 minut ischemie následovaných 10 minutami regenerace) činí srdce velmi resistantním vůči infarktu způsobenému ischemií. Příslušná testovací metoda je popsána v článku G.S. Liu a kol. zveřejněném v Circulation 84, 1, 350 až 356 (1991). Při tomto testu se použije sloučenina č. 7 ve formě 1,5-hydrátu.

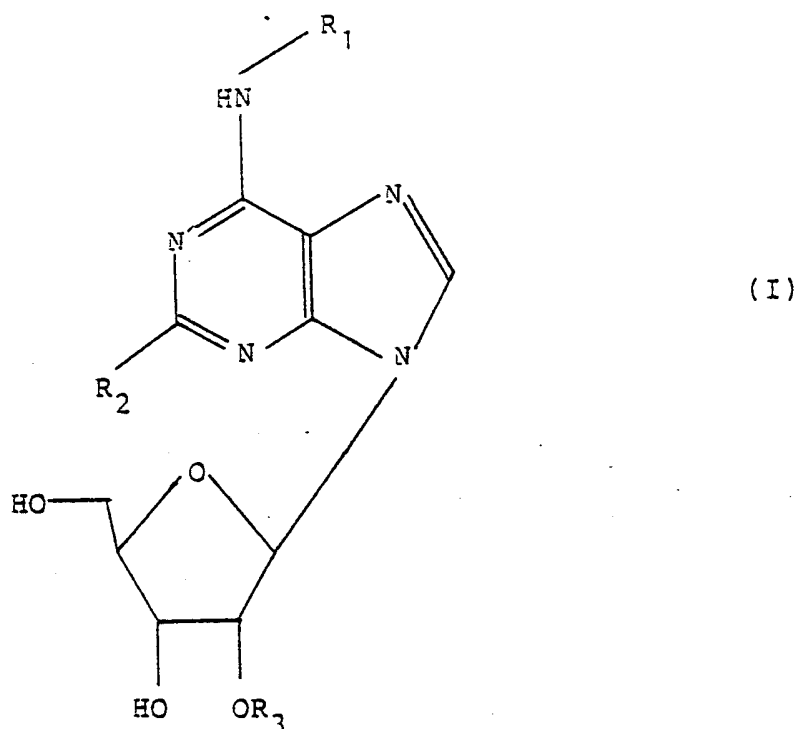
J. I. Kuhl
JUDr. Jarmila Traplová

131-92

PRŮVODNÍ LISTY A OBJEVY	16. 1. 92	002576	č. j.
PRŮVODNÍ LISTY A OBJEVY			
PRŮVODNÍ LISTY A OBJEVY			
PRŮVODNÍ LISTY A OBJEVY			

P A T E N T O V É N Á R O K Y

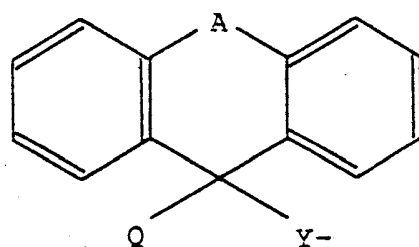
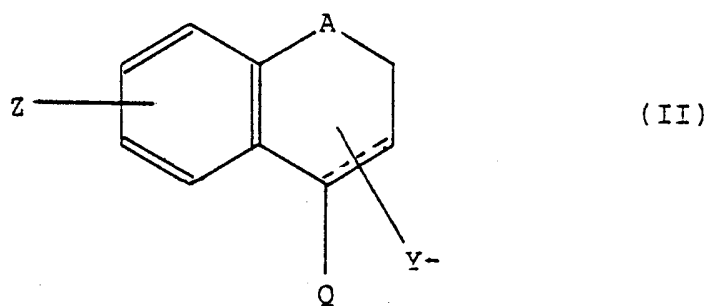
1. Použití 2'-O-alkyladenosinových derivátů obecného vzorce I



ve kterém

R¹ znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy, allylovou skupinu, methallylovou skupinu, přímou nebo rozvětvenou alkinylovou skupinu se 3 až 7 uhlíkovými atomy, cykloalkylovou skupinu se 3 až 8 uhlíkovými atomy, fenylovou skupinu, která je nezávisle mono- nebo disubstituována atomem halogenu s atomovým číslem 9 až 35, alkylovou skupinou s 1 až 4 uhlíkovými atomy, alkoxylovou skupinou s 1 až 4 uhlíkovými atomy nebo trifluormethylovou skupinou, nebo fenylnalkylovou skupinu, ve které alkylový zbytek obsahuje 1 až 4 uhlíkové atomy a jejíž fenylový kruh je případ-

ně nezávisle mono- nebo disubstituován atomem halogenu s atomovým číslem 9 až 35, alkylovou skupinou s 1 až 4 uhlíkovými atomy, alkoxylovou skupinou s 1 až 4 uhlíkovými atomy nebo trifluormethylovou skupinou, alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy mající alespoň jednu hydroxylovou skupinu nebo alespoň dvě fenylové skupiny, bicykloalkylovou skupinu, naftylalkylovou skupinu, ve které alkylový zbytek obsahuje 1 až 4 uhlíkové atomy, ačenaftylenylalkylovou skupinu, ve které alkylový zbytek obsahuje 1 až 4 uhlíkové atomy nebo skupinu obecného vzorce II nebo obecného vzorce III



ve kterých

Z znamená atom vodíku, hydroxylovou skupinu nebo alkoxylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy,

Q znamená atom vodíku nebo hydroxylovou skupinu,

A znamená skupinu $-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ nebo přímou vazbu,

n znamená číslo 1 až 3 a

přerušovaná čára v obecném vzorci II znamená případnou vazbu,

R^2 znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy, aminovou skupinu, cykloalkylovou skupinu

se 3 až 5 uhlíkovými atomy nebo atom halogenu s atomovým číslem 9 až 35 a

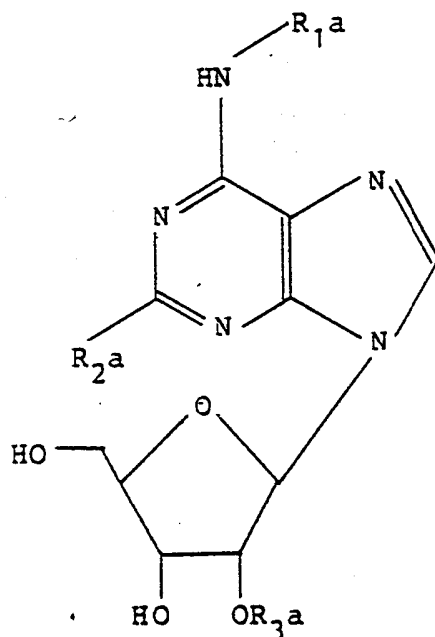
R_3 znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy,

nebo jejich hydrátů nebo adičních produktů s ostatními rozpouštědly nebo solí pro přípravu léčiva vhodného pro léčení neurodegenerativních poruch, některých periferních neuropatií, například diabetické neuropatie, a poruch spojených s periferním vaskulárním onemocněním a/nebo poruch spojených s neuronální degenerací, hypertriglyceridemie, zvýšeného obsahu volných mastných kyselin a/nebo cukrovky typu I a typu II a arytmií a pro ochranu proti infarktu myokardu.

2. Použití podle nároku 1 sloučeniny obecného vzorce I, ve kterém R_1 znamená cykloalkylovou skupinu se 3 až 8 uhlíkovými atomy, R_2 znamená atom vodíku a R_3 znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy.

3. Použití podle nároku 2 sloučeniny obecného vzorce I, ve kterém R_1 znamená cyklohexylovou skupinu, R_2 znamená atom vodíku a R_3 znamená methylovou skupinu.

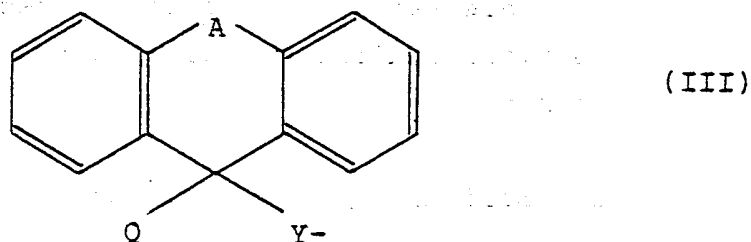
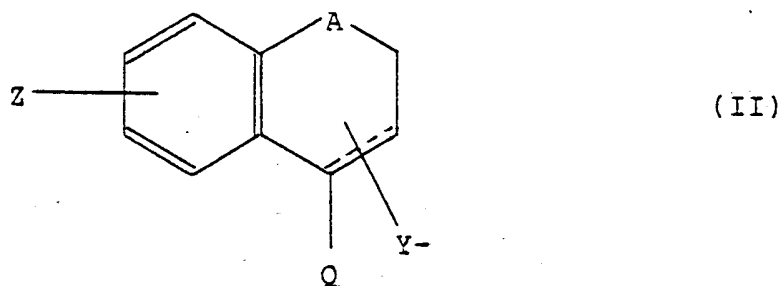
4. Použití sloučeniny obecného vzorce Ia



(Ia)

ve kterém

R_1a znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy mající případně alespoň jednu hydroxylovou skupinu nebo alespoň dvě fenylové skupiny, bicykloalkylovou skupinu, naftylalkylovou skupinu, ve které alkylový zbytek obsahuje 1 až 4 uhlíkové atomy, acenaftylalkylovou skupinu, ve které alkylový zbytek obsahuje 1 až 4 uhlíkové atomy nebo skupinu obecného vzorce II nebo obecného vzorce III



ve kterých

Z , Q , A , Y a n mají významy definované v nároku 1 a

R_2a znamená atom vodíku, aminoalkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy nebo atom halogenu s atomovým číslem 9 až 35 a

R_3a znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy,

nebo jejího hydrátu nebo adičního produktu s ostatními rozpouštědly nebo solí pro přípravu léčiva vhodného pro snížení vysoké hladiny krevních lipidů.

5. Farmaceutická kompozice, v y z n a č e n á t í m , že

obsahuje terapeuticky účinné množství sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1 a její farmaceuticky přijatelný nosič a že je vhodná pro léčení neurodegenerativních poruch, některých periferních neuropatií, například diabetické neuropatie, a poruch spojených s periferním vaskulárním onemocněním a/nebo poruch spojených s neuronální degenerací, hyperglyceridemie, zvýšeného obsahu volných mastných kyselin a/nebo cukrovky typu I a typu II a arytmií a pro ochranu proti infarktu myokardu.

6. Farmaceutická kompozice, v y z n a č e n á t í m , že obsahuje terapeuticky účinné množství sloučeniny obecného vzorce Ia podle nároku 4 a její farmaceuticky přijatelný nosič a že je vhodná pro snížení vysoké hladiny krevních lipidů.

7. 6-Cyklohexyl-2'-O-methyladenosinhydrát.

8. 6-Cyklohexyl-2'-O-methyladenosinhydrát podle nároku 7, v y z n a č e n ý t í m , že je 1,5-hydrátem.

9. Způsob přípravy 6-cyklohexyl-2'-O-methyladenosinhydrátu podle nároku 7, v y z n a č e n ý t í m , že se 6-cyklohexyl-2'-O-methyladenosinmonoetherát nechá vykrystalizovat z vodného rozpouštědla.

10. Způsob přípravy 1,5-hydrátu 6-cyklohexyl-2'-O-methyladenosinu podle nároku 8, v y z n a č e n ý t í m , že se 6-cyklohexyl-2'-O-methyladenosinmonoetherát nechá vykrystalizovat ze směsi ethylalkoholu a vody.

11. Použití 6-cyklohexyl-2'-O-methyladenosinhydrátu pro přípravu léčiva vhodného pro léčení vysokého krevního tlaku, onemocnění vyžadujících koronární vasodilatátory, pro inhibici agregace trombocytů a aktivace leukocytů, pro snížení hladiny krevních lipidů, proti kongestivní srdeční nedostatečnosti, infarktu myokardu, náhlé srdeční zástavě a renální insuficienci, dále pro léčení neurodegenerativních poruch, některých periferních neuropatií, například diabetické neuropatie, a poruch spojených s periferním vaskulárním onemocněním a/nebo poruch

spojených s neuronální degenerací, hypertriglyceridemie, zvýšené hladiny volných mastných kyselin a/nebo cukrovky typu I a typu II a arytmií a pro ochranu proti infarktu myokardu.

12. Farmaceutická kompozice, v y z n a č e n á t í m, že obsahuje terapeuticky účinné množství 6-cyklohexyl-2'-O-methyladenosinhydrátu a jeho farmaceuticky přijatelný nosič a že je vhodná pro léčení vysokého krevního tlaku, onemocnění vyžadujících koronární vasodilatátory, pro inhibici agregace trombocytů a aktivace leukocytů, pro snížení hladiny krevních lipidů, proti kongestivní srdeční nedostatečnosti, infarktu myokardu, náhlé srdeční zástavě a renální insuficienci, dále pro léčení neurodegenerativních poruch, některých periferních neuropatií, například diabetické neuropatie, a poruch spojených s periferním vaskulárním onemocněním a/nebo poruch spojených s neuronální degenerací, hypertriglyceridemie, zvýšené hladiny volných mastných kyselin a/nebo cukrovky typu I a typu II a arytmií a pro ochranu proti infarktu myokardu.

Zastupuje :

J. Culeš
UDr. Jarmila Tráplová