СОЮЗ СОВЕТСКИХ СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1746885 A3

(51)5 C 07 D 513/04//A 61 K 31/505

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ ПРИ ГКНТ СССР

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К ПАТЕНТУ

1

(21) 4613153/04
(62) 4203951/04
(22) 26.12.88
(23) 30.12.87
(31) 5512/86
(32) 30.12.86
(33) HU
(46) 07.07.92. Бюл. № 25
(71) Эгиш Дьёдьсердьяр (HU)

(72) Даниель Божинг, Дьёрдьи Коваьи, Эдит Береньи, Карой Мадьяр, Шандор Тубо-ли и Аттила Манди (HU)
(53) 547.859.07 (088.8)
(56) Патент США № 4302585, кл. C 07 D 513/04, C 07 D 513/04, 1981.

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ 7-АМИНО-5-ИМИНО-2,3-ДИГИДРО-5Н-ТИАЗОЛО [3, 2-а] ПИРИМИДИНА ИЛИ ЕГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИ ПРИЕМЛЕМЫХ КИСЛОТНО-АДДИТИВНЫХ СОЛЕЙ, ИЛИ ГИДРАТОВ

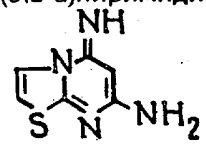
2

(57) Изобретение касается гетероциклических веществ, в частности получения 7-амино-5-имино-2,3-дигидро-5Н-тиазоло(3,2-а) пиримидина или его кислотно-аддитивных солей, или гидратов, обладающих иммуностимулирующей активностью, что может быть использовано в медицине. Цель – создание новых более активных веществ указанного класса. Синтез ведут реакцией 2-аминотиазолина с динитрилом малеиновой кислоты с последующим выделением целевого продукта в виде основания, нужной соли или гидрата. Новые вещества способны регулировать функции Т-клеток и восстанавливать субпопуляции супрессоров Т-клеток, что может быть использовано для лечения ревматоидного артрита, системной красной волчанки, а также для повышения эффективности некоторых вирусных вакцин, обладающих слабым иммуногенным действием – вакцин вируса лишая или аденовируса. 4 табл.

Изобретение относится к способу получения новых производных тиазоло(3,2-а)пиримидина, обладающих ценными фармакологическими свойствами и которые могут найти применение в медицине.

Цель изобретения – получение новых производных тиазоло (3,2-а)пиримидина, обладающих более высокой иммуностимулирующей активностью.

Поставленная цель достигается способом получения 7-амино-5-имино-2,3-дигидро-5Н-тиазоло(3,2-а)пиримидина формулы



(1)

или их фармацевтически приемлемых кислотно-аддитивных солей, или их гидратов, заключающимся в том, что 2-аминотиазолин подвергают взаимодействию с динитрилом малоновой кислоты с последующим выделением целевого продукта в виде основания или соли, или гидрата, или переведением соли в основание.

Пример 1. 7-Амино-5-имино-2,3-дигидро-5Н-тиазоло(3,2-а)пиримидингидробромид.

Смесь 10,21 г (0,1 моль) 2-аминотиазолина, 6 61 г (0,1 моль) динитрила малоновой кислоты, 125 мл этанола и 10,12 г (0,1 моль) триэтиламина выдерживают при комнатной температуре 2 дня. Реакционную смесь ос-

(19) SU (11) 1746885 A3

ветляют и устанавливают величину pH 6 добавлением 48%-ного раствора бромистого водорода при охлаждении ледяной водой. Получают 18 г названного соединения. Выход 72%, т.пл. выше 300°С.

Вычислено, %: С 28,93; Н 3,64; N 22,49; S 12,87; Br 32,07.

$C_6H_9BrN_4S$

Найдено, %: С 28,23; Н 3,70; N 22,46; S 12,85; Br 32,80.

Пример 2. 7-Амино-5-имино-2,3-дигидро-5Н-тиазоло(3,2-а)пиримидин.

Смесь 10,21 г (0,1 моль) 2-аминотиазолина, 6,61 г (0,1 моль) динитрила малоновой кислоты и 200 мл диметилформамида нагревают в течение 20 мин при 155°С. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, осветляют и сгущают. Полученный маслянистый остаток кристаллизуют из ацетонитрила и сушат. Получают 5,1 г названного соединения. Выход 30%, т.пл. выше 300°С.

Вычислено, %: С 42,84; Н 4,79; N 33,31; S 19,06.

Найдено, %: С 42,81; Н 4,69; N 33,29; S 19,03.

Пример 3. 7-Амино-5-имино-2,3-дигидро-5Н-тиазоло(2,3-а)пиримидингидрокарбонатдигидрат.

К раствору 224 г бикарбоната натрия в 2500 мл воды добавляют 24,9 г (0,1 моль) 7-амино-5-имино-2,3-дигидро-5Н-тиазоло(3,2-а)пиримидингидробромида. Реакционную смесь перемешивают 8 ч при комнатной температуре, затем отфильтровывают. Продукт промывают водой и сушат. Получают 17,2 г названного соединения. Выход 75%, т.пл. 146–148°С.

Вычислено, %: С 31,70; Н 4,94; N 21,12; S 12,09.

$C_7H_{13}N_4O_5S$.

Найдено, %: С 32,68; Н 4,70; N 20,69; S 12,18.

Пример 4. 7-Амино-5-имино-2,3-дигидро-5Н-тиазоло(3,2-а)пиримидин.

Смесь 5,3 г (0,02 моль) 7-амино-5-имино-2, 3-дигидро-5Н-тиазоло(3,2-а)пиридингидрокарбонатадигидрата и 30 мл уксусной кислоты перемешивают 6 ч. Раствор упаривают, образующиеся кристаллы кристаллизуют из этанола, фильтруют и сушат. Получают 3,6 г названного соединения. Выход 59,5%, т.пл. 158–160°С.

Вычислено, %: С 43,70; Н 6,00; N 18,53; S 10,60.

$C_{11}H_{18}N_4O_4S$.

Найдено, %: С 43,68; Н 5,97; N 18,17; S 10,56.

Установлено, что предлагаемое соединение и его соли обладают иммуностимулирующей активностью, в частности в модели повышения иммуногенного действия некоторых вакцин вируса герпеса со слабым иммуногенным действием.

Результаты модельных опытов на мышах и свиньях иммуностимулирующих свойств приведены в табл.1 и 2 дозы 0,1 мг соединения на 1 мышь и 5 мг соединения на 1 свинью).

В модели с периферическими лимфоцитами используют следующий метод испытания.

Отделение лимфоцитов.

Из обработанных гепарином (для предотвращения свертывания) проб крови выделяют лимфоциты дифференциальным центрифугированием на фиколлпаке. Концентрацию клеток в растворе Хенкса, содержащем сыворотку коровьего эмбриона, доводят до 10 млн. клеток/мл. Клеточные суспензии переносят по 1,5 мл в лейтоновские пробирки и добавляют соответствующие антигены.

Образование иммунных розеток.

3%-ный раствор эритроцитов Шафена после соответствующей предварительной обработки адсорбируют антигеном Бойдена. 0,1 мл обработанных таким образом эритроцитов добавляют в пробирки. Через 16 ч подсчитывают долю (процент) клеток, образующих розетки, в окрашенных препаратах, используя микроскоп.

Цитотоксические реакции (СТ).

Исследования проводят в аллогенной системе. В суспензию красных клеток крови Шафена, которую делают "чувствительной" при помощи антигена, вводят 0,1 мл суспензии лимфоцитов с плотностью клеток 10^6 мл. Величины цитотоксической способности определяют на основании проведенного после 16-часового инкубационного периода гемолиза, который измеряют на приборе Спекола при 540 нм. Размер реакции, отнесенный к контрольным препаратам, выражают в процентах

Как вытекает из данных таблиц, испытуемые соединения, в основном, не влияют на бластогенез лимфоцитов, однако они повышают эффективность клеточных иммунных реакций, применение их в иммуноиндуктивном отрезке ведет к 8–11%-ному повышению RCF-величин и 10–12%-ному повышению СТ-величин.

Данные о фармакологических результатах испытаний 7-амино-5-имино-2,3-дигидро-5Н-тиазоло(3,2-а)пиримидингидробромида следующие.

Стимуллирующее действие различных доз соединения I на иммунитет вирусных вакцин IBR, Merck, New Casfle, далее Boven

adeno и Toga (BVD) испытывалось частично в модельных опытах на мышах, частично в модельных опытах на курочках. У подопытных животных отбирали в указанные в таблицах сроки пробы крови, и определяли реакции ин витро отделенных лимфоцитов (L, ST, RCF, CT, PHA), а также концентрацию обнаруживаемых в сыворотке крови антител (VП, HA).

Полученные с вакцинами IBR (Boviphyl–IBR), Bivalenter Bavinetdenovirus, а также Vedevac hST RCF- и CT-значения указаны в табл.3.

Результаты, касающиеся вакцин Mavek, Phylavac (против куриной мумы), представлены в табл.4.

Соединение примера 2 имеет LD_{50} 20000 мг/кг (суспензия в карбоксиметилцеллюлозе).

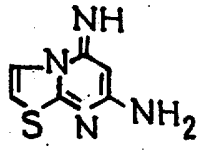
Сравнение иммуностимулирующей активности соединений, получаемых по изобретению (соединение примера 2), и известного соединения 6-(п-хлорбензил)-2,3,6,7-тетрагидро-5Н-тиазоло(3,2-а)пиримидин-5,7-диона на мышах, крупном рогатом скоте, свиньях и домашней птице показывает, что соединение примера 2 оказывает положительное действие на иммуноответ, который может быть вызван с помощью вакцины B_{19}, а также различных вирусных вакцин (вакцины Аужешки, вакцины BP, аденовакцины, вакцины Нью Кастль). Их стимулирующее действие проявляется главным образом при выработке иммуноответа на клеточном уровне, что выражается в значительно более высоких значениях титров, получаемых в процессе исследований in vitro на клеточном уровне (цитотоксические реакции, образование "иммунной розетки", испытание стимулирующего действия лимфоцитов), которые проводят на лимфоцитах иммунизированных животных, взятых в различное время, но при этом имеется также возможность с помощью этого соединения параллельно (вероятно, косвенным путем) повысить также гуморальный иммуноответ, что проявляется в появлении антител более высокого титра, нейтрализующих или агглютинирующих вирусы.

Известное соединение обладает способностью регулировать функции Т-клеток и восстановления активности субпопуляции супрессоров Т-клеток. В отношении определенных антигенов оно способно усиливать так называемую гиперсенситивную реакцию более позднего типа. В результате это соединение может быть применено при лечении определенных аутоиммунных заболеваний, например ревматоидного артрирта или системной красной волчанки.

Действие соединения примера 2 проявляется в том, что оно повышает активность лимфоцитов Т-подавителей и других так называемых лимфоидных К-клеток, благодаря чему достигается клеточная защищенность более высокого уровня и косвенным путем улучшается формирование гуморального иммуноответа. В соответствии с указанным это соединение может быть успешно использовано для повышения эффективности некоторых вирусных вакцин, обладающих слабым иммуногенным действием (например, вакцин вируса лишая, вакцин аденовируса, вирусных вакцин Нью Кастль).

Формула изобретения

Способ получения 7-амино-5-имино-2,3-дигидро-5Н-тиазоло[3,2-а]пиримидина формулы



или его фармацевтически приемлемых кислотно-аддитивных солей, или гидратов, о т л и ч а ю щ и й с я тем, что 2-аминотиазолин подвергают взаимодействию с динитрилом малоновой кислоты с последующим выделением целевого продукта в виде основания или соли, или гидрата, или переведением соли в основание.

Таблица 1

Вакцина	Число животных	RCF	CT
Ay. Att	80	6–20/4–12	18–8/8–6
Ay. Inakt	80	3–17/3–9	7–16/6–8
Ay. att	50	5–15/5–10	8–5/7–4
Ay. att	50	7–21/5–11	18–10/7–4
B_{19}	160	12–23/6–12	21–6/9–6
Ay. att	50	4–20/3–10	14–6/6–4

Таблица 2

Вакцина	Число животных	RCF	CT
Ослабленная	10	14-24/6-14	18-13/5-11
Неактивная	10	5-26/4-15	5-21/4-11

Таблица 3

Вакцина	Группа	Число мышей	Доза соединения, мг/мышь	LST	RCF	CT				
						Недели				
						1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
IBR инактивировано (0,2 мл/мышь)	а	50	0,1	7-20	5-17	5	4	4	1	3
	б	50	0,5	6-26	11-26	4	6	18	6	2
	в	50	-	8-16	5-15	0	0	5	3	1
Et deno инактивировано (0,2 мл/мышь)	а	50	0,1	5-17	6-16	1	1	3	14	0
	б	50	0,5	7-26	9-23	2	6	8	3	0
	в	50	-	9-16	5-16	0	0	3	7	0
						1-я	2-я	4-я	8-я	12-я
Véde vac attenuiert (0,2 мл/мышь)	а	50	0,5	6-21	9-19	1	9	8	7	0
	б	50	0,5	9-27	11-26	4	9	9	11	2
	в	50	-	6-17	5-18	1	3	3	1	0

Примечание. Значения LST и RCF отличаются в результатах, полученных в первую и пятую недели.

Таблица 4

Вакцина	Группа	Число курочек	Доза соединения, мг	LST	RCF	CT				
						Недели				
						1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
Mavek	а	50	1	3-16	4-17	0	0	6	0	2
	б	50	3	5-22	5-25	0	5	27	10	1
	в	50	-	2-14	4-15	0	0	9	1	4
Phylavac	а	50	1	5-19	3-18	0	0	9	9	1
	б	50	3	5-23	5-25	0	1	11	11	3
	в	50	-	4-15	2-15	0	3	3	2	1

Составитель А.Орлов
Редактор И.Горная Техред М.Моргентал Корректор О.Кундрик

Заказ 2406 Тираж Подписное
ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул.Гагарина, 101