

(19) DANMARK



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP

(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT

(11) 159855 B



(21) Patentansøgning nr.: 3715/84

(51) Int.Cl.⁵ C 07 H 19/167
C 07 H 19/20

(22) Indleveringsdag: 31 jul 1984

(41) Alm. tilgængelig: 02 feb 1985

(44) Fremlagt: 17 dec 1990

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 01 aug 1983 US 519284 22 jun 1984 US 621943

(71) Ansøger: *WARNER-LAMBERT COMPANY; 201 Tabor Road; Morris Plains; New Jersey, US

(72) Opfinder: James A. *Bristol; US, Walter H. *Moos; US, Bharat *Trivedi; US

(74) Fuldmægtig: Internationalt Patent-Bureau

(54) N⁶-Substituerede adenosiner samt farmaceutiske præparater indeholdende disse

(56) Fremdragne publikationer

DE off. g. skrift nr. 2406587

US pat. nr. 3590029

Andre publikationer. Arzneim.-Forsch. (Drug. Res.) 25, nr.

3 (1975), side 407-409.

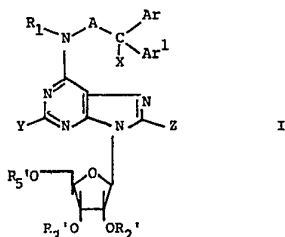
Journal of Medicinal Chemistry, 25, nr.

3 (1982), side 197-207.

(57) Sammendrag:

3715-84

N⁶-Substituerede diarylalkyladenosiner med formlen:



eller farmaceutisk acceptable additionssalte deraf, hvor R₁ er H eller alkyl, Ar og Ar¹ hver er eventuelt substitueret phenyl, 2-, 3- eller 4-pyridyl, 2- eller 3-thienyl eller -furanyl, A er alkylen eventuelt afbrudt af O, S eller NH, X er H, OH, alkyl, carbalkoxy eller alkanoyl-

oxy, Y er H, halogen, -NR₂R₃, -OR₂ eller -SR₂, hvor R₂ og R₃ er H, alkyl eller phenylalkyl, Z er H eller halogen, R₂', R₃' og R₅' hver er H, eventuelt substitueret alkanoyl, eller R₂' og R₃' kan tilsammen være en 5-leddet alkylidenring, og R₅' er en fosfatgruppe.

Forbindelserne indvirker på centralnervesystemet og har cardiovasculære egenskaber.

DK 159855 B

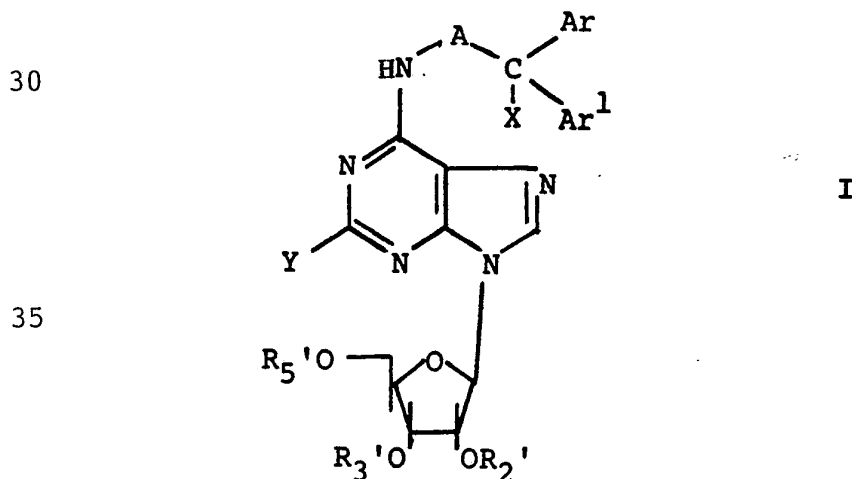
Opfindelsen angår hidtil ukendte N⁶-substituerede adenosiner med den almene formel I, som defineret i krav 1's kendetegnende del, eller farmaceutisk acceptable additionssalte deraf. Endvidere angår opfindelsen farmaceutiske præparater indeholdende en terapeutisk effektiv mængde af de omhandlede forbindelser sammen med en farmaceutisk acceptabel bærer.

US patentskrift nr. 3.590.029 omtaler en række 2-amino-N⁶-adenosiner, blandt hvilke der i den foreliggende sammenhæng kan fremhæves forbindelsen N⁶-benzhydryl-2-amino-adenosin, også betegnet N⁶-diphenylmethyladenosin.

Tysk patentskrift nr. 2.406.587 omtaler N⁶-diphenylalkyl-adenosiner som hypolipæmiske midler, blandt hvilke forbindelser der i den foreliggende sammenhæng navnlig kan fremhæves forbindelserne N⁶-[1,1'-(diphenyl)isopropyl]-adenosin og N⁶-diphenylmethyladenosin.

Endvidere er det kendt, jvf. Arzneim.-Forsch. (Drug Res.), 25, nr. 3 (1975), side 407-409, og Journal of Medicinal Chemistry, 25, nr. 3 (1982), side 197-207, at visse monophenyl-alkylsubstituerede N⁶-adenosiner, såsom N⁶-phenylisopropyl-adenosin, har et gunstigt affinitetsforhold ved A₁- og A₂-receptorer og har cardiovasculære aktiviteter og ønskede indvirkninger på centralnervesystemet.

De hidtil ukendte N⁶-substituerede adenosiner ifølge den foreliggende opfindelse er ejendommelige ved, at de har den almene formel I



eller er farmaceutisk acceptable additionssalte deraf,
hvor

Ar og Ar¹ hver uafhængigt er phenyl, som eventuelt er
substitueret med halogen, lavere alkoxy, lavere alkyl
5 eller nitro,

A er ligekædet alkylen med 1-8 C-atomer,

X er hydrogen, hydroxy, lavere alkyl eller lavere carbalkoxy,

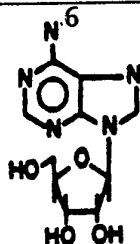
Y er hydrogen, halogen eller amino, og

10 R₂', R₃' og R₅' hver uafhængigt er hydrogen, alkanoyl med 2-12 C-atomer i lige eller forgrenet alkylkæde eller benzoyl, hvorhos R₂' og R₃' også kan være indbyrdes forbundet til dannelse af en fem-leddet ring med ialt op til 20 C-atomer, og R₅' også kan være (PO₄⁻⁻⁻)^{1/3}.

15 Sammenlignet med de ovenfor omtalte kendte N⁶-substituerede adenosiner udmærker forbindelserne ifølge den foreliggende opfindelse sig ved en gunstigere kombination af lave IC₅₀-værdier for A₁- og A₂-receptoraffinitet med et ønsket lavt A₂/A₁-forhold for disse værdier. Endvidere
20 har forbindelserne ønskelige indvirkninger på centralnervesystemet og cardiovasculære aktiviteter, såsom analgetiske, antipsykotiske, sedative, antihypertensive og antianginale aktiviteter.

Til illustration af de omhandlede, forbindelsers
25 gunstige kombination af lave IC₅₀-værdier for A₁- og A₂-receptoraffinitet med lavt A₂/A₁-forhold for disse værdier kan anføres følgende IC₅₀-værdier og forhold for en række homologe N⁶-aralkyl-adenosiner:

3

Homologe N⁶-Aralkyl-adenosiner

5

Receptorbinding

	N ⁶	IC ₅₀ (nM)		Forhold
		A ₁	A _{2α}	A _{2α} /A ₁
10		211	422	1,99
		9,67	676	69,9
15		333	9403	28
20		22	238	10,6
		2,07	184	89,1
25		86,9	2692	30,8
		12,1	36,6	3,0
30	(CI-936) 	66	44,5	0,68
35		28	480	16
		846	5650	6,7

Den ovenstående tabel viser klart, at den bedste kombination af lave IC_{50} -værdier og lavt A_2/A_1 -forhold opnås med forbindelsen ifølge den foreliggende opfindelse (CI-936), der ved N^6 udviser to phenylsubstituent

5 og en uforgrenet alkylenkæde mellem disse og NH-gruppen.

I forbindelserne med formlen I skal der ved angivelsen "lavere alkyl" forstås en ligekædet eller forgrenet alkylgruppe med 1-6 C-atomer, såsom methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, sek.butyl, isobutyl, tert.butyl, amyl, isoamyl, neopentyl eller hexyl.

10

Halogen omfatter navnlig fluor, chlor eller brom.

Lavere alkoxy er O-alkyl med 1-6 C-atomer som ovenfor defineret for "lavere alkyl".

Lavere carbalkoxy er en ligekædet eller forgrenet $\text{C}(=\text{O})\text{-O-alkyl}$ gruppe med 1-6 C-atomer i alkylkæden, som ovenfor defineret.

15

Forbindelserne med formlen I er anvendelige både i fri baseform og i form af syreadditionssalte. Begge former ligger inden for opfindelsens område. I praksis svarer anvendelse af saltformen til anvendelse af baseformen. Egnede farmaceutisk acceptable salte inden for opfindelsens område er dem, der er afledt af mineralsyrer, såsom saltsyre og svovlsyre, og organiske syrer, såsom ethansulfonsyre, benzensulfonsyre eller p-toluensulfonsyre, hvorved dannes henholdsvis hydrochloridet, sulfamatet, ethansulfonatet, benzensulfonatet eller p-toluensulfonatet.

20

25

Syreadditionssaltene af nævnte basiske forbindelser fremstilles enten ved at opløse den frie base i vandig eller vandig-alkoholisk opløsning eller andre egnede opløsningsmidler indeholdende den ønskede syre og isolere saltet ved inddampning af opløsningen, eller ved at omsætte den frie base og syre i et organisk opløsningsmiddel, i hvilket tilfælde saltet udskiller direkte eller kan vindes ved koncentreret af opløsningen.

30

35

Forbindelserne ifølge opfindelsen kan indeholde et asymmetrisk carbonatom ved det carbonatom, der forbinder grupper A, Ar, Ar¹ og X, når Ar og Ar¹ er forskellige. Opfindelsen opfatter de individuelle enantiomere, den

5 rene S-, den rene R-isomere og blandinger deraf. De individuelle enantiomere kan fremstilles eller isoleres ved i og for sig kendte metoder.

En foretrukket udførelsesform for den foreliggende opfindelse omfatter en forbindelse med formlen I, hvor

10 X er hydrogen eller methyl, R₂' og R₃' er hydrogen, acetyl, benzoyl eller tilsammen danner isopropyliden, og R₅' er hydrogen eller (PO₄⁻⁻⁻)_{1/3}, og Y, Ar og Ar¹ er som ovenfor defineret.

En anden foretrukket udførelsesform for den fore-

15 liggende opfindelse er en forbindelse med formlen I, hvor R₂', R₃', R₅' og X er hydrogen, og A, Y, Ar og Ar¹ er som ovenfor defineret, idet A fortrinsvis er ligekædet alkylen med 1-4 C-atomer, navnlig methylen, og Ar og Ar¹ fortrinsvis er phenyl.

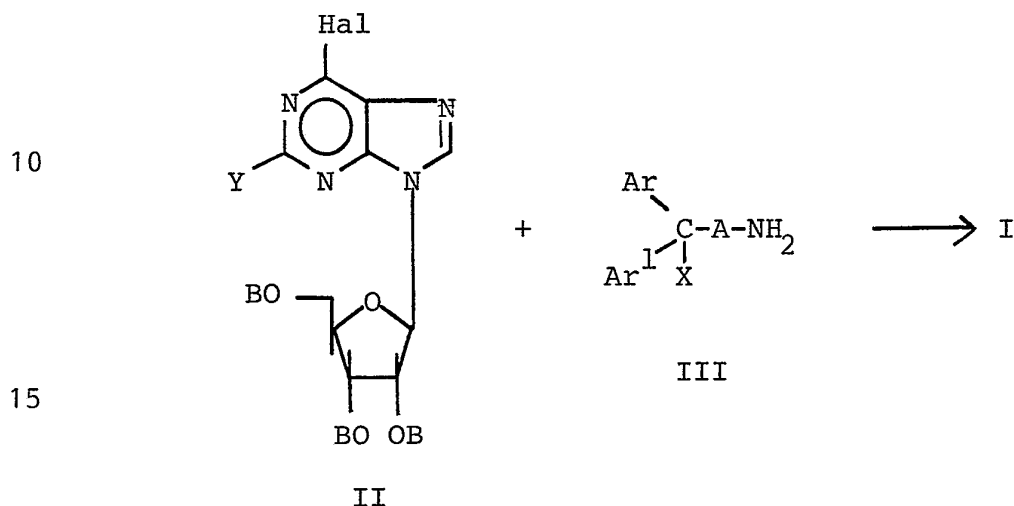
20 Særlige udførelsesformer omfatter N⁶-(2,2-diphenylethyl)adenosin, N⁶-(2,2-diphenylethyl)-2-chloradenosin, N⁶-(2,2-diphenylethyl)-2-aminoadenosin, N⁶-(2,2-diphenylpropyl)adenosin og N⁶-(3,3-diphenylpropyl)adenosin.

Forbindelserne med formlen I kan hensigtsmæssigt

25 syntetiseres ved at omsætte et 6-halogenpurin-ribosid med formlen II med den pågældende diarylalkylamin med formlen III i et indifferent opløsningsmiddel, såsom alkohol, eller et aprotisk opløsningsmiddel, såsom dimethylformamid, mellem ca. 25 og ca. 130°C i 1-48 timer.

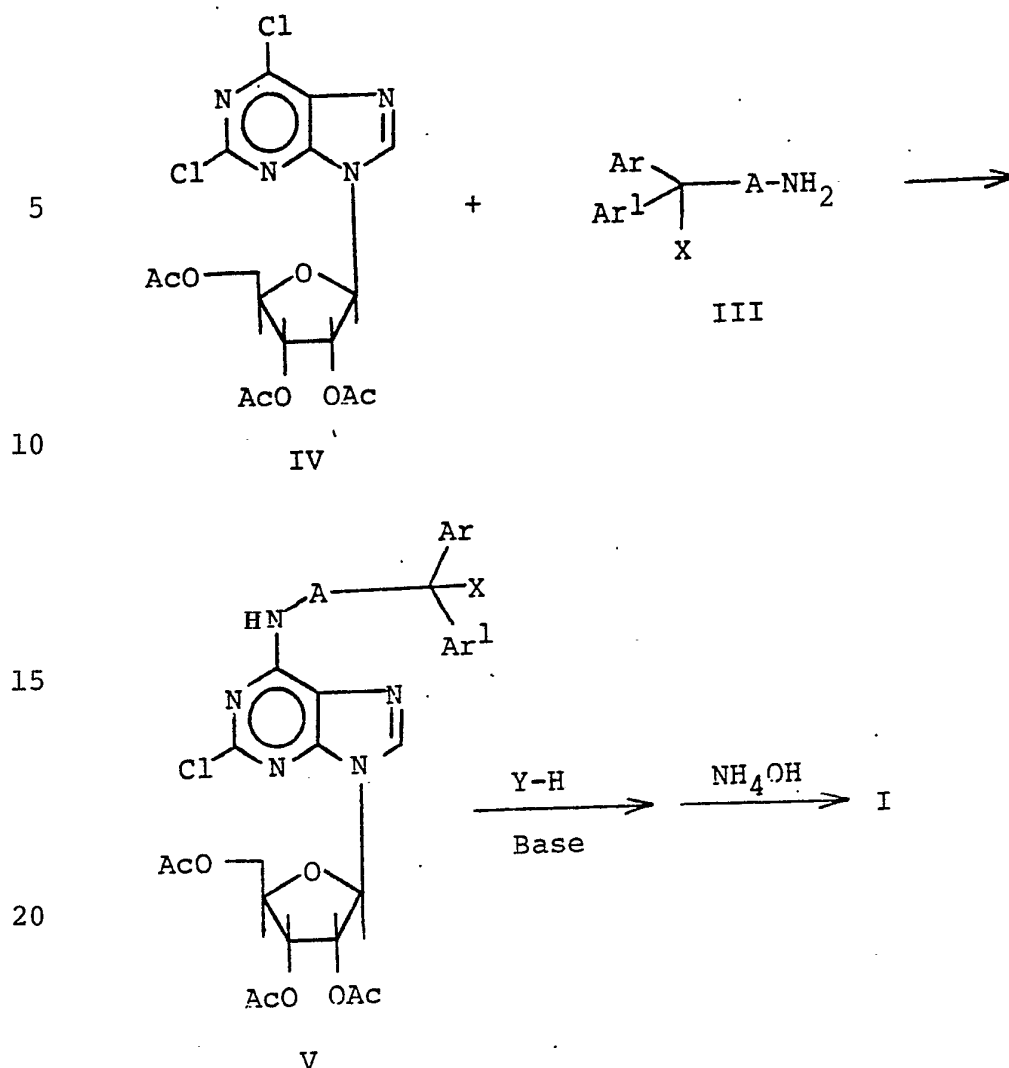
30 Det er hensigtsmæssigt at tilsætte en base, såsom triethylamin eller calciumcarbonat, for at neutralisere det som biprodukt ved reaktionen dannede hydrogenhalogenid, men dette kan også ske ved at anvende et ekstra

ækvivalent af arylalkylaminen. Det er også hensigtsmæssigt, men ikke nødvendigt, at beskytte ribofuranosehydroxylgrupperne som acetat- eller benzoat-estre, der kan fjernes med ammoniumhydroxid eller natriummethoxid efter syntesen af den N⁶-substituerede adenosin. Reaktionen er illustreret nedenfor:



hvor B er H, acetyl eller benzoyl, Hal er halogen, fortrinsvis chlor eller brom, og Y, Ar, Ar¹, X og A er som defineret for formlen I.

Endvidere kan forbindelser med formlen I, hvor Y er amino, også fremstilles ud fra 2,6-dichlorpurin-ribosid-triacetat med formlen IV ved en trinvis metode, ved først at omsætte en forbindelse med formlen IV med den pågældende diphenylalkylamin med formlen III til dannelse af en forbindelse med formlen V, hvorefter chloratomet ved C₂ erstattes med Y-aminogruppen ved anvendelse af nucleofile deplaceringsbetingelser, og acetat-beskyttelsesgrupperne fjernes, som nedenfor illustreret:



25 Forbindelserne med formelen I har som nævnt vist sig at have afvigende affiniteter for adenosin-receptorer (betegnet A_1 - og A_2 -receptorer). Forbindelserne er aktive ved dyreforsøg, der forudsiger neuroleptisk aktivitet til behandling af alvorligere psykoser, såsom schizofreni.

30 Forbindelserne ifølge opfindelsen har også sedative/hypnotiske egenskaber og er derfor anvendelige til behandling af søvnforstyrrelser. De omhandlede forbindelser har også analgetiske egenskaber og er på dette grundlag anvendelige til behandling af smerte.

35 Endvidere er forbindelserne ifølge opfindelsen anvendelige som antihypertensive midler til behandling af højt blodtryk. De forøger også coronarblodstrøm og er derfor anvendelige ved behandling af angina og myocardial ischaemi.

Farmakologisk vurderingAdenosin-receptorbinding - A₁-receptoraffinitet (RBA1)Fremstilling af membraner

Hel hjerne minus cerebellum og hjernestamme fra
5 Long Evans hanrotter (150-200 g) blev homogeniseret i 30
volumen iskold 0,05M Tris-HCl-puffer pH 7,7 under anven-
delse af en Brinkman Polytron PT-10 (indstillingsnummer 6
for 20 sekunder) og centrifugeret i 10 minutter ved
20.000 x g (Sorvall RC-2), 4°C. Overstanden blev bortka-
10 stet, og den vundne pellet blev gensuspenderet og cen-
trifugeret som ovenfor. Den vundne pellet blev gensuspen-
deret i 20 ml Tris-HCl-puffer indeholdende to Internatio-
nale Enheder /ml af adenosin-deaminase (Sigma type III
fra kalvetarm-mucosa), inkuberet ved 37°C i 30 minutter
15 og derefter ved 0°C i 10 minutter. Homogenatet blev igen
centrifugeret, og den endelige pellet blev gensuspenderet
i iskold 0,05M Tris-HCl-puffer pH 7,7 til en koncentration
på 20 mg/ml oprindelig våd vævsvægt og straks anvendt.

20 Prøvebetingelser

Vævshomogenat (10 mg/ml) blev inkuberet i 0,05M
Tris-HCl-puffer pH 7,7 indeholdende 1,0 nM [³H]-N⁶-cyclo-
hexyladenosin ([³H]-CHA) med eller uden testmidler in-
triplo i én time ved 25°C. Inkubationsvolumen var 2 ml.
25 Ikke-bundet [³H]-CHA blev fraskilt ved hurtig filtrering
ved reduceret tryk gennem Whatman-glasfiber (GF/B)-filtre.
Filtrene blev skyllet tre gange med 5 ml iskold 0,05M
Tris-HCl-puffer pH 7,7. Den på filtret tilbageholdte
radio-mærkede ligand målt ved væske-scintillations-
30 spektrofotometri efter rystning af filtrene i én time
eller længere på en mekanisk ryster i 10 ml Beckman Ready
-Solv HP-scintillationscocktail.

Beregninger

Ikke-specifik binding blev defineret som den binding, der forekom i nærværelse af 1 mM theophyllin. Den koncentration af testmidlet, der inhiberede 50% af den specifikke binding (IC_{50}), blev bestemt ved ikke-lineær computerkurvetilpasning. Scatchard-plottet blev beregnet ved lineær regression af den linie, der blev opnået ved at optegne mængden af bundet radioligand (pmol/g væv) versus $[\frac{\text{bundet radioligand}}{\text{fri radioligand}}]$. Da mængden af bundet radioligand var en lille fraktion af den totale tilsatte mængde, blev fri radioligand defineret som koncentrationen (nM) af radioligand tilsat til inkubationsblandingen. Hill-koefficienten blev beregnet ved lineær regression af den linie, der blev opnået ved at optegne log af bundet radioligand versus log af $[\frac{\text{bundet radioligand}}{B_{\max} - \text{bundet radioligand}}]$.

Det maksimale antal bindingssteder ($B_{\max}$) blev beregnet ud fra Scatchard-plottet.

Adenosin-receptorbinding - A_2 -Receptoraffinitet (RBA2)
Vævs-fremstilling

Hjerner fra Sprague-Dawley-rotter af begge køn og med en vægt på 200-500 g blev indkøbt fra Pel-Freez (Rogers, Arkansas). Friske hjerner fra Long Evans han-rotter, hvide med sort hoved (Blue Spruce Farms, Altamont, NY) gav i det væsentlige identiske resultater. Hjerner blev optøet og derefter holdt på is, mens striata blev uddissekeret. Striata blev opsplittet i 10 vol iskold 50 nM Tris-HCl (pH 7,7 ved 25°C, pH 8,26 ved 5°C) (Tris) i 30 sekunder i en Polytron PT-10 (Brinkmann) ved indstilling 5. Suspensionen blev centrifugeret ved 50.000 x g i ti minutter, overstanden blev bortkastet, den vundne pellet blev gensuspenderet i 10 vol iskold Tris som ovenfor, gencentrifugeret, gensuspenderet ved 1 g/5 ml og lagret i formstof-medicinflasker ved -70°C (stabilt i mindst seks måneder). Efter behov blev væv

optøet ved stuetemperatur, opsplittet i en Polytron og holdt på is indtil anvendelse.

Inkubationsbetingelser

5 Alle inkubationer foregik i 60 minutter ved 25°C i 12 x 75 mm glasrør indeholdende 1 ml Tris med 5 mg oprindelig vævsvægt af rotte-striatalmembraner, 4 nM [³H]-N-ethyladenosin-5'-carboxamid ([³H]NECA), 50 nM N⁶-cyclopentyladenosin (for at eliminere A₁-receptorbinding), 10
10 mM MgCl₂, 0,1 enheder/ml af adenosin-deaminase og 1% dimethylsulfoxid. N⁶-Cyclopentyladenosin blev opløst ved 10 mM i 0,02N HCl og fortyndet i Tris. Lageropløsninger og fortyndinger af N⁶-cyclopentyladenosin kunne lagres ved -20°C i flere måneder. Testforbindelser blev opløst
15 ved 10 mM i dimethylsulfoxid på samme dag som forsøget og fortyndet i dimethylsulfoxid til 100 x den endelige inkubations-koncentration. Kontrol-inkubationer fik samme volumen (10 µl) dimethylsulfoxid. Den resulterende koncentration af dimethylsulfoxid havde ingen indvirkning på
20 binding. [³H]NECA blev fortyndet til 40 nM i Tris. Membransuspensionen (5 mg/0,79 ml) indeholdt tilstrækkeligt MgCl₂ og adenosin-deaminase til at give henholdsvis 10 mM og 0,1 enhed/ml slutkoncentration i inkubationen. For testforbindelser med IC₅₀-værdier mindre end 1 µM var
25 tilsætningsrækkefølgen testforbindelse (10 µl), N⁶-cyclopentyladenosin (100 µl), [³H]NECA (100 µl) og membraner (0,79 ml). For testforbindelser med IC₅₀-værdier større end 1 µM og begrænset vandopløselighed var tilsætningsrækkefølgen (samme volumener) testforbindelse, membraner,
30 N⁶-cyclopentyladenosin og [³H]NECA. Efter alle tilsætninger blev rørstativet udsat for en hvirvlende bevægelse, og rørene blev derefter inkuberet i 60 minutter ved 25°C i et vandrystebad. Rørstativet blev udsat for en hvirvlende bevægelse endnu en gang halvvejs gennem inkubatio-
35 nen.

Inkubationer blev afsluttet ved filtrering gennem 2,4 cm GF/B-filtre ved reduceret tryk. Hvert rør blev

filtreret som følger: Rørets indhold blev hældt på filtret, 4 ml iskold Tris blev tilsat til røret, og indholdet blev hældt på filtret, og filtret blev vasket to gange med 4 ml iskold Tris. Filtreringen var færdig i løbet af ca. 12 sekunder. Filtre blev indført i scintillations-medicinflasker, 8 ml Formula 947 scintillations-væske blev tilsat, og flaskerne blev henstillet natten over, rystet og talt i en væskescintillationstæller ved 40% effektivitet.

10

Data-analyse

Ikke-specifik binding blev defineret som binding i nærværelse af 100 μM N^6 -cyclopentyladenosin, og specifik binding blev defineret som total binding minus ikke-specifik binding. IC_{50} blev beregnet ved vægtet ikke-lineær kurvetilpasning efter mindste-kvadrater til massevirkningsligningen.

$$Y = T - S \cdot \frac{D}{D + K}$$

20

hvor: Y er cpm bundet

T er cpm total binding uden lægemiddel

S er cpm specifik binding uden lægemiddel

D er koncentrationen af lægemiddel

25 K er IC_{50} for lægemidlet.

Vægtede faktorer blev beregnet under den forudsætning, at standardafvigelsen var proportional med forventningsværdien af Y. Ikke-specifik binding blev behandlet som en meget stor (uendelig) koncentration af lægemiddel i computer-analysen.

30 IC_{50} -Værdierne (nM) for adenosin A_1 - og A_2 -receptoraffinitet er anført i tabellen.

35

Antipsykotisk vurdering

Forbindelserne ifølge opfindelsen er hidtil ukendte kemiske forbindelser, der er anvendelige som farmaceutiske midler ved behandling af psykoser. Den antipsykotiske aktivitet af repræsentative forbindelser ifølge opfindelsen blev påvist ved Muse-aktivitets- og Screen-test-metoden (MAST) beskrevet nedenfor.

Dyr

10 Ni ikke-fastede Swiss-Webster hanmus med en vægt på 20-30 g blev opdelt i tre lige store grupper for hver lægemiddeldosis, der skulle testes. Det vil sige, at data for hvert dosisniveau blev produceret af tre separate grupper hver på tre mus.

15

Lægemidler

Et minimum på tre dosisniveauer (10, 30 og 100 mg/kg) blev testet for hvert lægemiddel. Behandlinger foregik intraperitonealt én time før testning. Alle doser blev beregnet som stamforbindelse og givet i voluminer på 10 ml/kg. Forbindelser blev opløst eller suspenderet i 0,2% Methocel. Kontrol dyr fik injektion med Methocel.

Testning

25 En testnings-metode i to dele blev startet én time postinjektion. Først udførtes screentesten (ST) (se Pharmac.Biochem.Behav. 6, 351-353, 1977). Denne test består kort i at anbringe mus på individuelle trådgitter, der derefter roteres 180 grader ved starten af en 60 sekunders observationsperiode. Antallet af mus, der falder af det omvendte gitter, registreres.

Straks efter screentesten indledes testningens slutfase ved at anbringe hver gruppe på tre mus i ét actofotometer (Life Sciences, 22, 1067-1076, 1978). Actofotometeret består af et cylindrisk kammer, hvis midte er optaget af en anden cylinder, der indeholder belysnin-

gen for seks fotoceller anbragt på kammerets perimeter. Seks lysstråle-afbrydelser svarer til én tælling. Locomotorisk aktivitet registreres med computer med intervaller på 10 minutter i 60 minutter.

5

Data

De fra screentesten opnåede data blev udtrykt som procent af mus, der faldt fra gitteret. Data stammende fra locomotorisk aktivitet af lægemiddel-behandlede mus blev sammenlignet med aktiviteten af vehikel-behandlede dyr og udtrykt som procent hæmning af spontan locomotion. Alle procenter, der blev rapporteret for hæmning af locomotion (LI), er baseret på data opsamlet i én time. Begge testningsfaser har følgende klassificering:

15 A = 60-100%, C = 31-59% og N = 0-30%. En samlet dosis-klassificering er opnået efter følgende kriterier:

	Hæmning af locomotion, klassificering	med	Screentest-svigt, klassificering	=	Dosis-klassificering
20	A	-	N eller C	=	A
	A	-	A	=	C
	C		N eller C	=	C
	Alle andre kombinationer			=	N

25

LAD refererer til den laveste dosis, ved hvilken en A-klassificering opnås. Forbindelser, der udviser en samlet dosis-klassificering på A ved en dosis på 100 milligram/kilogram eller mindre, betragtes som aktive. Ved anvendelse af denne metode blev en samlet dosis-klassificering på A opnået for den anførte forbindelse ved den anførte dosis. Forbindelserne er identificeret i eksemplerne.

30

	Eksempel	Dosis (mg/kg)	Hæmning af loco- motorisk aktivi- tet hos mus	Hæmning af screentest- svigt
5	1	10	92%	11%
		30	93%	22%
		100	94%	44%
10	2	10	-9%	0%
		30	13%	0%
		100	60%	0%
15	3	10	56%	0%
		30	85%	11%
		100	92%	44%
20	4	10	64%	0%
		30	87%	11%
		100	95%	22%

Repræsentative forbindelser ifølge opfindelsen
 20 (identificeret i eksemplerne) blev også testet for anti-
 psykotisk aktivitet efter følgende protokol (SIDR). Den
 anførte forbindelse har de anførte ED₅₀-værdier (mg/kg)
 og betragtes som aktiv som et antipsykotisk middel ved
 test-metoden.

25

Metode

Modne Long-Evans hanrotter eller dødningehoved-
 aber blev konditioneret til at trykke på en løftestang
 for at undgå et smertefuldt elektrisk fodchok. Hvis dy-
 30 ret undlader at trykke på løftestangen, får det et chok
 hver 10 sekunder, indtil der trykkes på stangen. Chok
 kan afsluttes ved at trykke på stangen. Derefter vil der
 ikke forekomme noget chok, så længe stangen trykkes
 mindst én gang hver 20 sekunder.

35 Hvert dyr fungerer som sin egen kontrol. Én ugent-
 lig session anvendes til at etablere en basislinie-ad-
 færd, og en anden session senere i ugen anvendes som en

- forbundet til et trocar, indført gennem psoas-musklen, og ledt subcutant langs midtlinien af ryggen og bragt ud mellem ørerne. Kanylerne blev forankret til psoas-musklen og mellem scalulae (3-0 grønfløttet sutur). Midtlinie-
- 5 snittet blev lukket i to trin (først muskel, derefter hud) under anvendelse af kontinuerede over- og -over-suturer (4-0 kronisk). Hver rotte fik derefter penicillin 30.000 enheder subcutant (steril suspension af penicillin G-procain).
- 10 Rotterne blev udstyret med et fjeder-bøjle-system beregnet til at beskytte kanylen og give rotten relativ bevægelsesfrihed. Seletøjet var fabrikeret af hægte-og-øskens-nylonbånd bundet til en metalplade, hvortil fjedertråde (18-8 rustfrit stål) var forbundet ved messingbøj-
- 15 ler. Hver polyethylenkanylen var ledt gennem en fjeder og gennem en bøjle forbundet til en tryk-transduktor (Model P23Gb, Statham Instruments, Hato Rey, Puerto Rico) og en infusionspumpe (sage-model 234-7, Orion Research, Cambridge, MA) ved hjælp af PE100-rør. Under testning fik
- 20 hver rotte en kontinueret langsom infusion af hepariniseret saltopløsning (ca. 400 µl eller 40 enheder heparin pr. 24 timers periode) for at hindre blodprotdannelse. Yderligere "skylninger" af kanylen med hepariniseret saltopløsning blev foretaget, når det aortiske pulstryk (systo-
- 25 lisk minus diastolisk) var mindre end 25 mm Hg.

CADCS

- Det pulsatile blodtryk og hjertehastighed hos hver af 32 rotter blev overvåget hvert minut ved hjælp af to
- 30 laboratorie-mikrocomputere, der kommunikerede direkte med en datakoncentratorcomputer. Data blev først lagret på datakoncentratorpladen og derefter overført til et magnetbånd til analyse og rapportfrembringelse ved hjælp af research-hovedcomputeren. Det samlede skema indebar modu-
- 35 lering af det primære signal fra tryktransduktoren, frembringelse af det primære datasæt af ét-minuts-værdierne for systolisk, diastolisk og middelblodtryk og hjerte-

hastighed ved hjælp af laboratorie-mikrocomputeren og lagring, analyse og rapportfrembringelse ved hjælp af research-hovedcomputeren.

Transduktorerne var forbundet til analogsignal-
 5 konditioneringsmoduler. Modulerne tilvejebragte en regu-
 leret excitationsspænding for transduktorerne, forstærk-
 ning som ønsket for grænsefladedannelse hos mikroproces-
 sorerne og et aktivt lavpassagefilter for at kompensere
 for den af den fleksible, væskefyldte, snævre kanyler
 10 frembragte forvrængning af trykbølgeformen. Forvrængnin-
 gen var 22-26 Hz, og dette gav en pålidelig vurdering af
 både systolisk og diastolisk blodtryk.

Mikrocomputerne (én til hver af to grupper på 16
 rotter) var forbundet til input-komponenterne gennem mo-
 15 dulgrænsefladeenhederne, en analog-til-digital-omformer
 for trykbølgeformsignalet og digital-input'ene for dosis-
 og begivenhedsmarkør-kontakterne. Mikrocomputeren styre-
 de den sekventielle modtagelse af data fra modulgrænse-
 fladeenhederne gennem en intern synkron-tid-på-dagen-ur/
 20 tidsbasisgenerator. Ved at anvende tidsbasisgeneratoren
 som reference blev der taget prøver af blodtrykværdierne
 og markørafbrydningsstatus for hver af de 32 stationer
 hver ti msek. Mikrocomputeren bearbejdede hver blodtryks-
 prøve, når den blev modtaget, for at frembringe "stadige
 25 gennemsnits"-værdier for hjertehastighed og middel-, sy-
 stoliske og diastoliske blodtryk.

Ved testning ved ovennævnte metode frembragte for-
 bindelserne ifølge eksemplerne 1 og 3 de følgende ændrin-
 ger i MAP og hjertehastighed.

30	Eksempel 1	mg/kg	Mμ.c.↓	HR↑
		1	16%	< 20%
		3	20%	< 20%
		10	20%	< 20%
35		30	35%	< 20%
	Eksempel 3	10	15%	< 20%

LAD refererer til den laveste testede dosis, ved hvilken der blev opnået en reduktion >10% i blodtryk for fire på hinanden følgende timer.

5 Coronar blodstrømning (PCS2A)

Metode

Hanrotter (400-600 g) blev forbehandlet med Na-heparin 2000 enheder og bedøvet med Na-pentobarbital (50 mg/kg) indgivet intraperitonealt. Efter at være bedøvet blev rottens hjerte hurtigt fjernet, den opadstigende aorta tilpasset til den aortiske perfusionskanyale og sikret med en ligatur. Coronar-arterierne blev indledningsvis perfuseret ved en hastighed på ca. 15 ml/min. i to til tre minutter, hvorefter de blev perfuseret ved konstant tryk på 70 mm Hg og en temperatur på 37°C. Elektrokardiogrammet (ECG) blev registreret under anvendelse af to platinelektroder anbragt ved bund og top af venstre ventrikel. Et andet hjerte blev fjernet, kanyleret og perfuseret på samme måde som ovenfor beskrevet. Begge hjerter blev testet parallelt. Den fysiologiske standardsaltopløsning (PSS) var en modificeret Krebs-Hanseleit-bicarbonatpuffer med følgende sammensætning i mM koncentration: NaCl: 127, NaHCO₃: 25, dextrose: 5,5, Na-pyruvat: 2,0, KCl: 4,7, MgSO₄: 1,1, KH₂PO₄: 1,2, CaCl₂·2H₂O: 2,5, CaNa₂EDTA: 0,05.

En 30 minutters stabiliseringsperiode blev observeret forud for start af testprotokollen.

30 Mikroprocessor-styret coronar perfusions- og lægemiddeltilførsels-system

Mikroprocessor-overvågningssystemet er en servomekanisme, der tillader, at coronar perfusionstryk (CPP) og lægemiddelkoncentration holdes konstante, uafhængige af ændringer i coronar strømning. Det niveau, ved hvilket CPP og lægemiddelkoncentration holdes, kan ændres ved ordrer kommunikeret gennem mikroprocessor-tastaturet. Dosis-respons-kurver frembringes ved at perfusere kon-

centreret lægemiddelopløsning (DC) ved hastigheder proportionale med total coronar strømning (CF_T). Lægemiddelkoncentrationer forøges ved afpassede forøgelse af hastigheden af DC-infusion over CF_T via mikroprocessor-tastaturet. De forholdsmæssige strømningshastigheder for DC: CF_T er ca. 0,0002:1 ved den lave ende og 0,02:1 ved den høje ende af dosis-respons-kurven. Dosis-responskurver omfattende mindst to log-doser gennemføres ved at fremstille to DC'er med en koncentrationsforskel på 1:100. Efter det første dosisområde med to log-doser afbrydes DC, proportional pumpehastighed indstilles, og dosis-respons-kurven fortsættes for yderligere to log-doser. Dosis-respons-standardkurven frembringes med dosisstigninger på en halv log startende ved en subtærskeldosis og afsluttende ved en dosis, der frembringer næsten maksimal respons i aktivitet. Reference-standardforbindelser testes over området fra 10^{-9} til $10^{-6}M$.

Målinger

Målinger gælder hjertehastighed (HR) og coronar strømning (CF). Enheder er: HR: slag/minut (bpm) og CF: milliliter/minut (ml/min.). HR beregnes ud fra ECG-strømmeldiagram-registrering, og CF beregnes ved at registrere analog-output fra pumper 1 og 2. Output fra pumpe Nr.1 = CF_T og output fra pumpe Nr.2 = CF for hjerte B (CF_B). CF for hjerte A (CF_A) beregnes ($CF_T - CF_B = CF_A$).

Ved anvendelse af ovennævnte teknik var virkningerne af forbindelsen ifølge eksemplerne 1 og 2 følgende:

Dosis (Molær)	<u>Eksempel 1</u>		<u>Eksempel 2</u>	
	<u>CF</u>	<u>HR</u>	<u>CF</u>	<u>HR</u>
1×10^{-9}	7%	1%		
3×10^{-9}	15%	3%		
1×10^{-8}	32%	-1%	26%	-2%
1×10^{-7}	43%	-13%	42%	-5%
1×10^{-6}	50%	-47%	47%	-19%
3×10^{-6}			48%	-34%

Analgetisk vurdering

Antivridnings(AW)-testen giver prælimerar vurdering af forbindelser med potentiel analgetisk aktivitet. Testen gennemföres på Swiss-Webster hammus. Forbindelser
5 indgives subcutant i vandig 0,2% methylcellulose eller andre egnede vehikler i voluminer på 10 ml/kg. Doser repræsenterer aktiv del.

Eddikesyre (0,6%, 10 ml/kg) injiceres intraperitonealt 20 minutter efter indgift af adenosin-agonisten.
10 Vridningsbevögelser tölles i fem minutter startende syv minutter efter eddikesyreinjektionen. Vridning defineres som abdominal konstriktion og strækning af kroppen og bagbenene med konkav krumning af ryggen. Data udtrykkes som ED₅₀-værdier, hvor ED₅₀ er den dosis, der er nödvendig for at undertrykke vridning med 50% i forhold til
15 vehikel-kontrolöyr. ED₅₀-værdier beregnes ved ikke-lineær regressionsanalyse.

De biologiske data er samlet i tabellen.

Den foreliggende opfindelse omfatter fölgelig også
20 en farmaceutisk komposition til behandling af psykoser, sövnforstyrrelser, smerte, hypertension eller angina indeholdende en tilsvarende antipsykotisk, sedativ, analgetisk, antihypertensiv eller antianginal, effektiv mængde af en forbindelse med formlen I som ovenfor defineret
25 neret sammen med en farmaceutisk acceptabel bærer.

Tabel

Eksempel	RBAl IC ₅₀ [nM]	RBAl IC ₅₀ [nM]	MAST LI LAD (mg/kg)	MAST ST LAD (mg/kg)	SIDR ED ₅₀ (mg/kg)	ANP3 BP LAD (mg/kg)	PCS2A HR EC ₅₀ [μM]	PCS2A CF EC ₅₀ [μM]	AW ED ₅₀ (mg/kg)
1	11	44	3	>100	2,5	1	2	1	6,9
2	139	390	100	>100		>30	6	3	
3	67	139	10	>100	9,6	10	>30	30	
4	89	275	10	>100	3,8	30	>0,1	1	
5	518	9520	100	>100		>30	>1	0,014	
6	147	3290	100	>100		>10	3	>3	
7	66	41	10	>100	5,6	10	3	<0,1	10,58
8	13	17	≤10	100					
9	14	71	3	>100	8,6	10	1,4	0,01	
10	69	210	30	>100		10	>3	0,05	
11	94	303	30	>100		10	>10	>10	
12	16	94	3	>100		10			
13			1	>100					
14	27	90	10	>100	12,7	10	>3	0,03	
15	223	319	100	>100		>10			

(fortsættes)

Age Group	Number of People
0-14	34
15-24	30
25-34	25
35-44	20
45-54	15
55-64	10
65-74	5
75-84	2
85+	1

Eksempel	RBA1 IC ₅₀ [nM]	RBA2 IC ₅₀ [nM]	MAST LI LAD (mg/kg)	MAST ST LAD (mg/kg)	SIDR ED ₅₀ (mg/kg)	AHP3 BP LAD (mg/kg)	PGS2A HR EC ₅₀ [μM]	PGS2A GF EC ₅₀ [μM]	AW ED ₅₀ (mg/kg)
16	512	713	100	>100			>3	>3	
17	1925	2120	>30	>30		>10			
18	21	56	10	30		10	>3	0,03	
19	229	559	100	>100		>10	>3	0,3	
20	285	470	30	>100		>10	>10	>10	
21	12	94	1	100		10	0,5	>1	
22	69	293	3	>100		>10	~1	>3	
23	79	4600	30	>30			3	>3	
24	53	166	3	>100	11,3	10	2,2	1	
25	1230	3840	10	>100		10			
26	30900	6820	30	>100					
27		~20	<3	>30					
28	242	919	30	>100		10			

Til fremstilling af farmaceutiske kompositioner ud fra de omhandlede forbindelser kan indifferente farmaceutisk acceptable bærere enten være faste eller flydende. Præparater i fast form omfatter pulvere, tabletter, dispergerbare granuler, kapsler, oblatkapsler og suppositorier. En fast bærer kan bestå af ét eller flere stoffer, der også kan fungere som fortyndingsmidler, smagsstoffer, opløselighedsfremmende midler, smøremidler, suspenderingsmidler, bindemidler eller tabletdisintegrationsmidler. Den kan også være et indkapslende materiale. I pulvere er bæreren et findelt fast stof, der foreligger i blanding med findelt aktiv forbindelse. I tabletter er den aktive forbindelse blandet med en bærer med de nødvendige bindemiddelegenskaber i passende blandingsforhold og komprimeret i ønsket form og størrelse. Pulvere og tabletter indeholder fortrinsvis fra 5 eller 10 til ca. 70% af den aktive bestanddel. Egnede faste bærere er magnesiumcarbonat, magnesiumstearat, talkum, sukker, lactose, pectin, dextrin, stivelse, gelatine, tragacanth, methylcellulose, natriumcarboxymethylcellulose, en lavt-smeltende voksart eller kakaosmør. Angivelsen "præparat" skal omfatte kompositioner af den aktive forbindelse med indkapslende materiale som bærer under tilvejebringelse af en kapsel, hvori den aktive komponent (med eller uden bærere) er omgivet af bærer, der på denne måde er kombineret med den. Tilsvarende er omfattet oblatkapsler. Tabletter, pulvere, oblatkapsler og kapsler kan anvendes som faste dosisformer egnede til oral anvendelse.

Til fremstilling af suppositorier bliver en lavt-smeltende voksart, såsom en blanding af fedtsyreglycerider eller kakaosmør, først smeltet, og den aktive bestanddel dispergeres homogent deri ved omrøring. Den
5 smeltede homogene blanding hældes derefter i forme af passende størrelse, henstilles til afkøling og dermed størkning.

Flydende præparatformer omfatter opløsninger, suspensioner og emulsioner. Som eksempel kan nævnes vand
10 eller vand/propylenglycol-opløsninger til parenteral injektion. Flydende præparater kan også tilvirkes som opløsning i vandig polyethylenglycolopløsning. Vandige opløsninger egnede til oral anvendelse kan fremstilles ved at opløse den aktive komponent i vand og tilsætte egnede
15 farvningsmidler, smagsstoffer, stabiliseringsmidler og fortykningsmidler, som ønsket. Vandige suspensioner egnede til oral anvendelse kan fremstilles ved at dispergere den findelte aktive komponent i vand med viskøst materiale, dvs. naturlige eller syntetiske gummiarter, harpikser, methylcellulose, natriumcarboxymethylcellulose
20 og andre velkendte suspenderingsmidler.

Også omfattet er præparater i fast form, der er beregnet til kort før brug at blive omdannet til præparater i flydende form til enten oral eller parenteral anvendelse.
25 Sådanne flydende former omfatter opløsninger, suspensioner og emulsioner. Disse særlige præparater i fast form foreligger hensigtsmæssigt i enhedsdosisform og anvendes som sådanne til at tilvejebringe en enkelt flydende dosisenhed. Alternativt kan der leveres tilstrækkeligt
30 fast stof til efter omdannelse til flydende form at få mange individuelle flydende doser ved opmåling af forud fastlagte voluminer af det væskeformige præparat, såsom med en sprøjte, en teske eller en anden målebeholder. Hvis der på denne måde fremstilles flere flydende doser,
35 foretrækkes det at holde den ikke benyttede del af de flydende doser ved lav temperatur (dvs. under afkøling) for at forhale eventuel dekomponering. De faste præparat-

former beregnet til at blive omdannet til flydende form kan foruden det aktive materiale indeholde f.eks. smagsstoffer, farvningsmidler, stabiliseringsmidler, puffere, syntetiske eller naturlige sødemidler, dispergeringsmidler, fortykningsmidler eller opløsningsfremmende midler.

Den til fremstilling af det væskeformige præparat anvendte væske kan f.eks. være vand, isotonisk vand, ethanol, glycerol eller propylenglycol samt blandinger deraf. Den anvendte væske vil blive valgt under hensyn til anvendelsesmåden, idet for eksempel flydende præparater indeholdende store mængder ethanol ikke er egnede til parenteral anvendelse.

Det farmaceutiske præparat foreligger fortrinsvis i enhedsdosisform. I sådan form bliver præparatet underopdelt i enhedsdoser indeholdende passende mængder af den aktive komponent. Enhedsdosisformen kan være et emballeret præparat, idet emballagen indeholder separate præparatmængder, for eksempel emballerede tabletter, kapsler, og pulvere i medicinflasker eller ampuller. Enhedsdosisformen kan også være en kapsel, oblatkapsel eller tablet i sig selv, eller den kan være det passende antal af enhver af disse i emballeret form.

Mængden af aktiv forbindelse i en enhedsdosis af præparatet kan varieres eller indstilles fra 1 mg til 500 mg, fortrinsvis 5-100 mg alt efter den foreliggende anvendelse og styrken af den aktive bestanddel. Kompositionerne kan, om ønsket, også indeholde andre kompatible terapeutiske midler.

Ved terapeutisk anvendelse som ovenfor beskrevet ligger dosisområdet til et pattedyr på 70 kg på fra 0,1 til 150 mg/kg legemsvægt pr.dag eller fortrinsvis 1 til 50 mg/kg legemsvægt pr.dag. Doserne kan imidlertid varieres alt efter patientens krav, den behandlede tilstands alvor og den anvendte forbindelse.

Bestemmelse af den rette dosis for en bestemt situation ligger inden for fagmandens viden. I almindelighed indledes behandling med mindre doser, der er mindre end

den optimale dosis af forbindelsen. Derefter forøges dosen med små stigninger, indtil den optimale effekt under de foreliggende omstændigheder er nået. Det kan være hensigtsmæssigt at opdele den totale daglige dosis og indgive den i portioner i dagens løb.

Opfindelsen beskrives nærmere gennem følgende eksempler.

Eksempel 1

10 N^6 -(2,2-Diphenylethyl)adenosin.

En opløsning af 6-chlor-9- β -D-ribofuranosylpurin (11,47 g, 0,04 mol) og 2,2-diphenylethylamin (19,73 g, 0,10 mol, 250 mol%) i absolut ethanol (300 ml) blev opvarmet ved tilbagesvaling under nitrogen med magnetisk omrøring i tre dage, i løbet af hvilket tidsrum udgangsmaterialet ifølge TLC-analyse (5/1 $CHCl_3$ /MeOH) blev forbrugt. Den afkølede reaktionsblanding blev inddampet i vakuum til et gummiagtigt skum, der blev opløst i ethylacetat. To portioner af krystaller vandtes og blev bortkastet. Filtratet blev fortyndet med hexan, den resulterende olie blev fraskilt, og det tilbageværende blev inddampet i vakuum til et hvidt skum. Hverken olien eller skummet krystalliserede godt af ethylacetat/hexan, ethylacetat alene eller ethanol/vand, men krystallisation af kombinationen af olie og skum to gange af methanol gav N^6 -(2,2-diphenylethyl)adenosin som et hvidt fast stof, smp. 106,5-115°C (efter omkrystallisation af methanol).

Analyse:

Beregnet for $C_{24}H_{25}N_5O_4 \cdot 0,3H_2O$:

30 C: 63,64, H: 5,71, N: 15,47, Cl: 0,00,
H₂O: 1,19

Fundet: C: 63,97, H: 5,48, N: 15,48, halogen (ialt):
0,00, H₂O (Karl Fisher): 1,44.

Eksempel 2

N⁶-(3,3-Diphenylpropyl)adenosin.

En opløsning af 6-chlor-9-β-D-ribofuranosylpurin (2,87 g, 0,010 mol) og 3,3-diphenylpropylamin (5,28 g, 0,025 mol, 250 mol%) i absolut ethanol (75 ml) blev opvarmet ved tilbagesvaling i 6 dage, i løbet af hvilket tidsrum udgangsmaterialet for størstedelen blev forbrugt ifølge TLC-analyse (5/1 CHCl₃/MeOH). Opløsningen blev afkølet til 5°C, og den resulterende første og anden portion af hvide krystaller blev samlet, hvorved vandtes N⁶-(3,3-diphenylpropyl)adenosin, smp. 103-118°C (af absolut ethanol).

Eksempel 3

N⁶-(2,2-Diphenylethyl)-2-chloradenosin.

En blanding af 2,75 g triacetyl-2,6-dichlor-9-(β-D-ribofuranosyl)purin (M.J.Robins og B.Uznanski, Can.J. Chem., 59, 2601 (1981), J.F.Gerster og R.K.Robins, J.Org. Chem., 31, 3258 (1966)), 1,34 g 2,2-diphenylethylamin og 0,748 g triethylamin blev omrørt ved stuetemperatur under en nitrogenatmosfære i fire timer i 50 ml 1,2-dimethoxyethan (destilleret over NaH). Bundfaldet af Et₃N⁺HCl blev frafiltreret, og opløsningsmidlet blev fordampet fra filtratet ved inddampning til tørhed. Inddampningsresten blev opløst i 50 ml methanol mættet med ammoniak og omrørt ved stuetemperatur i tre timer. Blandingen blev indampet til tørhed, og inddampningsresten blev rensset ved mediumtryk-væskechromatografi på silicagel under anvendelse af 5% methanol i chloroform som elueringsmiddel. Fordampning af opløsningsmidlet fra de rene fraktioner gav et fast materiale, der blev krystalliseret af en blanding af chloroform/2-propanol (10:1) og hexan, hvorved vandtes N⁶-(2,2-diphenylethyl)-2-chloradenosin, smp. 120-123°C.

Analyse:

Beregnet for C₂₄H₂₄N₅O₄Cl:

C: 59,81, H: 5,01, N: 14,53, Cl: 7,35

Fundet: C: 59,52, H: 5,20, N: 14,27, Cl: 7,05.

Eksempel 4

N⁶-(2,2-Diphenylethyl)-2-aminoadenosin.

En blanding af 1,25 g 6-chlor-2-amino-9-(β-D-ribofuranosyl)purin, 0,899 g 2,2-diphenylethylamin og 0,503 g triethylamin blev opvarmet ved tilbagesvaling i 30 ml absolut ethanol under en nitrogenatmosfære i 18 timer. Opløsningsmidlet blev fordampet ved inddampning til tørhed, og inddampningsresten blev behandlet med 50 ml koldt vand. Det uopløselige organiske materiale blev frafiltreret, 10 tørret og renset ved mediumtryk-væskechromatografi på silicagel. Produktet blev elueret med 10% methanol/chloroform. Fordampning af opløsningsmidlet fra de rene fraktioner gav et farveløst fast materiale. Krystallisation af en blanding af CHCl₃/2-propanol (10:1) og hexan gav 15 N⁶-(2,2-diphenylethyl)-2-aminoadenosin, smp. 134-137°C.

Analyse:

Beregnet for C₂₄H₂₆N₆O₄:

C: 62,32, H: 5,66, N: 18,17

Fundet: C: 62,18, H: 5,53, N: 17,88.

20

Eksempel 5

N⁶-(4,4-Diphenylbutyl)adenosin.

Titelforbindelsen blev fremstillet i det væsentlige som beskrevet i Eksempel 1, idet 4,4-diphenylbutylamin- 25 hydrobromid anvendtes i stedet for 2,2-diphenylethylamin, smp. 102-108°C.

Analyse:

Beregnet for $C_{26}H_{29}N_5O_4 \cdot 0,6H_2O \cdot 0,03 C_2H_6O$ (ethanol):

C: 63,88, H: 6,45, N: 14,00

Fundet: C: 63,92, H: 6,44, N: 13,99.

5

Eksempel 6

N^6 -(5,5-Diphenylpentyl)adenosin.

Titelforbindelsen blev fremstillet i det væsentlige som i Eksempel 1, idet 5,5-diphenylpentylamin-hydrosulfat
 10 anvendtes i stedet for 2,2-diphenylethylamin, og idet der som base anvendtes triethylamin, smp. 78-82°C.

Analyse:

Beregnet for $C_{27}H_{31}N_5O_4 \cdot H_2O$:

C: 63,43, H: 6,53, N: 13,70

15 Fundet: C: 63,43, H: 6,59, N: 13,75.

Eksempel 7

N^6 -(2,2-Diphenylpropyl)adenosin.

En blanding af 6-chlor-9-β-D-ribofuranosylpurin
 20 (2,32 g, 8,09 mmol), 2,2-diphenylpropylamin-hydrochlorid (2,01 g, 100 mol%) og triethylamin (2,3 ml, 204 mol%) i N,N-dimethylformamid (30 ml) blev omrørt under nitrogen ved stuetemperatur i 19 dage, filtreret, det faste stof blev vasket med ether, og filtratet blev indampet til en
 25 olie. Olien blev rensat ved søjlechromatografi over silicagel, idet der blev elueret med 5/1 chloroform/methanol, og de rette fraktioner blev indampet, hvorved vandtes N^6 -(2,2-diphenylpropyl)adenosin som et skum, der indeholdt et halvt mol N,N-dimethylformamid.

30 Analyse:

Beregnet for $C_{25}H_{27}N_5O_4 \cdot 0,5C_3H_7NO$:

C: 63,90, H: 6,18, N: 15,47

Fundet: C: 63,90, H: 6,07, N: 15,45.

Eksempel 8

N^6 -(2-(3-Methylphenyl)-2-phenylethyl)adenosin.

Titelforbindelsen blev fremstillet i det væsentlige som beskrevet i Eksempel 1, idet 2-(3-methylphenyl)-2-phenylethylamin anvendtes i stedet for 2,2-diphenylethylamin, smp. 92-105°C.

Analyse:

Beregnet for $C_{25}H_{27}N_5O_4$:

C: 65,06, H: 5,90, N: 15,17

10 Fundet: C: 65,49, H: 5,94, N: 14,38.

Eksempel 9

N^6 -(2-(4-Fluorphenyl)-2-phenylethyl)adenosin.

Titelforbindelsen blev fremstillet som et brungult skum i det væsentlige ved fremgangsmåden beskrevet i Eksempel 7, idet 2-(4-fluorphenyl)-2-phenylethylamin anvendtes i stedet for 2,2-diphenylpropylamin-hydrochlorid.

Analyse:

Beregnet for $C_{24}H_{24}N_5O_4F, 0,2H_2O$:

20 C: 61,45, H: 5,25, N: 14,93

Fundet: C: 61,43, H: 5,41, N: 14,98.

Eksempel 10

N^6 -(2-(4-Fluorphenyl)-2-phenylethyl)-2-chloradenosin.

25 Titelforbindelsen blev fremstillet i det væsentlige som beskrevet i Eksempel 3, idet 2-(4-fluorphenyl)-2-phenylethylamin anvendtes i stedet for 2,2-diphenylethylamin, smp. 120-123°C.

Analyse:

30 Beregnet for $C_{24}H_{23}N_5O_4ClF$:

C: 57,66, H: 4,63, N: 14,00, Cl: 7,09,

F: 3,80

Fundet: C: 57,63, H: 4,92, N: 13,76, Cl: 6,95

F: 3,99.

Eksempel 11

N⁶-(2-(4-Fluorphenyl)-2-phenylethyl)-2-aminoadenosin.

Titelforbindelsen blev fremstillet i det væsentlige som beskrevet i Eksempel 4, idet 2-(4-fluorphenyl)-2-phenylethylamin anvendtes i stedet for 2,2-diphenylethylamin, smp. 127-130°C.

Analyse:

Beregnet for C₂₄H₂₅N₆O₄F_{0,65}H₂O:

C: 58,56, H: 5,38, N: 17,07, F: 3,86

10 Fundet: C: 58,95, H: 5,73, N: 16,62, F: 3,95.

Eksempel 12

N⁶-(2,2-Di-(4-fluorphenyl)ethyl)adenosin.

Titelforbindelsen blev fremstillet i det væsentlige som beskrevet i Eksempel 1, idet 2,2-di-(4-fluorphenyl)-ethylamin anvendtes i stedet for 2,2-diphenylethylamin, og der som base anvendtes triethylamin, smp. 75-80°C.

Eksempel 13

20 N⁶-(2-(3-Chlorphenyl)-2-phenylethyl)adenosin.

Titelforbindelsen blev fremstillet i det væsentlige som beskrevet i Eksempel 1, idet 2-(3-chlorphenyl)-2-phenylethylamin-hydrochlorid anvendtes i stedet for 2,2-diphenylethylamin, og idet triethylamin anvendtes som base, smp. 107-110°C.

Eksempel 14

N⁶-(2-(4-Chlorphenyl)-2-phenylethyl)adenosin.

Titelforbindelsen blev fremstillet i det væsentlige som beskrevet i Eksempel 1, idet 2-(4-chlorphenyl)-2-phenylethylamin-hydrochlorid anvendtes i stedet for 2,2-diphenylethylamin, og idet triethylamin anvendtes som base, smp. 89-95°C.

Eksempel 15

N⁶-(2-(4-Chlorphenyl)-2-phenylethyl)-2-aminoadenosin.

Titelforbindelsen blev fremstillet i det væsentlige som beskrevet i Eksempel 4, idet 2-(4-chlorphenyl)-2-phenylethylamin-hydrochlorid anvendtes i stedet for 2,2-diphenylethylamin, smp. 134-137°C.

Analyse:

Beregnet for C₂₄H₂₅N₆O₄Cl_{1,0}·6H₂O:

C: 56,77, H: 5,20, N: 16,55

10 Fundet: C: 56,42, H: 4,99, N: 16,30.

Eksempel 16

N⁶-(2,2-Di-(4-chlorphenyl)ethyl)adenosin.

Titelforbindelsen blev fremstillet i det væsentlige som beskrevet i Eksempel 1, idet 2,2-di-(4-chlorphenyl)-ethylamin anvendtes i stedet for 2,2-diphenylethylamin, og idet triethylamin anvendtes som base, smp. 95-120°C.

Eksempel 17

20 N⁶-(2,2-Di-(4-chlorphenyl)ethyl)-2-aminoadenosin.

Titelforbindelsen blev fremstillet i det væsentlige som beskrevet i Eksempel 4, idet 2,2-di-(4-chlorphenyl)-ethylamin anvendtes i stedet for 2,2-diphenylethylamin, smp. 128-130°C.

25 Analyse:

Beregnet for C₂₄H₂₄N₆O₄Cl₂:

C: 54,24, H: 4,55, N: 15,81, Cl: 13,34

Fundet: C: 54,21, H: 4,70, N: 15,55, Cl: 13,10.

Eksempel 18

30 N⁶-(2-(4-Methoxyphenyl)-2-phenylethyl)adenosin.

Titelforbindelsen blev fremstillet i det væsentlige som beskrevet i Eksempel 1, idet 2-(4-methoxyphenyl)-2-phenylethylamin-hydrochlorid anvendtes i stedet for 2,2-diphenylethylamin, og idet triethylamin anvendtes som base, smp. 87-92°C.

Eksempel 19

N^6 -(2,2-Di-(4-nitrophenyl)ethyl)adenosin.

Titelforbindelsen blev fremstillet i det væsentlige som beskrevet i Eksempel 1, idet 2,2-di-(4-nitrophenyl)-ethylamin-hydrochlorid anvendtes i stedet for 2,2-diphenylethylamin, og idet triethylamin anvendtes som base, smp, 121-124°C.

Analyse:

Beregnet for $C_{24}H_{23}N_7O_8$:

10 C: 52,62, H: 4,40, N: 17,94

Fundet: C: 52,74, H: 4,42, N: 17,94.

Eksempel 20

N^6 -(2,2-Diphenylpropyl)-2-aminoadenosin.

15 Titelforbindelsen blev fremstillet i det væsentlige som beskrevet i Eksempel 4, idet 2,2-diphenylpropylamin anvendtes i stedet for 2,2-diphenylethylamin, smp. 129-132°C.

Eksempel 21

N^6 -(2,2-Diphenyl-2-hydroxyethyl)adenosin.

20 Titelforbindelsen blev fremstillet som et bleggult skum, der indeholdt 0,3 mol dimethylformamid, i det væsentlige ved anvendelse af fremgangsmåden beskrevet i Eksempel 7, idet 1,1-diphenyl-2-hydroxyethylamin-hydrochlorid anvendtes i stedet for 2,2-diphenylpropylamin-hydrochlorid.

Analyse:

Beregnet for $C_{24}H_{24}N_5O_5,0,3C_3H_7NO$:

30 C: 61,60, H: 5,64, N: 15,30

Fundet: C: 61,30, H: 5,63, N: 15,09.

Eksempel 22

N^6 -(2,2-Diphenyl-2-hydroxyethyl)-2-aminoadenosin.

Titelforbindelsen blev fremstillet i det væsentlige som beskrevet i Eksempel 4, idet 2,2-diphenyl-2-hydroxyethylamin anvendtes i stedet for 2,2-diphenylethylamin, smp. 138-140°C.

Eksempel 23

N^6 -(2-Carbomethoxy-2,2-diphenylethyl)adenosin.

Titelforbindelsen blev fremstillet som en gul olie i det væsentlige ved fremgangsmåden beskrevet i Eksempel 7, idet 2-carbomethoxy-2,2-diphenylethylamin-hydrochlorid anvendtes i stedet for 2,2-diphenylpropylamin-hydrochlorid.

Eksempel 24

2',3',5'-Tri-O-acetyl- N^6 -(2,2-diphenylethyl)adenosin.

N^6 -(2,2-Diphenylethyl)adenosin (4,6 g, 0,01 mol) og eddikesyreanhydrid (2,6 ml, 306 mol%) blev blandet med pyridin ved stuetemperatur under nitrogen i 20 timer, og reaktionsblandingen blev indampet i vakuum. Inddampningsresten blev opløst i chloroform, vasket to gange med vandig iskold 5% natriumcarbonat, og det organiske lag blev tørret ($MgSO_4$) og indampet i vakuum. Chromatografi over silicagel, idet der blev elueret med 5/1 chloroform/methanol, gav titelforbindelsen efter indampning af de rette fraktioner i vakuum, smp. 75-80°C.

Analyse:

Beregnet for $C_{30}H_{31}N_5O_7$:

C: 62,82, H: 5,45, N: 12,21

Fundet: C: 62,97, H: 5,57, N: 12,59.

Eksempel 25

2',3',5'-Tri-O-benzoyl- N^6 -(2,2-diphenylethyl)adenosin.

Titelforbindelsen blev fremstillet i det væsentlige som beskrevet i Eksempel 24, idet benzoylchlorid anvendtes i stedet for eddikesyreanhydrid, smp. 60-75°C.

Eksempel 26

2',3',5'-Tri-O-acetyl-N⁶-(2,2-diphenylethyl)-2-chlor-adenosin.

En blanding af 2',3',5'-tri-O-acetyl-2,6-dichlor-
5 9-β-D-ribofuranosylpurin (5,25 g, 0,011 mol), 2,2-diphenylethylamin (2,55 g, 0,013 mol) og triethylamin (1,42 g, 0,014 mol) blev omrørt ved stuetemperatur i tør 1,2-dimethoxyethan (100 ml) i fire timer. Blandingen blev filtreret, og filtratet blev indampet. Inddampningsresten
10 blev rensat ved silicagel-chromatografi, idet der blev elueret med ethylacetat, og indampning af de rette fraktioner gav titelforbindelsen, smp. 68-71°C.

Analyse:

Beregnet for C₃₀H₃₀N₅O₇Cl:

15 C: 59,26, H: 4,97, N: 11,51, Cl: 5,83

Fundet: C: 59,23, H: 5,09, N: 11,29, Cl: 5,88.

Eksempel 27

N⁶-(2,2-Diphenylethyl)adenosin-5'-phosphat.

20 En blanding af trimethylphosphat (60 ml) og phosphorylchlorid (1,8 ml) blev omrørt i flere minutter og derefter afkølet til 0°C. Hertil blev der sat N⁶-(2,2-diphenylethyl)adenosin (4 g). Efter seks timer ved 0°C blev blandingen sat til isvand (0,4 liter) og omrørt i 30 minutter. Bundfaldet blev frafiltreret, og filtratet blev
25 indstillet på pH 2 med vandig 1M natriumhydroxid. Sidstnævnte overførtes til en trækul-Celite-søjle (30 g hver) fremstillet som en vandig grød, og elueret først med vand (1 liter) og derefter med 50/2/48 ethanol/ammoniak/vand
30 (1 liter). Yderligere rensning over en Biobeads-søjle, idet der blev elueret med 4/1 methanol/vand, gav titelforbindelsen som natrium-ammoniumsalt (smp. 140-145°C dek.). Rensning af det indledende bundfald over Biobeads, som ovenfor beskrevet, gav titelforbindelsen som den frie syre
35 re (smp. 157-160°C).

Natrium-ammoniumsalt:

Analyse:

Beregnet for $C_{24}H_{28}N_6O_7PNa, 0,5H_2O$:

C: 50,00, H: 5,21, N: 14,58

5 Fundet: C: 49,86, H: 5,56, N: 14,33.

Fri syre:

Analyse:

Beregnet for $C_{24}H_{26}N_5O_7P, 2H_2O$:

C: 51,15, H: 5,33, N: 12,43

10 Fundet: C: 51,01, H: 4,85, N: 12,03.

Eksempel 28

2',3'-O-Isopropyliden- N^6 -(2,2-diphenylethyl)adenosin.

En blanding af N^6 -(2,2-diphenylethyl)adenosin (2,13
15 g, 0,005 mol), 2,2-dimethoxypropan (8 ml) og bis-(4-ni-
tropheryl)phosphat (1,9 g, 120 mol%) i acetone (0,2 li-
ter) blev omrørt ved stuetemperatur i 16 timer, fortyndet
med vandig 5% natriumbicarbonat, og blandingen blev ind-
dampet i vakuum. Inddampningsresten blev opløst i vand,
20 ekstraheret fem gange med methylenchlorid, og de samlede
organiske lag blev tørret ($MgSO_4$) og inddampet i vakuum
til et skum. En opløsning af skummet i 1/1 methanol/vand
blev behandlet portionsvis med Bio-Rex AG1X8, og filtre-
ring og inddampning af filtratet gav titelforbindelsen,
25 smp. 86-91°C.

Bortset fra de nedenfor nærmere beskrevne aminside-
kæder kan alle vindes kommercielt eller kendes fra litte-
raturen.

30 Se: C. Kaiser, et al., J.Med.Pharm.Chem. 1962, 5,
1243, K.P. Bogeso, J.Med.Chem. 1983, 26 935, B. Blank, et
al., J.Med.Chem. 1969, 12, 271, W.A. Zuccarello, et al.,
J.Med.Chem. 1969, 12, 9.

Se også: S. Takemura, et al., Chem.Pharm.Bull. 1983,
35 31, 2632.

Endvidere blev 2-(4-fluorphenyl)-2-phenylethylamin
og 2,2-di-(4-fluorphenyl)ethylamin-hydrochlorid fremstil-
let ved anvendelse af fremgangsmåderne ifølge ovennævnte litteratur.

Eksempel A

2—Carbomethoxy-2,2-diphenylethylamin-hydrochlorid.

3-Brompyrodruesyre (170 g) blev suspenderet i kold
svovlsyre (0,85 liter) og holdt ved 0°C, mens benzen
5 (0,255 liter) blev tilsat i løbet af 1,5 time. Tempera-
turen fik lov at stige til 35-36°C og holdtes derefter
ved 25°C i tre timer. Udhældning over knust is (4 liter)
efterfulgt af triturering i koldt vand og omkrystallisa-
tion af 95% ethanol gav 76 g 3-brom-2,2-diphenylpropion-
10 syre (smp. 201-202°C). Denne syre (75 g) blev suspenderet
i benzen, og thionylchlorid (55 ml) blev tilsat. Efter
tilbagesvaling blev blandingen filtreret, og filtratet
gav 40 g af syrechloridet (smp. 98-100°C). Syrechloridet
blev portionsvis sat til vandig ammoniumhydroxid under
15 omrøring og henstillet natten over, og filtrering gav 3-
brom-2,2-diphenylpropionamid. Amidet (10 g) blev porti-
onsvis under omrøring sat til en opløsning af natrium
(1,5 g) i absolut ethanol (0,2 liter), og den resulteren-
de opløsning blev opvarmet i 1 time på dampbad. Fortyn-
20 ding med vand gav et fast stof (smp. >310°C), 2,2-diphe-
nylazetidin-2-on. Azetidinonen (2 g) blev opvarmet ved
tilbagesvaling i methanol mættet med HCl (50 ml), hvorved
vandtes titelforbindelsen efter krystallisation af metha-
nol/ether (smp. 207-208°C).

25 Se også: J. Wegmann og H. Dahn, Helv.Chim.Acta 1946,
29, 415.

Eksempel B

2,2-Diphenyl-2-hydroxyethylamin-hydrochlorid.

30 Behandling af ethylglycinat-hydrochlorid (4,5 g)
med phenylmagnesiumbromid (ud fra 0,39 mol af hver af
brombenzen og magnesium), som omtalt af A. KcKenzie og
G.O. Wills, J.Chem.Soc. 1925, 127, 283 (og deri anførte
referencer) gav titelforbindelsen (smp. 191-193°C).

Eksempel C

4,4-Diphenylbutylamin.

Til natriumamid (4,0 mol) i flydende ammoniak (3 liter) blev der sat diphenylmethan (680 g) under omrøring. Efter 45 minutter blev der tilsat en opløsning af 3-chlorpropionitril (368,6 g) som en opløsning i ether. Ammoniumchlorid (300 g) blev tilsat efterfulgt af for-

5 dampning af ammoniakken, filtrering og destillation af filtratet. 4,4-Diphenylbutyronitril (187 g) destillerer ved 155-165°C ved 0,9 mm.

10

Til en suspension af lithiumaluminiumhydrid (23 g) i ether (1 liter) blev der dråbevis sat en opløsning af 4,4-diphenylbutyronitril i dioxan (6,25 liter) ved en hastighed, der bevirkede svag tilbagesvaling. Reaktions-

15 blandingen holdtes ved tilbagesvaling i 1 time, og derefter blev der dråbevis under omrøring tilsat en opløsning af kaliumcarbonat (200 g) i vand (300 ml). Blandingen blev filtreret med 1/1 dioxan/ether-vask, og inddampning i vakuum af filtratet efterfulgt af destillation gav

20 titelforbindelsen (76 g), kp. 145-150°C ved 0,6 mm. Den frie amin omdannes almindeligvis til hydrobromidsaltet forud for anvendelse.

Eksempel D

25 2,2-Di-(4-nitrophenyl)ethylamin-hydrochlorid.

Til en opløsning af 2,2-diphenylethylamin (30 g) og triethylamin (18,21 g) i toluen (300 ml) blev der sat en opløsning af acetylchlorid (14,13 g) i toluen (60 ml). Efter 20 minutter blev toluenen fjernet i vakuum, og ind-

30 dampningsresten blev rensat ved silicagel-chromatografi, idet der blev elueret med ethylacetat. Inddampning af de rette fraktioner efterfulgt af krystallisation af chloroform/methanol/hexan gav acetamidet, smp. 75-80°C. Til

kold koncentreret svovlsyre (60 ml) blev der sat acetamidet (8 g), og opløsningen holdtes ved -5°C. En opløsning

35 af koncentreret salpetersyre (8 ml) i kold koncentreret

svovlsyre (30 ml) blev derefter langsomt sat til amidopløsningen under kraftig omrøring, og idet temperaturen holdtes ved -5°C . Efter endt tilsætning blev opløsningen omrørt i 50 minutter, reaktionsblandingen blev hældt i isvand, og bundfaldet blev frafiltreret og tørret, hvorved vandtes N-acetyl-2,2-di-(4-nitrophenyl)ethylamin.

Omdannelse af nitroamidet til titelforbindelsen foregår ved metoden ifølge G.A. Dilbeck et al., J.Org. Chem. 1978, 43, 4593.

10

Eksempel E

5,5-Diphenylpentylamin-hydrosulfat.

Thionylchlorid (8,9 ml) blev langsomt sat til cyclopropyldiphenylcarbinol (25 g), og blandingen blev omrørt, indtil luftartudviklingen ophørte. Vakuumdestillation gav 4-chlor-1,1-diphenylbuten. Omdannelse af chloridet til cyanidet foregik ved metoden ifølge R.A. Smiley og C. Arnold, J.Org.Chem. 1960, 25, 257. Den resulterende nitril (14,72 g) blev reduceret med Raney-cobalt (4 g) i tetrahydrofuran (150 ml) og triethylamin (4 ml) ved $15-130^{\circ}\text{C}$ og 1450-2100 PSIG. Den olefiniske del blev derefter reduceret i methanol (150 ml) med koncentreret svovlsyre (3,5 ml) og 20% Pd-C (5 g, tilsat portionsvis under reaktionen) ved stuetemperatur og 50 PSIG hydrogen.

20

25

Se også: Chem.Abstr. 1971, 75, 88289h.

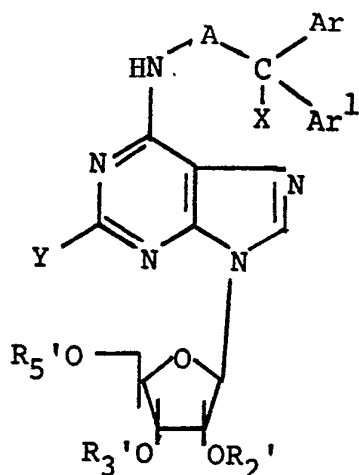
P A T E N T K R A V

1. N^6 -Substituerede adenosiner, kendte gennem et ved, at de har den almene formel I

40

5

10



I

eller er farmaceutisk acceptable additionssalte deraf,
hvor

Ar og Ar¹ hver uafhængigt er phenyl, som eventuelt er
15 substitueret med halogen, lavere alkoxy, lavere alkyl
eller nitro,

A er ligekædet alkylen med 1-8 C-atomer,

X er hydrogen, hydroxy, lavere alkyl eller lavere car-
balkoxy,

20 Y er hydrogen, halogen eller amino, og

R₂' , R₃' og R₅' hver uafhængigt er hydrogen, alkanoyl
med 2-12 C-atomer i lige eller forgrenet alkylkæde
eller benzoyl, hvorhos R₂' og R₃' også kan være ind-
byrdes forbundet til dannelse af en fem-leddet ring
25 med ialt op til 20 C-atomer, og R₅' også kan være
(PO₄⁻⁻⁻)_{1/3}.

2. Forbindelse ifølge krav 1, k e n d e t e g -
n e t ved, at X er hydrogen eller methyl, R₂' og R₃' er
hydrogen, acetyl, benzoyl eller danner tilsammen isopro-
30 pyliden, og R₅' er hydrogen eller (PO₄⁻⁻⁻)_{1/3}.

3. Forbindelse ifølge krav 2, k e n d e t e g -
n e t ved, at R₂' , R₃' , R₅' og X er hydrogen.

4. Forbindelse ifølge krav 3, k e n d e t e g -
n e t ved, at A er ligekædet alkylen med 1-4 C-atomer.

35 5. Forbindelse ifølge krav 4, k e n d e t e g -
n e t ved, at A er methylen, og Ar og Ar¹ er phenyl.

6. Forbindelse ifølge krav 4, k e n d e t e g -
n e t ved, at den er valgt blandt:

- 5 N^6 -(2,2-diphenylethyl)adenosin,
 N^6 -(3,3-diphenylpropyl)adenosin,
 N^6 -(2,2-diphenylethyl)-2-chloradenosin,
 N^6 -(2,2-diphenylethyl)-2-aminoadenosin og
 N^6 -(2,2-diphenylpropyl)adenosin.

7. Farmaceutisk præparat, k e n d e t e g n e t
ved, at det indeholder en terapeutisk effektiv mængde af
10 en forbindelse ifølge krav 1 sammen med en farmaceutisk
acceptabel bærer.