



(12) PATENT

(19) NO

(11) 339450

(13) B1

NORGE

(51) Int Cl.

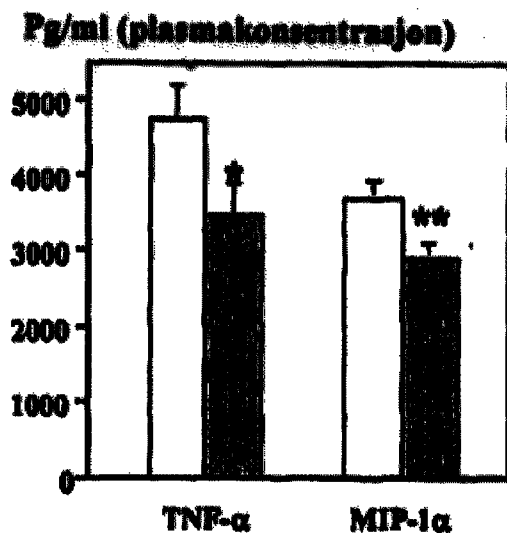
C07H 19/167 (2006.01)

A61K 31/7076 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20066012	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2005.05.25 PCT/US2005/18381
(22)	Inng.dag	2006.12.27	(85)	Videreføringsdag	2006.12.27
(24)	Løpedag	2005.05.25	(30)	Prioritet	2004.05.26, US, 60/574,805 2005.07.15, US, 60/588,263
(41)	Alm.tilgj	2007.02.21			
(45)	Meddelt	2016.12.12			
(73)	Innehaver	Inotek Pharmaceuticals Corporation, 91 Hartwell Avenue, Second Floor, US-MA02124 LEXINGTON, USA Andrew L Salzman, 483 Pleasant Street, Apartment #1, US-MA02078 BELMONT, USA Prakash Jagtap, 198 Bridge Street, US-MA01915 BEVERLY, USA Caaba Szabo, 30 Starknought Heights, US-MA01930 GLOUCESTER, USA Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge			
(72)	Oppfinner				
(74)	Fullmektig				
(54)	Benevnelse	Purinderivater som adenosin A1-reseptoragonister, preparater inneholdende slike og anvendelser derav			
(56)	Anførte publikasjoner	DE 2342479 A1 FR 2186470 A US 4242505 A WO 9808855 A2			
(57)	Sammendrag				

Foreliggende oppfinnelse gjelder purinderivater, preparater som omfatter en effektiv mengde av et purinderivat og fremgangsmåter for reduksjon av et dyrs metabolske aktivitet, beskyttelse av et dyrs hjerte mot myokardskader under kardioplegi eller for behandling eller forebygging av en hjerte-karsykdom, en nevrologisk forstyrrelse, en iskemisk tilstand, en reperfusjonsskade, fedme, en tærende sykdom eller diabetes, som omfatter tilførsel av en effektiv mengde av et purinderivat til et dyr med behov for dette.



1. Oppfinnelsens område

Foreliggende oppfinnelse gjelder purinderivater, preparater som omfatter en effektiv mengde av et purinderivat og slike preparater for reduksjon av et dyrs metabolske aktivitet, beskyttelse av et dyrs hjerte mot myokardskader under kardioplegi eller for
5 behandling eller forebygging av en hjerte-karsykdom, en neurologisk forstyrrelse, en iskemisk tilstand, en reperfusjonsskade, fedme, en tærende sykdom eller diabetes.

2. Oppfinnelsens bakgrunn

Adenosin er et naturlig forekommende purinnukleosid som er allestedsnærværende i
10 pattedyrscelletyper. Adenosin utøver sine biologiske virkninger ved å interagere med A_1 -, A_2 (videre underklassifisert som A_{2A} og A_{2B})- og A_3 -celleoverflatereseptorer som modulerer viktige fysiologiske prosesser.

A_1 - og A_{2A} -reseptorundertypene antas å spille komplementære roller i adenosints
15 regulernig av en celleenergitilførsel. Adenosin, som er et metabolsk produkt av ATP, diffunderer fra cellen og aktiverer lokalt A_1 -reseptoren for reduksjon av oksygenbehovet eller aktiverer A_{2A} -reseptoren for å forhøye oksygentilførselen, slik at energitilførselsbalansen og behovet i vevet gjenopprettes. Den kombinerte virkning av undertypene A_1 og A_2 forhøyer mengden av tilgjengelig oksygen til vevet, og beskytter
20 cellene mot skader grunnet korttids oksygenubalanse. En av de viktigste funksjonene for endogent adenosin er å forhindre vevsskader under traumer som hypoksi, en iskemisk tilstand, hypotensjon og slagtilfeller.

I tillegg reduserer modulering av A_1 -reseptorer ledningshastigheten i hjertets
25 atroventrikulærknute, noe som fører til normalisering av supraventrikulære takikardier og kontroll av ventrikkelfrekvensen under atrieflimmer og atrieflutter. Modulering av A_{2A} -reseptorer regulerer også koronar vasodilasjon.

Adenosin er også en neuromodulator som modulerer molekulære mekanismer som
30 ligger til grunn for mange sider av den fysiologiske hjernefunksjon ved å formidle sentrale inhiberende virkninger. En forhøyet frigjøring av neurotransmittere følger traumer som hypoksi, iskjemi og slag. Neurotransmittere er til syvende og sist ansvarlige for neural degenerasjon og nervedød, noe som kan føre til hjerneskade eller døden. Adenosin antas å være et endogent antikonvulsivt middel som inhiberer
35 glutamatfrigjøringen fra eksitoriske nevroner og nevrontenningen. Adenosinagonister er følgelig anvendebare som antiepileptiske midler.

Adenosin spiller en viktig rolle som et hjertebeskyttende middel. Nivået av endogent adenosin øker som respons på iskemi og hypoksi, og beskytter hjertevevet under og etter traumer (prekondisjonering). Adeonisagonister er følgelig anvendbare som
 5 hjertebeskyttende midler.

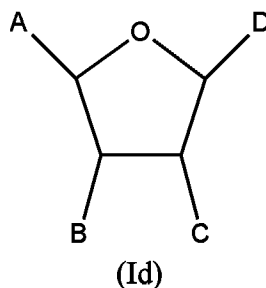
Fremstilling og anvendelse av en rekke adenosin A₁-reseptoragonister er beskrevet (Moos *et al.*, *J. Med. Chem.* 28:1383-1384 (1985); Thompson *et al.*, *J. Med. Chem.* 34:3388-3390 (1991); Vittori *et al.*, *J. Med. Chem.* 43:250-260 (2000); Roelen *et al.*,
 10 *J Med. Chem*, 39:1463-1471 (1996); van der Wenden *et al.*, *J Med. Chem.* 41102-108 (1998); Dalpiaz *et al.*, *Pharm. Res.* 18:531-536 (2001), Beakers *et al.*, *J. Med. Chem.* 46,1492-1503 (2003); U.S. patent 5,589,467 tilhørende Lau *et al.*; U.S. Patent 5,789,416, tilhørende Lum *et al.*; og C.E. Muller, *Current Medicinal Chemistry* 2000, 7, 1269-1288).

15 Nukleosid 5'-nitratstere er rapportert i Lichtenthaler *et al.*, *Synthesis*, 199-201 (1974), og US patentnr. 3832341 tilhørende Duchinsky *et al.*

Sitering av hvilken som helst referanse i seksjon 2 i den foreliggende patentsøknad
 20 utgjør ingen innrømmelse av at referansen foregriper foreliggende patentsøknad.

3. Oppsummering av oppfinnelsen

I en utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen forbindelser med formel (Id):



og farmasøytisk akseptable salter derav,

hvor

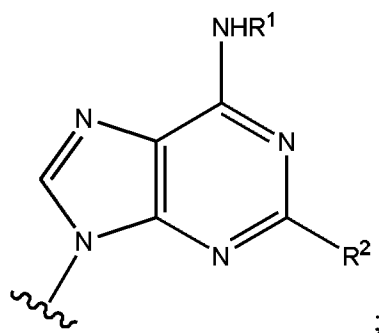
30

A er -R³;

3

B og C er –OH;

D er



5

A og B er *trans* relativt til hverandre;

B og C er *cis* relativt til hverandre;

10 C og D er *cis* eller *trans* relativt til hverandre;

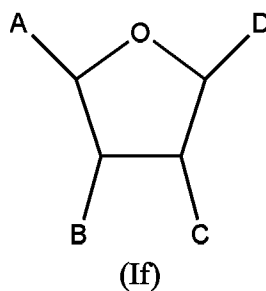
R¹ er -C₃-C₈ monosyklisk cykloalkyl;

R² er -H; og

15

R³ er -CH₂OSO₃H.

I en annen utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen forbindelser med formel (If):



20

og farmasøytisk akseptable salter derav,

hvor

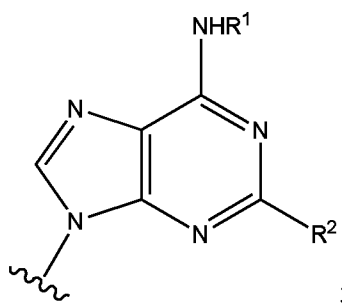
25

A er -CH₂ONO₂;

4

B og C er –OH;

D er



5

A og B er *trans* relatert til hverandre;

B og C er *cis* relativt til hverandre;

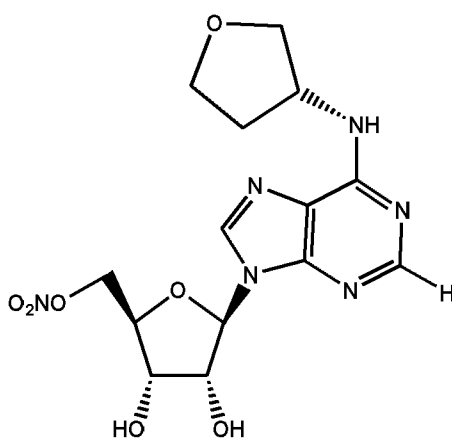
10 C og D er *cis* eller *trans* relativt til hverandre;

R¹ er -C₃-C₈ monosyklisk cykloalkyl; og

R² er -H eller -halo.

15

I en annen utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen en forbindelse med formelen:



20

(forbindelse 25)

og farmasøytisk akseptable salter derav.

Forbindelse 25, en forbindelse med formel (Id) eller (If) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, (et “purinderivat”) er anvendbar for: (i) behandling eller forebyggelse av en hjerte-karsykdom, en nevrologisk forstyrrelse, en iskemisk tilstand, en reperfusjonsskade, fedme, en tærende sykdom eller diabetes (som alle er en
 5 “tilstand”); (ii) reduksjon av et dyrs metabolske aktivitet; eller (iii) beskyttelse av et dyrs hjerte mot myokardskader under kardioplegi.

Oppfinnelsen tilveiebringer også preparater som omfatter en effektiv mengde av et purinderivat og et fysiologisk aksepterbart bærerstoff eller en fysiologisk aksepterbær-
 10 bærer. Preparatene er anvendbare for: (i) behandling eller forebyggelse av en tilstand; (ii) reduksjon av et dyrs metabolske aktivitet; eller (iii) beskyttelse av et dyrs hjerte mot myokardskade under kardioplegi.

Oppfinnelsen tilveiebringer videre anvendelse av en effektiv mengde av et purinderivat
 15 for fremstilling av et medikament for: (i) behandling eller forebyggelse av en tilstand; (ii) reduksjon av et dyrs metabolske aktivitet; eller (iii) beskyttelse av et dyrs hjerte mot myokardskade under kardioplegi.

Detaljene vedrørende oppfinnelsen er beskrevet i den vedlagte beskrivelse nedenfor.
 20 Andre egenskaper, formål og fordeler ved oppfinnelsen vil være åpenbare ut fra beskrivelsen og kravene.

4. KORT BESKRIVELSE AV FIGURENE

25 **FIG. 1** viser virkningen av forbindelse 17 på lipopolysakkaridindusert plasma-TNF- og –MIP-produksjon i BALB/c-hannmus. De uskraverte søylene står for LPS, tilført i.p. i en dose på 1 mg/kg, mens de skraverte søylene står for forbindelse 17, tilført oralt i en dose på 0.03 mg/kg, fulgt 30 minutter senere med LPS, tilført i.p. i en dose på 1 mg/kg. Nivået av TNF og MIP ble målt 90 minutter etter LPS-tilførsel.

30 **FIG. 2** viser virkningen av forbindelse 17 i overlevelsesundersøkelser for BALB/c-hannmus, uttrykt som prosent overlevende dyr ved intervaller på 10 timer. Kurven -□- står for LPS, tilført i.p. i en dose på 55 mg/kg, mens kurven -♦- står for forbindelse 17, tilført oralt i en dose på 0.03 mg/kg, fulgt 30 minutter senere med LPS, tilført i.p. i en
 35 dose på 55 mg/kg.

FIG. 3 viser virkningene av forbindelse 17 på varigheten av iskemiinduserte arytmier i isolerte, perfunderte rottehjerter. Søylediagrammet fra venstre til høyre står for: en ubehandlet kontrollgruppe, forbindelse 17 tilført ved 10 pM, forbindelse 17 tilført ved 30 pM og forbindelse 17 tilført ved 100 pM.

5

FIG. 4 viser virkningen av forbindelse 17 på gjenvinning av funksjonen i isolerte, perfunderte rottehjerter etter 30 minutters iskemi uten blodgjennomstrømning, fulgt av 40 minutters reperfusjon. Kurven -▲- står for en ubehandlet kontrollgruppe (n = 13), mens kurve -■- står for tilførsel (n = 9) av forbindelse 17 i en konsentrasjon på 1 nM, tilført 10 minutter før induksjon av iskemi.

10

FIG. 5 viser virkningen av forbindelse 17 og/eller buprenorfin i en akutt smertemodell i mus ved anvendelse av en halepiskingsanalyse. Y-aksen står for den maksimalt mulige effekt (MPE), mens X-aksen står for tid etter tilførsel av forbindelse 17 og/eller buprenorfin. Kurven -●- står for samtidig tilførsel av buprenorfin (1.0 mg/kg) og forbindelse 17 (3.0 mg/kg), kurven -■- står for buprenorfin (1.0 mg/kg), kurven -▲- står for forbindelse 17 (3.0 mg/kg), kurven -X- står for samtidig tilførsel av buprenorfin (0.3 mg/kg) og forbindelse 17 (3.0 mg/kg) og kurven -Ж- står for buprenorfin (0.3 mg/kg).

15
20

FIG. 6 viser virkningen av forbindelse 17 i en musemodell for formalinindusert smerte. Søylediagrammet fra venstre til høyre viser analysens første fase (ingen respons) og analysens andre fase (skravert søyle).

25

FIG. 7 viser virkningen av forbindelse 17 på allodyni i en musemodell for diabetisk nevropati. Y-aksen står for dyrets smerteterskel og X-aksen står for tid etter tilførsel av forbindelse 17. Kurven -●- står for behandling med den forbindelse 17 (1.0 mg/kg).

30

FIG. 8 viser virkningen av forbindelse 17 på mekanisk indusert smerteterskel i en karaginan-rottemodell. Y-aksen står for dyrets smerteterskel og X-aksen står for tid etter tilførsel av forbindelse 17. Kurven -○- står for bærestoff og kurven -■- står for forbindelse 17 (5.0 mg/kg).

35

FIG. 9 viser virkningen av forbindelse 17 og/eller buprenorfin på smerteterskelen i en musemodell for sciaticnerveligasjon. Y-aksen står for dyrets smerteterskel og X-aksen står for tid etter tilførsel av forbindelse 17 og/eller buprenorfin. Kurven øverst til

venstre viser virkningen av bærestoff, kurven øverst til høyre viser virkningen av forbindelse 17 (0.1 mg/kg), kurven nederst til venstre viser virkningen av buprenorfin (0.3 mg/kg) og kurven nederst til høyre viser virkningen av samtidig tilførsel av forbindelse 17 (0.1 mg/kg) og buprenorfin (0.3 mg/kg). Kurven -♦- står for responsen i kontrollbeinet og kurven -■- står for responsen i det behandlede bein.

5. DETALJERT BESKRIVELSE AV OPPFINNELSEN

5.1 DEFINISJONER

10

Begrepet "C₁-C₁₅ alkyl" som anvendt heri viser til et mettet hydrokarbon med uforgrenet eller forgrenet kjede og med fra 1 til 15 karbonatomer. Representative C₁-C₁₅ alkylgrupper omfatter, men er ikke begrenset til, metyl, etyl, propyl, isopropyl, butyl, *sec*-butyl, *tert*-butyl, pentyl, isopentyl, neopentyl, heksyl, isoheksyl, neoheksyl, heptyl, isoheptyl, neoheptyl, oktyl, isooktyl, neooktyl, nonyl, isononyl, neononyl, decyl, isodecyl, neodecyl, undecyl, dodecyl, tridecyl, tetradecyl og pentadecyl. I en utførelse er C₁-C₁₅ alkylgruppen substituert med en eller flere av følgende grupper: -halo, -O-(C₁-C₆ alkyl), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' eller -C(O)NHR'-grupper hvori hver R' uavhengig av de andre er -H eller ikke-substituert -C₁-C₆ alkyl. Med mindre annet er angitt er C₁-C₁₅ alkyl ikke substituert.

Begrepet "C₁-C₁₀ alkyl" som anvendt heri viser til et mettet hydrokarbon med uforgrenet eller forgrenet kjede og med fra 1 til 10 karbonatomer. Representative C₁-C₁₀ alkylgrupper omfatter, men er ikke begrenset til metyl, etyl, propyl, isopropyl, butyl, *sec*-butyl, *tert*-butyl, pentyl, isopentyl, neopentyl, heksyl, isoheksyl, neoheksyl, heptyl, isoheptyl, neoheptyl, oktyl, isooktyl, neooktyl, nonyl, isononyl, neononyl, decyl, isodecyl og neodecyl. I en utførelse er C₁-C₁₀ alkylgruppen substituert med en eller flere av følgende grupper: -halo, -O-(C₁-C₆ alkyl), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' eller -C(O)NHR' grupper hvori hver R' uavhengig av de andre er -H eller ikke-substituert -C₁-C₆ alkyl. Med mindre annet er angitt er C₁-C₁₀alkyl ikke substituert.

Begrepet "C₁-C₆ alkyl" som anvendt heri viser til et mettet hydrokarbon med uforgrenet eller forgrenet kjede, og med fra 1 til 6 karbonatomer. Representative C₁-C₆ alkylgrupper omfatter, men er ikke begrenset til metyl, etyl, propyl, isopropyl, butyl, *sec*-butyl, *tert*-butyl, pentyl, isopentyl, neopentyl, heksyl, isoheksyl og neoheksyl. Med mindre annet er angitt er C₁-C₆ alkyl ikke substituert.

Begrepet "aryl" som anvendt heri viser til en fenylgruppe eller en naftylgruppe. I en utførelse er arylgruppen substituert med en eller flere av følgende grupper: -halo, -O-(C₁-C₆ alkyl), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' eller -C(O)NHR' grupper hvori hver R' uavhengig av de andre er -H eller ikke substituert -C₁-C₆ alkyl. Med mindre annet er angitt er aryl ikke substituert.

Begrepet "C₃-C₈ monosyklisk cykloalkyl" som anvendt heri er en mettet, ikke-aromatisk, monosyklisk cykloalkylring med 3-, 4-, 5-, 6-, 7- eller 8 medlemmer. Representative C₃-C₈ monosyklisk cykloalkylgrupper omfatter, men er ikke begrenset til, cyklopropyl, cyklobutyl, cyklopentyl, cykloheksyl, cykloheptyl og cyklooktyl. I en utførelse er den C₃-C₈ monosykliske cykloalkylgruppe substituert med en eller flere av følgende grupper: -halo, -O-(C₁-C₆ alkyl), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' eller -C(O)NHR' grupper hvori hver R' uavhengig av de andre er -H eller ikke-substituert -C₁-C₆ alkyl. Med mindre annet er angitt er C₃-C₈ monosyklisk cykloalkyl ikke-substituert.

Begrepet "C₃-C₈ monosyklisk cykloalkenyl" som anvendt heri er en ikke-aromatisk, monosyklisk karboksyklisk ring med 3-, 4-, 5-, 6-, 7- eller 8 medlemmer og med minst en endocyklisk dobbeltbinding, en som ikke er aromatisk. Det bør forstås at dersom hvilke som helst to grupper sammen med karbonatomet de er bundet til danner en C₃-C₈ monosyklisk cykloalkenylgruppe forblir karbonatomet som de to gruppene er bundet til tetravalent. Representative C₃-C₈ monosykliske cykloalkenylgrupper omfatter, men er ikke begrenset til, cyklopropenyl, cyklobutenyl, 1,3-cyklobutadienyl, cyklopentenyl, 1,3-cyklopentadienyl, cykloheksenyl, 1,3-cykloheksadienyl, cykloheptenyl, 1,3-cykloheptadienyl, 1,4-cykloheptadienyl, -1,3,5-cykloheptatrienyl, cyklooktenyl, 1,3-cyklooktadienyl, 1,4-cyklooktadienyl, -1,3,5-cyklooktatrienyl. I en utførelse er den C₃-C₈ monosykliske cykloalkenylgruppe substituert med en eller flere av følgende grupper: -halo, -O-(C₁-C₆ alkyl), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' eller -C(O)NHR' grupper hvori hver R' uavhengig av de andre er -H eller ikke-substituert -C₁-C₆ alkyl. Med mindre annet er angitt er C₃-C₈ monosyklisk cykloalkenyl ikke-substituert.

Begrepet "C₈-C₁₂ bisyklisk cykloalkyl" som anvendt heri er et mettet, ikke-aromatisk, bisyklisk cykloalkylringsystem med 8-, 9-, 10-, 11- eller 12 medlemmer. Representative C₈-C₁₂ bisykliske cykloalkylgrupper omfatter, men er ikke begrenset til,

dekahydronaftalen, oktahydroinden, decahydrobenzocyklohepten og dodecahydroheptalen. I en utførelse er den C₈-C₁₂ bisykliske cykloalkylgruppe substituert med en eller flere av følgende grupper: -halo, -O-(C₁-C₆ alkyl), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' eller -C(O)NHR' grupper hvori R' uavhengig
 5 av de andre er -H eller ikke-substituert -C₁-C₆ alkyl.

Med mindre annet er angitt er C₈-C₁₂ bisyklisk cykloalkyl ikke-substituert. Begrepet "C₈-C₁₂ bisyklisk cykloalkenyl" som anvendt heri er et ikke-aromatisk, bisyklisk cykloalkylringsystem med 8-, 9-, 10-, 11- eller 12 medlemmer og med minst
 10 en endosyklisk dobbeltbinding. Det bør forstås at dersom hvilke som helst to grupper sammen med karbonatomet som de er bundet til danner en C₈-C₁₂ bisyklisk cykloalkenylgruppe forblir karbonatomet som de to gruppene er bundet til tetravalent. Representative C₈-C₁₂ bisykliske cykloalkenylgrupper omfatter, men er ikke begrenset til, oktahydronaftalen, heksahydronaftalen, heksahydroinden, tetrahydroinden,
 15 oktahydrobenzocyklohepten, heksahydrobenzocyklohepten, tetrahydrobenzocyklophepten, decahydroheptalen, oktahydroheptalen, heksahydroheptalen og tetrahydroheptalen. I en utførelse er den C₈-C₁₂ bisykliske cykloalkylgruppe substituert med en eller flere av følgende grupper: -halo, -O-(C₁-C₆ alkyl), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' eller -C(O)NHR' grupper
 20 hvori hver R' uavhengig av de andre er -H eller ikke-substituert -C₁-C₆ alkyl. Med mindre annet er angitt er C₈-C₁₂ bisyklisk cykloalkenyl ikke-substituert.

Begrepet "effektiv mengde" som anvendt heri viser til en mengde av et purinderivat som er effektiv for: (i) behandling eller forebyggelse av en tilstand; (ii) reduksjon av et
 25 dyrs metabolske aktivitet, eller (iii) beskyttelse av et dyrs hjerte mot myokardskade under kardioplegi.

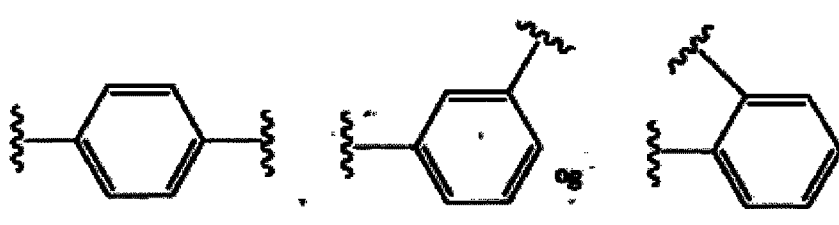
Begrepet "halo" som anvendt heri viser til -F, -Cl, -Br eller -I.

30 Begrepet "3- til 7-leddet monosyklisk heterosykl" viser til: (i) ikke-aromatisk, monosyklisk cykloalkyl med 3 eller 4 medlemmer hvori et av ringkarbonatomene er erstattet med et N-, O- eller S-atom; eller (ii) aromatisk eller ikke-aromatisk, monosyklisk cykloalkyl med 5, 6 eller 7 medlemmer hvori 1-4 av ringkarbonatomene uavhengig av hverandre er erstattet med et N-, O- eller S-atom. De ikke-aromatiske,
 35 monosykliske heterocyklylgruppene med 3 til 7 medlemmer kan være tilkoblet via et nitrogenatom, svovelatom eller karbonatom i ringen. De aromatiske, monosykliske

heterosykliske gruppene med 3 til 7 medlemmer er tilkoblet via et karbonatom i ringen. Representative eksempler på en monosyklisk heterocyklylgruppe med 3 til 7 medlemmer omfatter, men er ikke begrenset til furanyl, furazanyl, imidazolidinyl, imidazolinyl, imidazolyl, isotiazolyl, isoksazolyl, morfolinyl, oksadiazolyl, oksazolidinyl, oksazolyl, oksazolidinyl, pyrimidinyl, fenanthridinyl, fenantrolinyl, piperazinyl, piperidinyl, pyranyl, pyrazinyl, pyrazolidinyl, pyrazolinyl, pyrazolyl, pyridazinyl, pyridooksazol, pyridoimidazol, pyridotiazol, pyridinyl, pyrimidinyl, pyrrolidinyl, pyrrolinyl, kinuclidinyl, tetrahydrofuranyl, tiadiazinyl, tiadiazolyl, tienyl, tienotiazolyl, tienooksazolyl, tienoimidazolyl, tiomorfolinyl, tiofenyl, triazinyl, triazolyl. I en utførelse er den monosykliske heterosykliske gruppe med 3 til 7 medlemmer substituert med en eller flere av følgende grupper: -halo, -O-(C₁-C₆ alkyl), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' eller -C(O)NHR' grupper hvori R' uavhengig av de andre er -H eller ikke-substituert -C₁-C₆ alkyl. Med mindre annet er angitt er monosyklisk heterocyklyl med 3 til 7 medlemmer ikke-substituert.

Begrepet "bisyklisk heterocyklyl med 8 til 12 medlemmer" viser til en aromatisk eller ikke-aromatisk, bisyklisk cykloalkylgruppe med 8 til 12 medlemmer hvor en eller begge av ringene i det bisykliske ringsystem har 1-4 ringkarbonatomene uavhengig av hverandre erstattet med et N-, O- eller S-atom. Innbefattet i denne klassen er monosykliske heterosykliske grupper med 3 til 7 medlemmer som er kondensert til en benzenring. En ikke-aromatisk ring i en monosyklisk heterosyklisk gruppe med 8 til 12 medlemmer er tilkoblet via et nitrogenatom, svovelatom eller karbonatom i ringen. En aromatisk, monosyklisk heterosyklisk gruppe med 8 til 12 medlemmer er tilkoblet via et karbonatom i ringen. Eksempler på bisykliske, heterosykliske grupper med 8 til 12 medlemmer omfatter, men er ikke begrenset til, benzimidazolyl, benzofuranyl, benzotiofuranyl, benzotiofenyl, benzoksazolyl, benzthiazolyl, benztriazolyl, benztetrazolyl, benzisoksazolyl, benzisotiazolyl, benzimidazolinyl, cinnolinyl, dekahydrokinolinyl, 1H-indazolyl, indolenyl, indolinyl, indolizinyll, indolyl, isobenzofuranyl, isoindazolyl, isoindolyl, isoindolinyl, isokinolinyl, naftyridinyl, oktahydroisokinolinyl, ftalazinyl, pteridinyl, purinyl, kinoksalinyl, tetrahydroisokinolinyl, tetrahydrokinolinyl og xantenyl. I en utførelse kan hver av ringene i den bisykliske heterosykliske gruppe med 8 til 12 medlemmer være substituert med en eller flere av følgende grupper: -halo, -O-(C₁-C₆ alkyl), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' eller -C(O)NHR' grupper hvori hver R' uavhengig av de andre er -H eller ikke-substituert -C₁-C₆ alkyl. Med mindre annet er angitt er bisyklisk heterocyklyl med 8 til 12 medlemmer ikke-substituert.

Representative eksempler på en “fenylengruppe” er avbildet nedenfor:



5

Uttrykket “farmasøytisk akseptabelt salt,” som anvendt heri er et salt mellom en syre og et basisk nitrogenatom i et purinderivat. Illustrative salter omfatter, men er ikke begrenset til, sulfat, sitrat, acetat, oksalat, klorid, bromid, iodid, nitrat, bisulfat, fosfat, acid fosfat, isonikotinat, laktat, salicylat, syresitrat, tartrat, oleat, tannat, pantotenat, bitartrat, askorbat, suksinat, maleat, gentisinat, fumarat, glukonat, glukaronat, sakkarat, format, benzoat, glutamat, metansulfonat, etansulfonate, benzensulfonat, *p*-toluenesulfonat og pamoat (det vil si 1,1’-metylen-bis-(2-hydroksy-3-naftoat)) salter. Det farmasøytisk aksepterbare salt kan også være et kamfersulfonatsalt. Begrepet ”farmasøytisk aksepterbart salt” viser også til et salt av et pyrinderivat med en sur funksjonell gruppe, for eksempel en karboksylsyregruppe, og en base. Egnede baser omfatter, men er ikke begrenset til, hydroksider av alkalimetaller, for eksempel natrium, kalium og litsium, hydroksider av alkaliske jordmetaller, for eksempel kalsium og magnesium, hydroksider av andre metaller, for eksempel aluminium og sink, ammoniakk og organiske aminer, for eksempel ikke-substituerte eller hydroksysubstituerte mono-, di- eller tri-alkylaminer, dicykloheksylamin; tributylamin; pyridin; N-metyl, N-etylamin; dietylamin; trietylamin; mono-, bis- eller tris-(2-OH-lavere alkylaminer), slik som mono-; bis- eller tris-(2-hydroksyetyl)amin, 2-hydroksy-*tert*-butylamin eller tris-(hydroksymetyl)metylamin, N,N-di-lavere alkyl-N-(hydroksyl-lavere alkyl)-aminer, slik som N,N-dimetyl-N-(2-hydroksyetyl)amin eller tri-(2-hydroksyetyl)amin; N-metyl-D-glukamin og aminosyrer slik som arginin, lysin og lignende. Begrepet ”farmasøytisk aksepterbart salt” omfatter også et hydrat av et pyrinderivat.

Et “dyr” er et pattedyr, for eksempel et menneske, en mus, en rotte, en marsvin, en hund, en katt, en hest, en ku, en gris eller en ikke-menneskelig primat, for eksempel en ape, sjimpanse, bavian eller resusape. I en utførelse er et dyr et menneske.

30

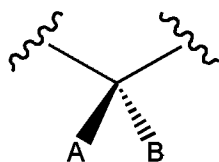
Begrepet “isolert og rensset” som anvendt heri betyr separert fra andre bestanddeler av en reaksjonsblanding eller en naturlig kilde. I visse utførelser inneholder isolatet minst 30%, minst 35%, minst 40%, minst 45%, minst 50%, minst 55%, minst 60%, minst 65%, minst 70%, minst 75%, minst 80%, minst 85%, minst 90%, minst 95% eller minst 5 98% av et purinderivat (vekt/vekt av isolatet). I en utførelse inneholder isolatet minst 95% (vekt/vekt) av et purinderivat.

Begrepet “i det vesentlige fri for sin tilsvarende motsatte enantiomer” som anvendt heri betyr at et pyrinderivat ikke inneholder mer enn tilnærmet 10% (vekt/vekt) av den 10 tilsvarende, motsatte enantiomer. I en utførelse inneholder purinderivatet som i det vesentlige er fritt for sin tilsvarende, motsatte enantiomer ikke mer enn tilnærmet 5% (vekt/vekt) av den tilsvarende, motsatte enantiomer. I en videre utførelse inneholder et purinderivat som i det vesentlige er fritt for den tilsvarende, motsatte enantiomer ikke mer enn tilnærmet 1% (vekt/vekt) av den tilsvarende, motsatte enantiomer. I en annen 15 utførelse inneholder et purinderivat som i det vesentlige er fritt for sin tilsvarende, motsatte enantiomer ikke mer enn tilnærmet 0.5% (vekt/vekt) av den tilsvarende, motsatte enantiomer. I ytterligere en utførelse inneholder et purinderivat som i det vesentlige er fritt for den tilsvarende, motsatte enantiomer ikke mer enn tilnærmet 0.1% (vekt/vekt) av den tilsvarende, motsatte enantiomer.

20 Begrepet “i det vesentlige fri for den tilsvarende andre anomer” som anvendt heri betyr at et purinderivat ikke inneholder mer enn tilnærmet 10% (vekt/vekt) av den tilsvarende andre anomer. I en utførelse inneholder purinderivatet som i det vesentlige er fritt for den tilsvarende andre anomer ikke mer enn tilnærmet 5% (vekt/vekt) av den tilsvarende 25 andre anomer. I en videre utførelse inneholder et purinderivat som i det vesentlige er fritt for den tilsvarende andre anomer ikke mer enn tilnærmet 1% (vekt/vekt) av den tilsvarende andre anomer. I en annen utførelse inneholder et purinderivat som i det vesentlige er fritt for den tilsvarende andre anomer ikke mer enn tilnærmet 0.5% (vekt/vekt) av den tilsvarende andre anomer. I ytterligere en utførelse inneholder et 30 purinderivat som i det vesentlige er fritt for den tilsvarende andre anomer ikke mer enn tilnærmet 0.1% (vekt/vekt) av den tilsvarende andre anomer.

Noen kjemiske strukturer heri er avbildet ved anvendelse av uthevede og stiplede linjer som angir kjemiske bindinger. Disse uthevede og stiplede linjene gjengir den absolutte 35 stereokjemi. En uthevet linje angir at en substituent ligger over planet til karbonatomet

som den er bundet til, mens en stiplet linje angir at en substituent ligger under planet til karbonatomet som den er bundet til. I for eksempel illustrasjonen nedenfor:



5

ligger gruppen A over planet til karbonatomet som den er bundet til, mens gruppen B ligger under planet til karbonatomet som den er bundet til.

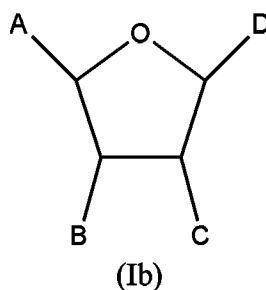
Følgende forkortelser anvendes heri og har de angitte definisjoner: Ac_2O er eddiksyreanhydrid; ATP er adenosintrifosfat; CCPA er 2-klor- N^6 -cyklopentyladenosin; CPA er N^6 -cyklopentyladenosin; CSA er kamfersulfonsyre; CHO er kinahamsterovarier; DMF er N,N-dimetylformamid; EGTA er etylenglycol-bis-(3-aminoetyler)-N,N,N',N'-tetraeddiksyre; EtNH_2 er etylamin; EtOAc er etylacetat; EtOH er etanol; LiHMDS er litium heksametyldisilazid; MeOH er metanol; MS er massespektrometri; NECA er adenosin-5'-(N-etyl)karboksamido; NMR er kjernemagnetisk resonans; R-PIA er N^6 -(2-fenyl-isopropyl) adenosin, R-isomer; TFA er trifluoroeddiksyre; THF er tetrahydrofuran; TMSOTf er trimetylsilyl trifluormetansulfonat.

20

5.2 PURINDERIVATENE

5.2.2 PURINDERIVATENE MED FORMEL (Ib)

Det er beskrevet pyrinderivater med formelen (Ib):



25

og farmasøytisk akseptable salter derav,

hvor

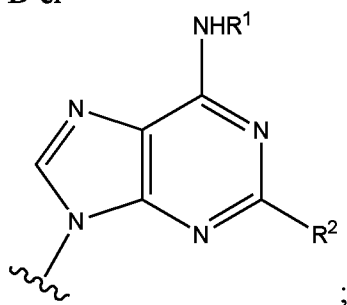
30

14

A er $-\text{CH}_2\text{ONO}_2$;

B og C er $-\text{OH}$;

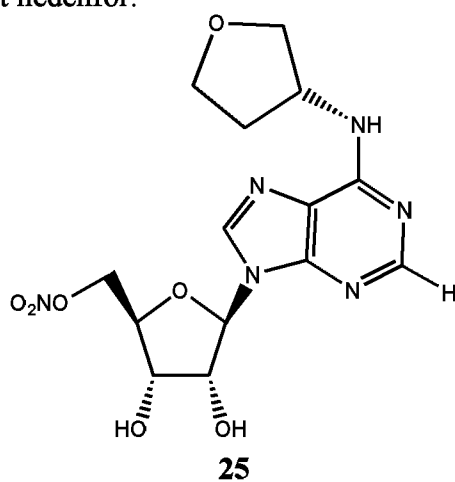
5 D er



og A og B er *trans* relativt til hverandre; B og C er *cis* relativt til hverandre; og C og D er *cis* eller *trans* relativt til hverandre.

10

Som angitt ovenfor omfatter foreliggende oppfinnelse det illustrerte purinderivatet med formel (Ib) som er gjengitt nedenfor:



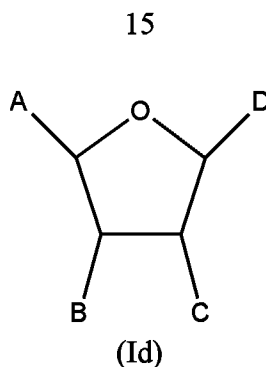
15

5.2.4 PURINDERIVATENE MED FORMEL (Id)

Som bemerket ovenfor omfatter foreliggende oppfinnelse purinderivater med formelen

20

(Id):



5 hvori A, B, C og D er definert ovenfor for purinderivatene med formel (Id), og A og B er *trans* relativt til hverandre; B og C er *cis* relativt til hverandre; og C og D er *cis eller trans* relativt til hverandre.

I en utførelse er C og D er *cis* relativ til hverandre.

10 I en annen utførelse er C og D *trans* relativ til hverandre.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer også preparater som omfatter en effektiv mengde av et purinderivat med formel (Id) og et fysiologisk aksepterbart bærerstoff eller en fysiologisk aksepterbart bærer.

15

Oppfinnelsen tilveiebringer videre purinderivater med formel (Id) som foreligger i isolert og rensset form.

20 Oppfinnelsen tilveiebringer videre anvendelse av en effektiv mengde av et purinderivat med formel (Id) for fremstilling av et medikament for behandling eller forebygging av en tilstand.

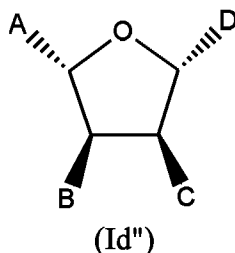
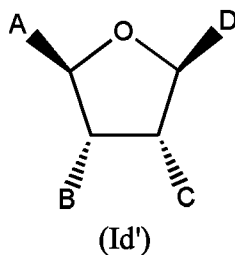
Oppfinnelsen tilveiebringer videre anvendelse av en effektiv mengde av et purinderivat med formel (Id) for fremstilling av et medikament for reduksjon av et dyrs metabolske.

25

Oppfinnelsen tilveiebringer videre anvendelse av en effektiv mengde av et purinderivat med formel (Id) for fremstilling av et medikament for beskyttelse av et dyrs hjerte mot myokardskader under kardioplegi.

30 Purinderivatene med formel (Id) kan foreligge i form av en enkelt enantiomer, for eksempel enantiomeren som representeres av enten (Id') eller formel (Id''):

16



5

hvor A, B, C og D er definert ovenfor for purinderivatene med formel (Id).

Et purinderivat med formel (Id') er den tilsvarende, motsatte enantiomer av et purinderivat med formel (Id'') dersom gruppe A i purinderivatet med formel (Id') er den samme som gruppe A i purinderivatet med formel (Id'') og dersom gruppe D i purinderivatet med formel (Id') er den samme som gruppe D i purinderivatet med formel (Id'').

Et purinderivat med formel (Id'') er den tilsvarende, motsatte enantiomer av et purinderivat med formel (Id') dersom gruppe A i purinderivatene med formel (Id'') er den samme som gruppe A i purinderivatet med formel (Id') og dersom gruppe D i purinderivatet med formel (Id'') er den samme som gruppe D i purinderivatet med formel (Id').

I en utførelse har purinderivatene med formel (Id) formelen (Id'), avbildet ovenfor, hvor A, B, C og D er som definert ovenfor for purinderivatene med formel (Id), og hvor purinderivatene med formel (Id') i det vesentlige er frie for den tilsvarende enantiomer, representert ved formel (Id'').

I en annen utførelse har purinderivatene med formel (Id) formelen (Id''), avbildet ovenfor, hvor A, B, C og D er definert ovenfor for purinderivatene med formel (Id), og hvor purinderivatene med formel (Id'') i det vesentlige er frie for den tilsvarende enantiomer, representert ved formel (Id').

I en utførelse foreligger purinderivatene med formel (Id) som en blanding av et purinderivat med formel (Id') og et purinderivat med formel (Id'') hvori mengden av purinderivatet med formel (Id') er høyere enn mengden av purinderivatet med formel (Id'').

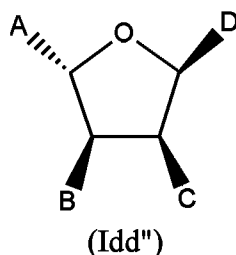
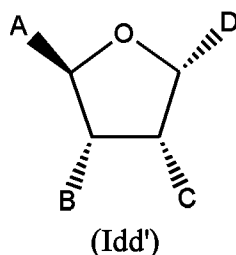
5

I en annen utførelse foreligger purinderivatene med formel (Id) som en blanding av et purinderivat med formel (Id') og et purinderivat med formel (Id'') hvori mengden av purinderivatet med formel (Id'') er høyere enn mengden av purinderivatet med formel (Id').

10

I en annen utførelse foreligger purinderivatene med formel (Id) som en racemisk blanding av et purinderivat med formel (Id') og et purinderivat med formel (Id'').

I en annen utførelse foreligger purinderivatene med formel (Id) foreligge i form av en enkelt enantiomer, for eksempel enantiomeren som representeres av enten formel (Idd') eller (Idd''):



20

hvor A, B, C og D er definert ovenfor for purinderivatene med formel (Id).

Et purinderivat med formel (Idd') er den tilsvarende, motsatte enantiomer av et purinderivat med formel (Idd'') dersom gruppe A i purinderivatet med formel (Idd') er den samme som gruppe A i purinderivatet med formel (Idd'') og dersom gruppe D i purinderivatet med formel (Idd') er den samme som gruppe D i purinderivatet med formel (Idd'').

25

Et purinderivat med formel (Idd'') er den tilsvarende, motsatte enantiomer av et purinderivat med formel (Idd') dersom gruppe A i purinderivatet med formel (Idd'') er den samme som gruppe A i purinderivatet med formel (Idd') og dersom gruppe D i purinderivatet med formel (Idd'') er den samme som gruppe D i purinderivatet med formel (Idd').

I en utførelse har purinderivatene med formel (Id) formelen (Idd'), avbildet ovenfor, hvori A, B, C og D er definert ovenfor for purinderivatene med formel (Id), og hvori purinderivatene med formel (Idd') i det vesentlige er frie for den tilsvarende, motsatte enantiomer.

I en annen utførelse har purinderivatene med formel (Id) formelen (Idd''), avbildet ovenfor, hvori A, B, C og D er definert ovenfor for purinderivatene med formel (Id), og hvori purinderivatene med formel (Idd'') i det vesentlige er frie for den tilsvarende, motsatte enantiomer.

I en annen utførelse foreligger purinderivatene med formel (Id) som en blanding av et purinderivat med formel (Idd') og et purinderivat med formel (Idd'') hvori mengden av purinderivatet med formel (Idd') er høyere enn mengden av purinderivatet med formel (Idd'').

I en ytterligere utførelse foreligger purinderivatene med formel (Id) som en blanding av et purinderivat med formelen (Idd') og et purinderivat med formel (Idd'') hvori mengden av purinderivatet med formel (Idd'') er høyere enn mengden av purinderivatet med formel (Idd').

I en annen utførelse foreligger purinderivatene med formel (Id) som en racmisk blanding av et purinderivat med formel (Idd') og et purinderivat med formel (Idd''). Et purinderivat med formel (Idd') er den tilsvarende andre anomer of et purinderivat med formel (Id') when gruppe A of purinderivatet med formel (Idd') er den samme som gruppe A av purinderivatet med formel (Id') og når gruppe D av purinderivatet med formel (Idd') er den samme som gruppe D of purinderivatet med formel (Id').

Et purinderivat med formel (Id') er den tilsvarende andre anomer av et purinderivat med formel (Idd') dersom gruppe A i purinderivatet med formel (Id') er den samme som

gruppe A i purinderivatet med formel (Idd') og dersom gruppe D i purinderivatet med formel (Id') er den samme som gruppe D i purinderivatet med formel (Idd').

Et purinderivat med formel (Idd'') er den tilsvarende andre anomer av et purinderivat med formel (Id'') dersom gruppe A i purinderivatet med formel (Idd'') er den samme som gruppe A i purinderivatet med formel (Id'') og dersom gruppe D i purinderivatet med formel (Idd'') er den samme som gruppe D i purinderivatet med formel (Id'').

Et purinderivat med formel (Id'') er den tilsvarende andre anomer av et purinderivat med formel (Idd'') dersom gruppe A i purinderivatet med formel (Id'') er den samme som gruppe A i purinderivatet med formel (Idd'') og dersom gruppe D i purinderivatet med formel (Id'') er den samme som gruppe D i purinderivatet med formel (Idd'').

I en utførelse har purinderivatene med formel (Id) formelen (Idd'), avbildet ovenfor, hvori A, B, C og D er som definert ovenfor for purinderivatene med formel (Id), og hvori purinderivatene med formel (Idd') i det vesentlige er frie for den tilsvarende andre anomer.

I en annen utførelse har purinderivatene med formel (Id) formelen (Idd''), avbildet ovenfor, hvori A, B, C og D er som definert ovenfor for purinderivatene med formel (Id), og hvori purinderivatene med formel (Idd'') i det vesentlige er frie for den tilsvarende andre anomer.

I en utførelse har purinderivatene med formel (Id) formelen (Id'), avbildet ovenfor, hvori A, B, C og D er som definert ovenfor for purinderivatene med formel (Id), og hvori purinderivatene med formel (Id') i det vesentlige er frie for den tilsvarende andre anomer.

I en annen utførelse har purinderivatene med formel (Id) formelen (Id''), avbildet ovenfor, hvori A, B, C og D er som definert ovenfor for purinderivatene med formel (Id), og hvori purinderivatene med formel (Id'') i det vesentlige er frie for den tilsvarende andre anomer.

I en utførelse foreligger purinderivatene med formel (Id) som en blanding av et purinderivat med formel (Id') og et purinderivat med formel (Idd') hvori mengden

purinderivatet med formel (Id') er høyere enn mengden av purinderivatet med formel (Idd').

I en annen utførelse foreligger purinderivatene med formel (Id) som en blanding av et purinderivat med formel (Id') og et purinderivat med formel (Idd') hvori mengden av purinderivatet med formel (Idd') er høyere enn mengden av purinderivatet med formel (Id').

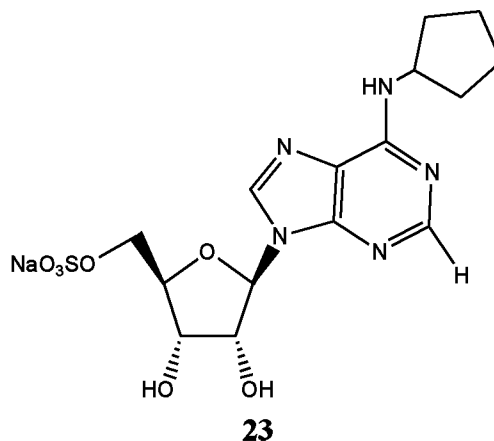
I en annen utførelse foreligger purinderivatene med formel (Id) som en blanding av like mengder av et purinderivat med formel (Id') og et purinderivat med formel (Idd').

I en utførelse foreligger purinderivatene med formel (Id) som en blanding av et purinderivat med formel (Id'') og et purinderivat med formel (Idd'') hvori mengden av purinderivatet med formel (Id'') er høyere enn mengden av purinderivatet med formel (Idd'').

I en annen utførelse foreligger purinderivatene med formel (Id) som en blanding av et purinderivat med formel (Id'') og et purinderivat med formel (Idd'') hvori mengden av purinderivatet med formel (Idd'') er høyere enn mengden av purinderivatet med formel (Id'').

I en annen utførelse foreligger purinderivatene med formel (Id) som en blanding av like mengder av et purinderivat med formel (Id'') og et purinderivat med formel (Idd'')

Purinderivatet illustrert nedenfor omfatter en forbindelse med formel (Id) :

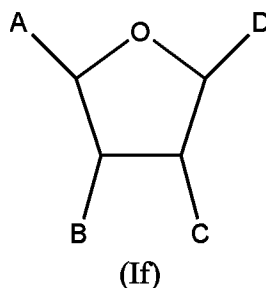


og farmasøytisk akseptable salter derav.

I en utførelse foreligger forbindelse **23** i form av natriumsaltet.

5 **5.2.6 PURINDERIVATENE MED FORMEL (If)**

Som angitt ovenfor omfatter foreliggende oppfinnelse purinderivater med formelen (If):



hvor A, B, C og D er som definert ovenfor for purinderivatene med formel (If), og A og B er *trans* relativ til hverandre; B og C er *cis* relativ til hverandre; og C og D er *cis* eller *trans* relativ til hverandre.

I en utførelse er R^2 –H.

I en annen utførelse er R^2 –halo.

I en annen utførelse er R^2 –Cl.

I en utførelse er C og D *cis* relativ til hverandre.

I en annen utførelse er C og D *trans* relativ til hverandre.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer også preparater som omfatter en effektiv mengde av et purinderivat med en formel (If) og et fysiologisk aksepterbart bærestoff eller en fysiologisk aksepterbart bærer.

Oppfinnelsen tilveiebringer videre purinderivater med formel (If) som foreligger i isolert og rensset form.

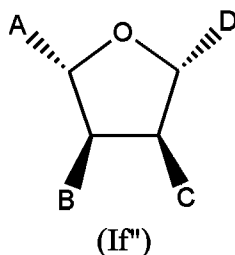
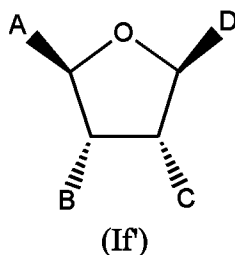
Oppfinnelsen omfatter videre anvendelse av en effektiv mengde av et purinderivat med formel (If) for fremstilling av et medikament for behandling eller forebygging av en tilstand.

- 5 Oppfinnelsen tilveiebringer videre anvendelse av en effektiv mengde av et purinderivat med formel (If) for fremstilling av et medikament for reduksjon av et dyrs metabolske aktivitet.

- 10 Oppfinnelsen tilveiebringer videre anvendelse av en effektiv mengde av et purinderivat med formel (If) for fremstilling av et medikament for beskyttelse av et dyrs hjerte mot myokardskader under kardioplegi.

Purinderivatene med formel (If) kan foreligge i form av en enkelt enantiomer, for eksempel enantiomeren representert ved enten formelen (If') eller formelen (If''):

15



20

hvor A, B, C og D er som definert ovenfor for purinderivatene med formel (If).

- Et purinderivat med formel (If') er den tilsvarende, motsatte enantiomer av et purinderivat med formel (If'') dersom gruppe A i purinderivatet med formel (If') er den samme som gruppe A i purinderivatet med formel (If'') og dersom gruppe D i purinderivatet med formel (If') er den samme som gruppe D i purinderivatet med formel (If'').
- 25

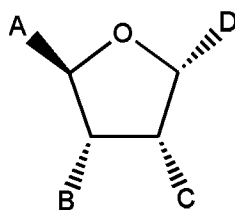
- Et purinderivat med formel (If'') er den tilsvarende, motsatte enantiomer av et purinderivat med formel (If') dersom gruppe A i purinderivatene med formel (If'') er den
- 30

samme som gruppe A i purinderivatet med formel (If') og dersom gruppe D i purinderivatet med formel (If'') er den samme som gruppe D i purinderivatet med formel (If').

- 5 I en utførelse har purinderivatene med formel (If) formelen (If'), avbildet ovenfor, hvori A, B, C og D er som definert ovenfor for purinderivatene med formel (If), og hvori purinderivatene med formel (If'') i det vesentlige er frie for den tilsvarende enantiomer, representert ved formel (If').
- 10 I en annen utførelse har purinderivatene med formel (If) formelen (If''), avbildet ovenfor, hvori A, B, C og D er som definert ovenfor for purinderivatene med formel (If), og hvori purinderivatene med formel (If'') i det vesentlige er frie for den tilsvarende enantiomer, representert ved formel (If').
- 15 I en utførelse foreligger purinderivatene med formel (If) som en blanding av et purinderivat med formel (If') og et purinderivat med formel (If'') hvori mengden purinderivatet med formel (If') er høyere enn mengden av purinderivatet med formel (If'').
- 20 I en annen utførelse foreligger purinderivatene med formel (If) som en blanding av et purinderivat med formel (If') og et purinderivat med formel (If'') hvori mengden av purinderivatet med formel (If'') er høyere enn mengden av purinderivatet med formel (If').
- 25 I en annen utførelse foreligger purinderivatene med formel (If) som en racemisk blanding av et purinderivat med formel (If') og et purinderivat med formel (If'').

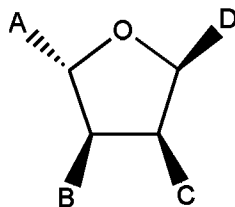
I en annen utførelse kan purinderivatene med formel (If) foreligge i form av en enkelt enantiomer, for eksempel blir enantiomeren representert ved enten formel (Iff'') eller (Iff'''):

30



24

(Iff')



(Iff'')

- 5 hvori A, B, C og D er som definert ovenfor for purinderivatene med formel (If).

Et purinderivat med formel (Iff') er den tilsvarende, motsatte enantiomer av et purinderivat med formel (Iff'') dersom gruppe A av purinderivatet med formel (Iff') er den samme som gruppe A i purinderivatet med formel (Iff'') og dersom gruppe D i purinderivatet med formel (Iff') er den samme som gruppe D i purinderivatet med formel (Iff'').

Et purinderivat med formel (Iff'') er den tilsvarende, motsatte enantiomer av et purinderivat med formel (Iff') dersom gruppe A i purinderivatet med formel (Iff'') er den samme som gruppe A i purinderivatet med formel (Iff') og dersom gruppe D i purinderivatet med formel (Iff'') er den samme som gruppe D i purinderivatet med formel (Iff').

I en utførelse har purinderivatene med formel (If) formelen (Iff'), avbildet ovenfor, hvori A, B, C og D er som definert ovenfor for purinderivatene med formel (If), og hvori purinderivatene med formel (Iff') i det vesentlige er frie for den tilsvarende, motsatte enantiomer.

I en annen utførelse har purinderivatene med formel (If) formelen (Iff''), avbildet ovenfor, hvori A, B, C og D er som definert ovenfor for purinderivatene med formel (If), og hvori purinderivatene med formel (Iff'') i det vesentlige er frie for den tilsvarende, motsatte enantiomer.

I en annen utførelse foreligger purinderivatene med formel (If) som en blanding av et purinderivat med formel (Iff') og et purinderivat med formel (Iff'') hvori mengden av purinderivatet med formel (Iff') er høyere enn mengden av purinderivatet med formel (Iff'').

I en ytterligere utførelse foreligger purinderivatene med formel (If) som en blanding av et purinderivat med formel (Iff[°]) og et purinderivat med formel (Iff^{''}) hvori mengden av purinderivatet med formel (Iff^{''}) er høyere enn mengden av purinderivatet med formel (Iff[°]).

5

I en annen utførelse foreligger purinderivatene med formel (If) som en racemisk blanding av et purinderivat med formel (Iff[°]) og et purinderivat med formel (Iff^{''}).

Et purinderivat med formel (Iff[°]) er den tilsvarende andre anomer av et purinderivat med formel (If) dersom gruppe A i purinderivatet med formel (Iff[°]) er den samme som gruppe A i purinderivatet med formel (If) og dersom gruppe D i purinderivatet med formel (Iff[°]) er den samme som gruppe D i purinderivatet med formel (If).

Et purinderivat med formel (If[°]) er den tilsvarende andre anomer av et purinderivat med formel (Iff[°]) dersom gruppe A i purinderivatet med formel (If[°]) er den samme som gruppe A i purinderivatet med formel (Iff[°]) og dersom gruppe D i purinderivatet med formel (If[°]) er den samme som gruppe D i purinderivatet med formel (Iff[°]).

Et purinderivat med formel (Iff^{''}) er den tilsvarende andre anomer av et purinderivat med formel (If^{''}) dersom gruppe A i purinderivatet med formel (Iff^{''}) er den samme som gruppe A i purinderivatet med formel (If^{''}) og dersom gruppe D i purinderivatet med formel (Iff^{''}) er den samme som gruppe D i purinderivatet med formel (If^{''}).

Et purinderivat med formel (If^{''}) er den tilsvarende andre anomer av et purinderivat med formel (Iff^{''}) dersom gruppe A i purinderivatet med formel (If^{''}) er den samme som gruppe A i purinderivatet med formel (Iff^{''}) og dersom gruppe D i purinderivatet med formel (If^{''}) er den samme som gruppe D i purinderivatet med formel (Iff^{''}).

I en utførelse har purinderivatene med formel (If) formelen (Iff[°]), avbildet ovenfor, hvori A, B, C og D er som definert ovenfor for purinderivatene med formel (If), og hvori purinderivatene med formel (Iff[°]) i det vesentlige er frie for den tilsvarende andre anomer.

I en annen utførelse har purinderivatene med formel (If) formelen (Iff^{''}), avbildet ovenfor, hvori A, B, C og D er som definert ovenfor for purinderivatene med formel

35

(If), og hvori purinderivatene med formel (Iff'') i det vesentlige er frie for den tilsvarende andre anomer.

I en utførelse har purinderivatene med formel (If) formelen (If'), avbildet ovenfor, hvori
 5 A, B, C og D er som definert ovenfor for purinderivatene med formel (If), og hvori purinderivatene med formel (If') i det vesentlige er frie for den tilsvarende andre anomer.

I en annen utførelse har purinderivatene med formel (If) formelen (If''), avbildet
 10 ovenfor, hvori A, B, C og D er som definert ovenfor for purinderivatene med formel (If), og hvori purinderivatene med formel (If'') i det vesentlige er frie for den tilsvarende andre anomer.

I en utførelse foreligger purinderivatene med formel (If) som en blanding av et
 15 purinderivat med formel (If') og et purinderivat med formel (Iff') hvori mengden purinderivatet med formel (If') er høyere enn mengden av purinderivatet med formel (Iff').

I en annen utførelse foreligger purinderivatene med formel (If) som en blanding av et
 20 purinderivat med formel (If') og et purinderivat med formel (Iff') hvori mengden av purinderivatet med formel (Iff') er høyere enn mengden av purinderivatet med formel (If').

I en annen utførelse foreligger purinderivatene med formel (If) som en blanding av like
 25 mengder av et purinderivat med formel (If') og et purinderivat med formel (Iff').

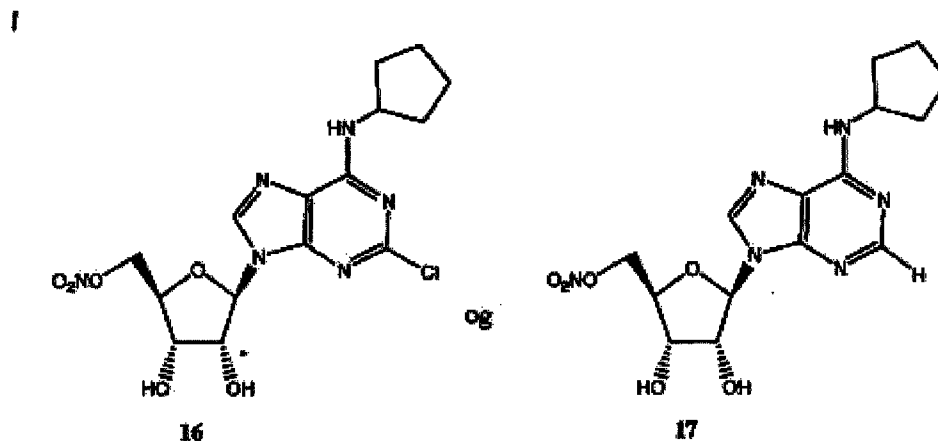
I en utførelse foreligger purinderivatene med formel (If) som en blanding av et
 purinderivat med formel (If'') og et purinderivat med formel (Iff'') hvori mengden
 30 purinderivatet med formel (If'') er høyere enn mengden av purinderivatet med formel (Iff'').

I en annen utførelse foreligger purinderivatene med formel (If) som en blanding av et
 purinderivat med formel (If'') og et purinderivat med formel (Iff'') hvori mengden
 purinderivatet med formel (Iff'') hvori mengden av purinderivatet med formel (If'').

I en annen utførelse foreligger purinderivatene med formel (If) som en blanding av like mengder av et purinderivat med formel (If'') og et purinderivat med formel (Iff'').

Illustrative purinderivater med formel (If) omfatter forbindelsene opplistet nedenfor:

5



og farmasøytisk akseptable salter derav.

10 5.3 METODER FOR FREMSTILLING AV PURINDERIVATENE

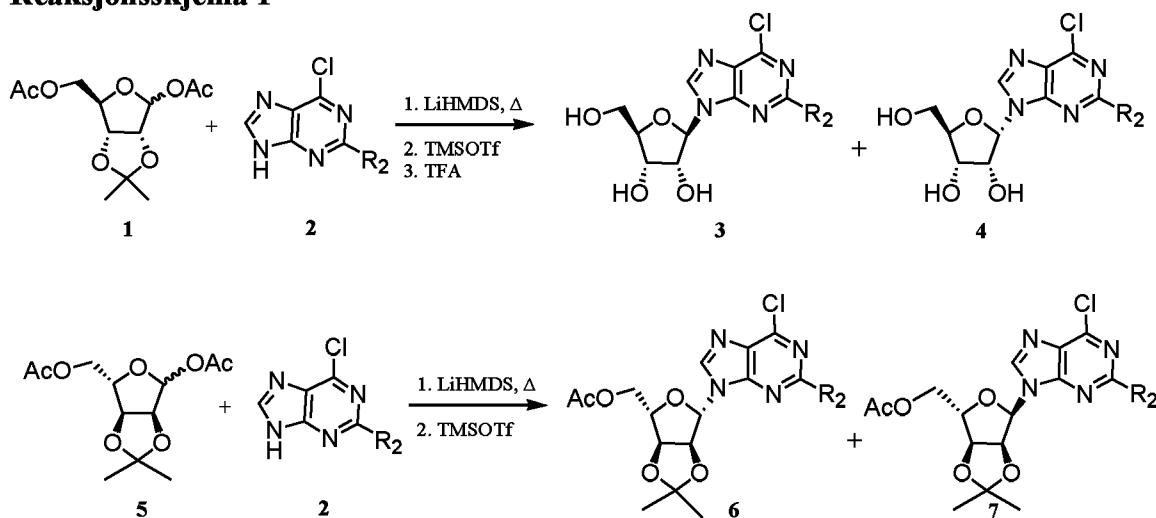
Purinderivatene kan fremstilles ifølge publiserte fremgangsmåter (se Cristalli et al., *J. Med. Chem.* 35:2363-2369, 1992; Cristalli et al., *J. Med. Chem.* 37:1720-1726, 1994; Cristalli et al., *J. Med. Chem.* 38:1462-1472, 1995; and Camaioni et al., *Bioorg. Med. Chem.* 5:2267-2275, 1997), eller ved anvendelse av syntesefremgangsmåtene som er skissert nedenfor i reaksjonsskjemaene 1, 2, 4 og 6.

15

Reaksjonsskjema 1 viser fremgangsmåter for fremstilling av nukleosinintermediater som er anvendbare for fremstilling av purinderivatene med formlene (Ib), (Id) og (If).

20

25

Reaksjonsskjema 1

hvor R₂ er som definert ovenfor for urinerviatene med formlene (Ib), (Id) og (If).

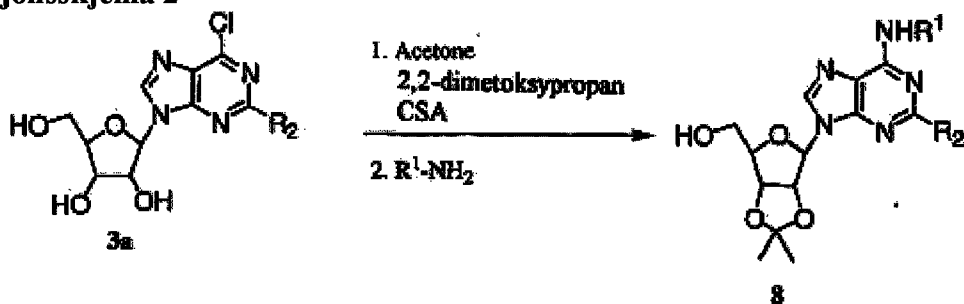
5

Den beskyttede riboseforbindelse med formel 1 kan kobles til en purinforbindelse med formel 2 ved anvendelse av litsium heksametyldisilazid og trimetylsilyltriflat, fulgt av acetondifjerning ved anvendelse av trifluoreddiksyre for erholdelse av nukleosidintermediater med formel 3 og deres tilsvarende andre anomerer med formel 4. På tilsvarende måte kan ribosediazetatet med formel 5 kobles til en forbindelse med formel 2 ved anvendelse av litsium heksametyldisilazid og trimetylsilyltriflat for erholdelse av acetonide-beskyttede nukleosidintermediater med formel 6 og deres tilsvarende andre anomerer med formel 7.

10

Reaksjonsskjema 2 viser en fremgangsmåte som var anvendbar for fremstilling av adenosinintermediatene med formel 8, som er anvendbare for fremstilling av purinderivatene med formlene (Ib) og (Id).

15

Reaksjonsskjema 2

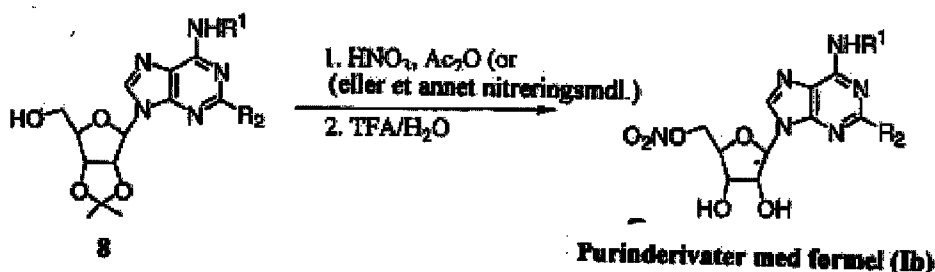
20

hvor R¹ og R² er som definert ovenfor heri for purinderivatene.

6-kloradenosinderivatet overføres til 2',3'-acetonidet ved anvendelse av aceton og 2,2-dimetoksypropan i nærvær av kamfersulfonsyre. Acetonidet kan videre derivatiseres ved anvendelse av et amin med formel R^1-NH_2 i nærvær av base for erholdelse av forbindelset med formel 8.

Metodologi som er anvendbar for fremstilling av purinderivatene med formel (Ib) er beskrevet i reaksjonsskjema 4.

Reaksjonsskjema 4

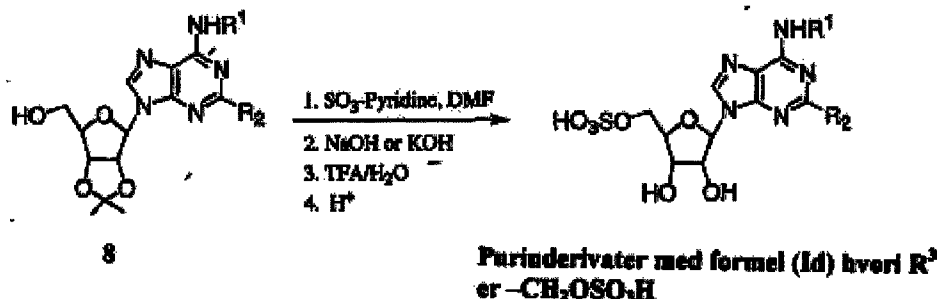


hvor R^1 og R^2 er som definert ovenfor heri for purinderivatene med formel (Ib).

Adenosinintermediatene med formel 8 kan overføres til 5'-nitratanalogene ved anvendelse av salpetersyre i nærvær av eddiksyreanhydrid eller andre nitreringsmidler, for eksempel $MsCl/ONO_3$ eller nitrosonium tetrafluoroborat. Acetonidfjerning ved anvendelse av TFA/vann gir purinderivater med formel (Ib).

Metodologi som er anvendbar for fremstilling av purinderivatene med formel (Id) hvor R^3 er $-CH_2OSO_3H$ er skissert i reaksjonsskjema 6.

Reaksjonsskjema 6



- 5 hvori R^1 og R^2 er definert ovenfor heri for purinderivatene med formel (Id).

Adenosinintermediatene med formel 8 kan behandles med svovel trioksid-pyridinkompleks for erholdelse av det tilsvarende 5'-sulfonsyre-pyridinsaltintermediat. Pyridinsaltintermediatet kan så nøytraliseres ved anvendelse av NaOH eller KOH, fulgt
 10 av acetonidfjerning ved anvendelse av TFA/vann for erholdelse av det tilsvarende natrium- eller henholdsvis kaliumsalt av purinderivatene med formel (Id) hvori R^3 er $-\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{H}$. Behandling av natrium- eller kaliumsaltet med kraftig vandig syre, for eksempel svovelsyre eller saltsyre, gir purinderivatene med formel (Id) hvori R^3 er $-\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{H}$.

15

5.4 TERAPEUTISK/PROFILAKTISK TILFØRSEL OG PREPARATER IFØLGE OPPFINNELSEN

Grunnet sin aktivitet er purinderivatene på fordelaktig måte anvendbare i
 20 veterinærmedisin og humanmedisin. Som beskrevet ovenfor er purinderivatene anvendbare for: (i) behandling eller forebyggelse av en tilstand i et dyr med behovet for dette, (ii) reduksjon av et dyrs metabolske aktivitet eller (iii) beskyttelse av et dyrs hjerte mot myokardskader under kardioplegi.

25 Ved tilførsel til et dyr kan purinderivatene tilføres som en bestanddel av et preparat som omfatter et fysiologisk aksepterbart bærestoff eller en fysiologisk aksepterbart bærer. De her beskrevne preparatene, som omfatter et purinderivat, kan tilføres oralt.

Purinderivatene kan også tilføres ved hvilken som helst annen egnet tilførselsvei, for eksempel ved infusjon eller bolusinjeksjon, ved absorpsjon gjennom et epitellag eller
 30 mukokutanøse lag (for eksempel orale, rektale eller intestinale slimhinner), og tilføres sammen med et annet biologisk aktivt middel. Tilførselen kan være systemisk eller

lokal. Forskjellige kjente tilførselssystemer, innbefattet innkapsling i liposomer, mikropartikler, mikrokapsler og kapsler kan anvendes.

Tilførselsfremgangsmåter omfatter, men er ikke begrenset til, intradermal, intramuskulær, intraperitoneal, intravenøs, subkutan, intranasal, epidural, oral, sublingual, intracerebral, intravaginal, transdermal og rektal tilførsel, tilførsel ved innhalling eller topisk tilførsel, fortrinnsvis til ører, nese, øyne eller hud. I noen tilfeller vil tilførselen føre til frigjøring av purinderivatene i blodstrømmen. Tilførselsmåten kan overlates til den behandlende leges vurderinger.

I en utførelse tilføres purinderivatene oralt. I en annen utførelse tilføres purinderivatene intravenøst.

I en annen utførelse kan purinderivatene dersom de anvendes for reduksjon av et dyrs metabolske aktivitet tilføres ved kontinuerlig intravenøs infusjon.

I andre utførelser kan det være ønskelig å tilføre purinderivatene lokalt. Dette kan for eksempel, men ikke begrenset til, oppnås ved lokal infusjon under kirurgiske inngrep, topisk tilførsel, for eksempel i forbindelse med en sårbandasje etter kirurgiske inngrep, ved injeksjon, ved hjelp av et kateter, ved hjelp av en stikkpille eller et klyster eller ved hjelp av et implantat, hvor implantatet består av et porøst, ikke-porøst eller gelatinøst materiale, innbefattet membraner, for eksempel sialastiske membraner, eller fibere.

I visse utførelser kan det være ønskelig å innføre purinderivatene i sentralnervesystemet, sirkulasjonssystemet eller mage-tarmkanalen via enhver egnet tilførselsvei, innbefattet intraventrikulært, ved intratekal injeksjon, paraspinalinjeksjon, epiduralinjeksjon, i et klyster og ved injeksjon nær en perifer nerve. Intraventrikulær injeksjon kan forenkles ved for eksempel anvendelse av et intraventrikulært kateter koblet til et reservoar, for eksempel et Ommaya-reservoar.

Pulmonær tilførsel kan også benyttes, for eksempel ved anvendelse av en innhallator eller nebuliastor, og utforming med et aerosoldannende middel, eller ved perfusjon i en fluorkarbonbasert eller syntetisk pulmonal sulfaktant. I disse utførelser kan purinderivatene utformes som en stikkpille med tradisjonelle bindemidler og eksipienser, for eksempel triglycider.

I en annen utførelse kan purinderivatene tilføres i en bærer, fortrinnsvis et liposom (se Langer, *Science* 249:1527-1533 (1990) og Treat eller prevent *et al.*, *Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer* 317-327 and 353-365 (1989)).

- 5 I ytterligere en utførelse kan purinderivatene tilføres i et system for kontrollert frigjøring eller et system for vedvarende frigjøring (se for eksempel Goodson, i *Medical Applications of Controlled Release*, *supra*, vol. 2, pp. 115-138 (1984)). Andre systemer for kontrollert eller vedvarende frigjøring som diskuteres i oversikten av Langer, *Science* 249:1527-1533 (1990) kan utføres. I en utførelse kan en pumpe anvendes
- 10 (Langer, *Science* 249:1527-1533 (1990); Sefton, *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.* 14:201 (1987); Buchwald *et al.*, *Surgery* 88:507 (1980); and Saudek *et al.*, *N. Engl. J Med.* 321:574 (1989)). I en annen utførelse kan polymere materialer anvendes (se *Medical Applications of Controlled Release* (Langer and Wise eds., 1974); *Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance* (Smolen and Ball eds., 1984);
- 15 Ranger and Peppas, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 2:61 (1983); Levy *et al.*, *Science* 228:190 (1985); During *et al.*, *Ann. Neural.* 25:351 (1989) og Howard *et al.*, *J. Neurosurg.* 71:105 (1989)).

- I ytterligere en utførelse kan et system for kontrollert eller vedvarende frigjøring
- 20 plasseres i nærheten av et mål for purinderivatene, for eksempel ryggmargen, hjernen, kolon, hud, hjerte, lunge eller mage-tarmkanal, slik at kun en fraksjon av den systemiske dose er nødvendig.

- De her beskrevne preparater kan om ønskelig omfatte en egnet mengde av en
- 25 fysiologisk akseptbar eksipiens.

- Slike fysiologisk akseptable eksipienter kan være væsker, for eksempel som vann og oljer, innbefattet væsker med opphav i petroleum, dyr og planter samt syntetiske oljer, for eksempel peanøttolje, soyabønneolje, mineralolje, sesamolje og lignende. De
- 30 fysiologisk aksepterbare eksipiensene kan være saltvann, akasiegummi, gelatin, stivelsesmasse, talkeum, keratin, kolloidal kiesegel, urea og lignende. I tillegg kan tilleggsmidler, stabiliseringsmidler, tykningsmidler, smøremidler og fargestoffer anvendes. I en utførelse er de fysiologisk aksepterbare eksipiensene sterile når de tilføres til et dyr. Vann kan være en spesielt anvendbar eksipiens dersom purinderivatet
- 35 tilføres intravenøst. Saltløsninger og vandige dektrose- og glyserolløsninger kan også benyttes som flytende eksipienser, fortrinnsvis for injiserbare løsninger. Egnede

fysiologisk aksepterbare eksipienser omfatter også stivelse, glykose, laktose, sukrose, gelatin, malt, ris, mel, kalk, kieselgel, natriumstearat, glyserolmonostearat, talkeum, natriumklorid, skummet tørrmelk, glycerol, propylen, glykol, vann, etanol og lignende. De her beskrevne preparater kan også om ønskelig inneholde mindre mengder av

5 tykningsmidler, emulsjonsmidler eller pH-buffrende midler.

De her beskrevne preparater kan være utformet som løsninger, suspensjoner, emulsjoner, tabletter, piller, partikler, kapsler, kapsler som inneolder væsker, pulvere, utforminger for vedvarende frigjøring, stikkpiller, emulsjoner, aerosoler, sprayer,

10 suspensjoner eller hvilken som helst annen form som er egnet for bruk. I en utførelse foreligger preparatet i form av en kapsel. Andre eksempler på egnede fysiologisk aksepterbare eksipienser er beskrevet i *Remington's Pharmaceutical Sciences* 1447-1676 (Alfonso R. Gennaro eds., 19th ed. 1995), som inkorporeres heri ved referanse.

15 I en utførelse utformes purinderivatene i samsvar med rutinemessige fremgangsmåter som et preparat tilpasset oral tilførsel til mennesker. Preparater for oral tilførsel kan for eksempel foreligge i form av tabletter, drops, vandige eller oljebaserte suspensjoner, granulater, pulvere, emulsjoner, kapsler, siruper eller eliksirer. Preparater for oral

20 tilførsel kan inneholde et eller flere midler, for eksempel søtningsmidler som fruktose, aspartan eller sakkarin, smaksstoffer som peppermynte, vintergrønnolje eller kirsebær, fargestoffer og konserveringsmidler for erholdelse av et farmasøytisk inntakbart preparat. Dersom preparatene foreligger i tablett- eller pilleform kan de videre belegges for å forsinke disintegrasjonen og absorpsjonen i mage-tarmkanalen, slik at det oppnås

25 en vedvarende virkning over et forlenget tidsrom. Selektivt permeable membraner som omgir et osmotisk aktivt middel som driver purinderivatet er også egnede for preparater for oral tilførsel. I disse siste plattformene kan væske fra kapselens omgivelser trekkes inn av den drivende forbindelsen, som sveller opp og skyver middelet eller

30 middelpreparatet ut gjennom en åpning. Disse tilførselsplattformene kan gi en i det vesentlige nulte ordens tilførselsprofil, i motsetning til profilene med topper som oppnås med utforminger for umiddelbar frigjøring. Et tidsforsinkende materiale som glycerolmonostearat eller glycerolstearat kan også anvendes. Orale preparater kan

35 omfatte standardeksipienser som mannitol, laktose, stivelse, magnesiumstearat, natriumsakkarin, cellulose og magnesiumkarbonat. I en utførelse er eksipiensene av farmasøytisk renhet.

I en annen utførelse kan purinderivatene utformes for intravenøs tilførsel. Preparater for intravenøs tilførsel omfatter typisk steril, isoton vandig buffer. Om nødvendig kan preparatene også omfatte et solybiliseringsmiddel. Preparater for intravenøs tilførsel kan om ønskelig omfatte et lokalbedøvende middel, for eksempel lignokain, for å redusere smerten i injeksjonssetet. Bestanddelene i preparatene kan foreligge enten hver for seg eller sammenblandet i en enhetsdoseform, for eksempel som et tørt, frysetørket pulver eller vannfritt konsentrat i en magnetisk forseglet beholder, for eksempel en ampulle eller en pute, som angir mengden av purinderivatet. Dersom purinderivatene skal tilføres ved infusjon kan de for eksempel tilsettes til en infusjonssflaske som inneholder sterilt vann eller saltvann av farmasøytisk renhet. Dersom purinderivatene skal tilføres ved injeksjon kan de leveres med en ampulle med sterilt vann for injeksjon eller saltvann, slik at bestanddelene kan sammenblandes før tilførselen.

Purinderivatene kan tilføres ved midler for kontrollert frigjøring eller vedvarende frigjøring eller ved hjelp av tilførselsinnretninger som er velkjente blant gjennomsnittsfagfolk. Slike doseringsformer kan anvendes for å oppnå kontrollert eller vedvarende frigjøring av en eller flere aktive bestanddeler ved anvendelse av for eksempel hydropropylmetylcellulose, andre polymere støttemidler, geler, permeable membraner, osmotiske systemer, flerlagsbelegg, mikropartikler, liposomer, mikrokuler eller en kombinasjon av slike for erholdelse av den ønskede frigjøringsprofil i varierende andeler. Egnede utforminger for kontrollert eller vedvarende frigjøring som er kjente blant fagfolk, innbefattet utformingene som er beskrevet heri, kan lett utvelges for anvendelse med de aktive bestanddeler ifølge oppfinnelsen. Oppfinnelsen omfatter således enhetsdoseformer som er egnet for oral tilførsel, for eksempel, men ikke begrenset til, tabletter, kapsler, gelkapsler og kapletter som er tilpasset kontrollert eller vedvarende frigjøring.

I en utførelse omfatter et preparat for kontrollert eller vedvarende frigjøring en minimal mengde av et purinderivat for behandling eller forebyggelse av tilstanden på minimal tid. Fordeler med preparater for kontrollert eller vedvarende frigjøring omfatter forlenget aktivitet av medikamentet, redusert doseringshyppighet og at pasienten i større grad aksepterer behandlingen. I tillegg kan preparatet for kontrollert eller vedvarende frigjøring på fordelaktig måte påvirke tidspunktet for påbegynt virkning eller andre egenskaper, for eksempel nivået i blodet av purinderivatet, og kan således redusere forekomsten av uheldige bivirkninger.

Preparater for kontrollert eller vedvarende frigjøring kan i utgangspunktet frigjøre en mengde av et purinderivat som raskt gir den ønskede terapeutiske eller profilaktiske virkning, og så gradvis og kontinuerlig frigjøre andre mengder av purinderivatet som opprettholder dette nivået av terapeutisk eller profilaktisk virkning over et forlenget tidsrom. For å opprettholde et konstant nivå av purinderivatet i kroppen kan

5 purinderivatet frigjøres fra doseringsformen med en hastighet som vil erstatte en mengde av purinderivatet som metaboliseres og utskilles fra kroppen. Kontrollert eller vedvarende frigjøring av en aktiv bestanddel kan stimuleres ved forskjellige betingelser, for eksempel, men ikke begrenset til, endret pH, endret temperatur, endret konsentrasjon

10 eller tilgjengelighet av enzymer, endret konsentrasjon eller tilgjengelighet av vann eller andre fysiologiske betingelser eller forbindelser.

Mengden av purinderivatet som effektivt behandler eller forebygger tilstanden, reduserer et dyrs metabolske aktivitet eller beskytter et dyrehjerte mot myokardskader under kardioplegi kan fastsettes ved standardkliniske teknikker. I tillegg kan in vitro-

15 eller in vivo-analyser om ønskelig benyttes som en hjelp til å fastsette optimale doseringsområder. Den nøyaktige dose som skal benyttes kan også avhenge av tilførselsveien, og omfanget av tilstanden som skal behandles, og kan fastsettes utfra helsepersonellens vurdering egnede effektive doseringsmengder ligger imidlertid i

20 området fra tilnærmet 10 µg til og med 5 g ca hver 4. time, selv om de typisk er tilnærmet 500 mg eller lavere hver 4. time. I en utførelse er den effektive dosen på ca 0.01 mg, 0.5 mg, ca 1 mg, ca 50 mg, ca 100 mg, ca 200 mg, ca 300 mg, ca 400 mg, ca 500 mg, ca 600 mg, ca 700 mg, ca 800 mg, ca 900 mg, ca 1 g, ca 1.2 g, ca 1.4 g, ca 1.6 g, ca 1.8 g, ca 2.0 g, ca 2.2 g, ca 2.4 g, ca 2.6 g, ca 2.8 g, ca 3.0 g, ca 3.2 g, ca 3.4 g, ca

25 3.6 g, ca 3.8 g, ca 4.0g, ca 4.2 g, ca 4.4 g, ca 4.6 g, ca 4.8 g og ca 5.0 g, hver 4. time. Ekvivalente doser kan tilføres over forskjellige tidsrom, innbefattet, men ikke begrenset til, ca hver 2 time, ca hver 6 time, ca hver 8 time, ca hver 12 time, ca hver 24 time, ca hver 36 time, ca hver 48 time, ca hver 72 time, ca hver uke, ca hver andre uke, ca hver tredje uke, ca hver måned og ca hver annen måned.

30

Antall doser og doseringshyppigheten som tilsvarer en fullført behandling kan fastsettes utfra helsepersonellens vurderinger. De effektive doseringsmengder som var beskrevet heri viser til de totale tilførte mengder, det vil si at dersom mer enn et purinderivat tilføres tilsvarer de effektive doseringsmengder den totale tilførte mengde.

35 Mengden av et purinderivat som er effektiv for behandling eller forebyggelse av en tilstand eller for beskyttelse av et dyrehjerte mot myokardskader under kardioplegi,

ligger typisk i området fra ca 0.01 mg/kg til ca 100 mg/kg kroppsvekt per dag, i en utførelse, fra ca 0.1 mg/kg til ca 50 mg/kg kroppsvekt per dag, og i en annen utførelse, fra ca 1 mg/kg til ca 20 mg/kg kroppsvekt per dag.

- 5 Mengden av et purinderivat som effektivt reduserer et dyrs metabolske aktivitet ligger typisk i området fra ca 1 µg/kg til ca 10 mg/kg, i en utførelse, fra ca 0.1 mg/kg til ca 5 mg/kg kroppsvekt per dag, og i en annen utførelse, fra ca 1 mg/kg til ca 2.5 mg/kg kroppsvekt per dag.
- 10 Dersom et purinderivat er en bestanddel av en løsning som er anvendbar for opprettholdelse av et organs levedyktighet *eks vivo*, er konsentrasjonen av purinderivatet i løsningen som effektivt opprettholder organets levedyktighet mellom ca 1 nM til ca 1 mM.
- 15 Purinderivatene kan analyseres *in vitro* or *in vivo* for den ønskede terapeutiske eller profilaktiske aktivitet før anvendelse i mennesker. Dyremodellsystemer kan anvendes for å vise sikkerhet og effektivitet.

- 20 De her beskrevne fremgangsmåter for behandling eller forebygging av en tilstand, reduksjon av et dyrs metabolske aktivitet eller beskyttelse av et dyrs hjerte mot myokardskader under kardioplegi kan videre omfatte tilførsel av et annet terapeutisk middel til dyret som tilføres et purinderivat. I en utførelse tilføres det andre terapeutiske middel i en effektiv mengde.

- 25 Effektive mengder av de andre terapeutiske midlene er velkjente blant fagfolk. Det ligger imidlertid godt innenfor den erfarne fagpersons evner å bestemme det optimale effektive doseringsområdet for det andre terapeutiske middel. I en utførelse av oppfinnelsen er den effektive mengden av purinderivatet dersom et annet terapeutisk middel tilføres til et dyr lavere enn hva den effektive mengde ville vært som det andre terapeutiske middel ikke ble tilført. Uten ønske om å være bundet av en gitt teori antas
- 30 det i dette tilfellet at purinderivatene og det andre terapeutiske middel virker synergistisk.

I en utførelse er det andre terapeutiske middel et antiinflammatorisk middel.

- 35 Eksempler på anvendbare antiinflammatoriske midler omfatter, men er ikke begrenset til, adrenokortikosteroider, for eksempel kortisol, kortison, fluorkortison, prednison,

prednisolon, 6a-metylprednisolon, triamcinolon, betametason og deksametason; og ikke-steroid anti-inflammatoriske midler (NSAID'er), som aspirin, acetaminofen, indometacin, sulindac, tolmetin, diklofenac, ketorolac, ibuprofen, naproksen, flurbiprofen, ketoprofen, fenoprofen, oksaprozin, mefenaminsyre, meklofenaminsyre, piroksikam, meloksikam, nabumeton, rofekoksib, celekoksib, etodolac og nimesulid.

I en annen utførelse er det andre terapeutiske middel et antidiabetisk middel. Eksempler på anvendbare antidiabetiske midler omfatter, men er ikke begrenset til, glukagoner; somatostatin; diazoksid; sulfonylureaer, for eksempel tolbutamid, acetoheksamid, tolazamid, klorpropamid, glybenklamid, glipizid, gliklazid og glimepirid; insulin sekretagoger, for eksempel repaglinid, og nateglinid; biguanider, som metformin og fenformin; tiazolidinedioner, som pioglitazon, rosiglitazon og troglitazon; og α -glukosidaseinhibitorer, som er akarbose og miglitol.

I en ytterligere utførelse er det andre terapeutiske middel et middel mot hjerte-karsykdommer, eksempler på anvendbare midler mot hjerte-karsykdommer omfatter, men er ikke begrenset til, karnitin; tiamin; lidokain; amiodaron; prokainamid; meksiletin; bretyliumtosylat; propranolol; sotalol og muskarinreceptorantagonister, som atropin, skopolamin, homatropin, tropikamid, pirenzipin, ipratropium, tiotropium og tolterodin.

I en annen utførelse er det andre terapeutiske middel et analgetisk middel. Eksempler på anvendbare analgetiske midler omfatter, men er ikke begrenset til, buprenorfin, meperidin, morfin, kodein, propoksyfen, fentanyl, sufentanil, etorfin hydroklorid, hydrokodon, hydromorfon, nalbufin, butorfanol, oksykodon, aspirin, ibuprofen, naproksen-natrium, acetaminofen, xylazin, metedomidin, karprofen, naprosin og pentazocin.

I en spesifikk utførelse, er det andre terapeutiske middel buprenorfin.

I en annen utførelse er det andre terapeutiske middel et antiemetisk middel. Eksempler på anvendbare antiemetiske midler omfatter, men er ikke begrenset til, metoklopramid, domperidon, proklorperazin, prometazin, klorpromazin, trimetobenzamid, ondansetron, granisetron, hydroksyzin, acetylleucin monoetanolamin, alizaprid, azasetron, benzkinamid, bietanautin, bromoprid, bukлизin, kleboprid, cyklizin, dimenhydrinat, difenidol, dolasetron, meklizin, metallatal, metopimazin, nabilon, oksyperndyl, pipamazin, skopolamin, sulpirid, tetrahydrokannabinol, tietylperazin, tioproperazin, tropisetron eller blandinger av disse.

Et purinderivat og det andre terapeutiske middel kan virke additivt eller, i en utførelse, synergistisk. I en utførelse tilføres et purinderivat samtidig med et annet terapeutisk middel. I en utførelse kan et preparat som omfatter en effektiv mengde av et

5 purinderivat og en effektiv mengde av et annet terapeutisk middel tilføres. Alternativt kan et preparat som omfatter en effektiv mengde av et purinderivat og et annet preparat som omfatter en effektiv mengde av et annet terapeutisk middel tilføres samtidig. I en annen utførelse tilføres en effektiv mengde av et purinderivat før eller etter tilførsel av en effektiv mengde av et annet terapeutisk middel. I denne utførelsen tilføres

10 purinderivatet mens det andre terapeutiske middel utøver sin terapeutiske virkning, eller det andre terapeutiske middel tilføres mens purinderivatet utøver sin forebyggende eller terapeutiske virkning for behandling eller forebyggelse av en tilstand, reduksjon av et dyrs metabolske aktivitet eller beskyttelse av et dyrehjerte mot myokardskader under kardiogi.

15 Et preparat ifølge oppfinnelsen kan fremstilles ved anvendelse av en fremgangsmåte som omfatter sammenblanding av et purinderivat og et fysiologisk aksepterbart bærestoff eller en fysiologisk aksepterbart eksipiens. Sammenblandingen kan oppnås ved anvendelse av fremgangsmåter som er velkjente for sammenblanding av en

20 forbindelse (eller et salt) og et fysiologisk aksepterbart bærestoff eller en fysiologisk aksepterbart eksipiens.

5.6 TERAPEUTISKE ELLER PROFILAKTISKE ANVENDELSER AV PURINDERIVATENE

5.6.1 BEHANDLING ELLER FOREBYGGELSE AV EN HJERTE-KARSYKDOM

25 En hjerte-karsykdom kan behandles eller forebygges ved tilførsel av en effektiv mengde

30 av et purinderivat.

Hjerte-karsykdommer som kan behandles eller forebygges ved tilførsel av en effektiv mengde av et purinderivat omfatter, men er ikke begrenset til, arterosklerose, kongestiv hjertesvikt, sirkulatorisk sjokk, kardiomyopati, hjertetransplantasjon, kardioklegi og

35 hjertearytmi.

I en utførelse er hjerte-karsykdommen en hjertearytmi, kongestiv hjertesvikt, sirkulatorisk sjokk eller kardiomyopati.

I en utførelse er hjertaarytmien en takykardi eller en takykardi en idiosyncrasyk arytmi.

5

I en annen utførelse er fremgangsmåtene for behandling av en hjerte-karsykdom anvendbare for overføring av en hjertearytmi til en normal sinusrytme.

I nok en annen utførelse er takykardien atrieflimmer, supraventrikulær takykardi, atrieflutter, paroksismal, supraventrikulær takikardi, paroksismal arietakykardi, sinus takykardi, atrioventrikulærknute-reentry-takykardi eller takykardi grunnet Wolff-Parkinson-White syndrom.

I en ytterligere utførelse er fremgangsmåtene for behandling av en takykardi anvendbare for reduksjon av dyrets ventrikkelfrekvens til en frekvens som ikke er lavere enn tilnærmet 40 slag per minutt. I en spesifikk utførelse er fremgangsmåtene anvendbare for reduksjon av et dyrs ventrikkelfrekvens til en frekvens på fra ca 60 slag per minutt til ca 100 slag per minutt.

20 **5.6.2 BESKYTTELSE AV ET DYRS HJERTE MOT MYOKARDSKADE UNDER KARDIOPLEGI**

I en utførelse tilveiebringer oppfinnelsen anvendelse av et kardioplegiinduserende middel og et purinderivat for fremstilling av et medikament for induksjon av kardioplegi. Kardioplegiinduserende midler som er anvendbare i foreliggende oppfinnelse omfatter, men er ikke begrenset til, kaliumklorid, prokain, lidokain, novokain, bupivokain, nikorandil, pinacidil, halotan, St. Thomas løsning, Fremes løsning, 2,3-butanedion monoksim og esmolol.

30 I en utførelse er det kardioplegiinduserende middel lidokain.

I en utførelse foreligger et kardioplegiinduserende middel og et purinderivat i samme preparat. De her beskrevne fremgangsmåter for induksjon av kardioplegi er anvendbare for forebyggelse eller minimalisering av forekomsten av myokardskader under kardioplegi.

35

I nok en annen utførelse tilveiebringer oppfinnelsen anvendelse av (a) et kardioplegiinduserende middel; og (b) et purinderivat for fremstilling av et medikament for beskyttelse av et dyrehjerte mot myokardskader under kardioplegi.

- 5 I en utførelse tilføres det kardioplegiinduserende middel før tilførselen av purinderivatet.

I en annen utførelse tilføres purinderivatet før tilførselen av det kardioplegiinduserende middel.

10

I en ytterligere utførelse tilføres det kardioplegiinduserende middel og purinderivatet samtidig.

- 15 I en annen utførelse tilføres det kardioplegiinduserende middel og purinderivatet slik at purinderivatet utøver sin profilaktiske virkning når det gjelder beskyttelse mot myokardskader samtidig som det kardioplegiinduserende middel utøver sin kardioplegiske virkning.

20 **5.6.3 BEHANDLING GJELDER FOREBYGGELSE AV EN NEVROLOGISK FORSTYRRELSE.**

En nevrologisk forstyrrelse kan behandles eller forebygges ved tilførsel av en effektiv mengde av et purinderivat.

- 25 Nevrologiske forstyrrelser som kan behandles eller forebygges ved tilførsel av en effektiv mengde av et purinderivat omfatter, men er ikke begrenset til, en forstyrrelse med anfall, for eksempel epilepsi, smerte, innbefattet akutt postoperativ smerte, kreftsmerte, nevropatisk pain, smerte som følge av kirurgisk behandling, smerte forbundet med veer under fødsler, et psykogent smertesyndrom og hodepine, innbefattet
30 migrenhodepine og cluster headache; delirium og demens, som Lewy-klump-demens, Alzheimer's sykdom, Pick's sykdom eller Creutzfeldt-Jakob sykdom; en søvnforstyrrelse, som søvnløshet, hypersomni, et søvnapnesyndrom, restless-leg-syndrom eller en parasomni; en kranienerveforstyrrelse, som Bell's paralyse; en bevegelsesforstyrrelse som tremor, dystoni, Tourette's syndrom, myoklonus,
35 Huntington's sykdom, kortiko basal degenerasjon, korea, en medikamentindusert bevegelsesforstyrrelse, progressiv supranukleær parese, Parkinson's sykdom eller et

Parkinsonismesyndrom, for eksempel multisystem atrofi, Wilson's sykdom eller en mult-infarkttilstand; en demyelinerende sykdom, som multiple sklerose eller amyotrofisk lateral sklerose; a nevromuskulær sykdom, som muskulær dystrofi; en cerebrovaskular sykdom, som slag; en nevrooftalmisk forstyrrelse og en psykiatrisk forstyrrelse, inkludert men ikke begrenset til, somatoforme forstyrrelser, som hypokonderi eller body dysmorphic disorder; dissosiative reaksjoner, som panikkangst, fobiske forstyrrelser eller obsessive-kompulsive forstyrrelser, humørforstyrrelser, for eksempel depresjon eller biplare forstyrrelser, personlighetsforstyrrelser; psykoseksuelle forstyrrelser, suicidal adferd, schizofreni, kortvarig psykotisk forstyrrelse og vrangforestillinger.

I en utførelse er den nevrologiske forstyrrelse som behandles eller forebygges epilepsi, smerte eller slag.

I en utførelse omfatter de her beskrevne fremgangsmåter for behandling av smerte videre tilførsel av ytterligere et analgetisk middel. I en spesifikk utførelse er det ytterligere analgetiske middel buprenorfin.

5.6.4 BEHANDLING ELLER FOREBYGGELSE AV EN ISKEMISK TILSTAND

En iskemisk tilstand kan behandles eller forebygges ved tilførsel av en effektiv mengde av et purinderivat.

Iskemiske tilstander som kan behandles eller forebygges ved tilførsel av en effektiv mengde av et purinderivat omfatter, men er ikke begrenset til, stabil angina, ustabil angina, myokardiskemi, leveriskemi, mesenterial iskemi, tarmiskemi, myokardinfarkt, kritisk iskemi i lemmer, kronisk kritisk iskemi i lemmer, hjerneiskemi, akutt hjerteiskemi og en iskemisk sykdom i sentralnervesystemet, for eksempel slag eller hjerneiskemi.

I en utførelse er den iskemiske tilstanden myokardiskemi, stabil angina, ustabil angina, slag, iskemisk hjertesykdom eller hjerneiskemi.

5.6.5 BEHANDLING ELLER FOREBYGGELSE AV EN REPERFUSJONSSKADE

En reperfusjonsskade kan behandles eller forebygges ved tilførsel av en effektiv
 5 mengde av et purinderivat. Reperfusjonsskader kan opptre etter en naturlig forekommende episode, for eksempel et myokardinfarkt eller et slag, eller under kirurgisk behandling hvor blodstrømmen i blodkar med vilje eller utilsiktet blokkeres.

Reperfusjonsskader som kan behandles eller forebygges ved tilførsel av en effektiv
 10 mengde av et purinderivat omfatter, men er ikke begrenset til, reperfusjonsskader i tarmen, myokardreperfusjonsskader og reperfusjonsskader som følge av hjerte-lunge-bypass-kirurgi, kirurgisk reparasjon av toracoabrominal aneurisme, karodig endaretektomi eller hemoragisk sjokk.

15 I en utførelseskyldes reperfusjonsskaden hjerte-lunge-bypass-kirurgi, kirurgisk reparasjon av toracoabrominal aneurisme, karotid endareteltomi eller hemoragisk sjokk.

5.6.6 BEHANDLING ELLER FOREBYGGELSE AV DIABETES

20 Diabetes kan behandles eller forebygges ved tilførsel av en effektiv mengde av et purinderivat.

Typer av diabetes som kan behandles eller forebygges ved tilførsel av en effektiv
 mengde av et purinderivat omfatter, men er ikke begrenset til, type I diabetes
 25 (insulinavhengig diabetes mellitus), type II diabetes (ikke-insulinavhengig diabetes mellitus), svangerskapsdiabetes, insulinopati, diabetes grunnet sykdom i bukspyttkjertelen, diabetes forbundet med en annen endokrin sykdom (for eksempel Cushing's syndrome, akromegali, feokromocytom, glukagonom, primær aldosteronisme eller somatostatinom), type A insulinresistens syndrom, type B insulinresistens
 30 syndrom, lipatrofisk diabetes og diabetes induisert av β -celletoksiner.

I en utførelse er diabetesformen type I diabetes mellitus.

I en annen utførelse er diabetesformen type II diabetes mellitus.

5.6.7 FREMGANGSMÅTER FOR REDUKSJON AV ET DYRS METABOLSKES AKTIVITET

- 5 I en utførelse tilveiebringer oppfinnelsen anvendelse av et purinderivat for fremstilling av et medikament for reduksjon av et dyrs metabolske aktivitet t.

Reduksjon av et dyrs metabolske aktivitet er nyttig for å redusere et dyrs hjerterefrekvens under hjertekirurgi, beskyttelse av et dyrs vev mot skader under kirurgisk behandling, 10 fortrinnsvis hjerte- eller hjernekirurgi, reduksjon av intrakraniell hypertensjon grunnet hjerneskode i et dyr eller induksjon av vinterdvale i et dyr.

Følgelig omfatter foreliggende oppfinnelse anvendelser av et purinderivat for fremstilling av et medikament for reduksjon av et dyrs hjerterefrekvens under 15 hjertekirurgi, beskyttelse av et dyrs vev mot skader under kirurgisk behandling, fortrinnsvis hjerte- eller hjernekirurgi, reduksjon av intrakraniell hypertensjon grunnet hjerneskode i et dyr eller induksjon av vinterdvale i et dyr.

Reduksjon av et dyrs metabolske aktivitet er også anvendbart for reduksjon av et dyrs 20 oksygenforbruk. Følgelig tilveiebringer foreliggende oppfinnelse anvendelse av et purinderivat for fremstilling av et medikament for reduksjon av et dyrs oksygenforbruk. Et dyrs oksygentilførsel kan være kompromittert grunnet: (i) en medisinsk behandling, for eksempel hjertekirurgi, hjernekirurgi, organtransplantasjon, mekanisk okklusjon av karterførselen eller karstenose; (ii) en forstyrrelse eller medisinsk tilstand, for eksempel 25 iskemi, en luftveisforstyrrelse, lungesvikt, en pulmonar forstyrrelse, anemi, anafilaktisk sjokk, hemmoragisk sjokk, kompartment syndrom, intravaskulær trombe, septisk sjokk, cystisk fibrose, lungekreft, slag, brannskader eller indre blødning; (iii) en skade som drukning, en knusingsskade på et eller flere lemmer, kveling eller suffokasjon; (iv) en kompromitert luftvei grunnet astma, en tumor, en lungeskade eller en luftrørsskade; (v) 30 en ytre sammenklemming av et eller flere blodkar, eller (vi) en iboende obstruksjon i et eller flere blodkar. Reduksjon av et dyrs oksygenforbruk er nyttig for behandling eller forebyggelse av vevsskade eller slag som følge av utilstrekkelig oksygentilførsel til en celle, et vev, et organ eller et organsystem.

- 35 I en utførelse reduseres et dyrs oksygenforbruk for å forbedre gjenopplivingen i nødsfall av et skadd dyr.

I en annen utførelse reduseres et dyrs oksygenforbruk før og under hjertekirurgi. I en spesifikk utførelse er dyret et menneskebarn som gjennomgår pediatrik hjertekirurgi.

- 5 I en annen utførelse reduseres et dyrs oksygenforbruk for å behandle lungesvikt i et dyr.

- I en utførelse reduseres et dyrs oksygenforbruk for å understøtte vevsmetabolismen i et dyr hvis respirasjon og ventilasjon understøttes av en ventilator. I en spesifikk utførelse er dyret hvis respirasjon og ventilasjon understøttes av en ventilator et geriatrisk
10 menneske. I en annen spesifikk utførelse er dyret hvis respirasjon og ventilasjon undersøttes av en ventilator, et for tidlig født menneskebarn

- I en utførelse kan et organ lagres eks vivo i et preparat som omfatter en effektiv mengde av et purinderivat. Preparatet er anvendbart for å bevare et organs levedyktighet etter at
15 det er fjernet fra en donor og før organet transplanteres inn i en mottager. I en utførelse er donoren og mottageren samme individ.

- I en annen utførelse kan en effektiv mengde av et purinderivat tilføres til et dyr som venter på organtransplantasjon for å redusere dyrets oksygenforbruk før eller under
20 organtransplantasjonen.

- Reduksjon av et dyrs metabolske aktivitet er også nyttig for å redusere dyrets kroppskjernetemperatur. Følgelig tilveiebringer foreliggende oppfinnelse anvendelse av et purinderivat for fremstilling av et medikament for reduksjon av et dyrs
25 kroppskjernetemperatur.

- I en utførelse reduseres dyrets kroppskjernetemperatur til en temperatur mellom ca 4°C og ca 34°C. I visse utførelser reduserer dyrets kroppskjernetemperatur til ca 34 °C, til ca 30 °C, til ca 25 °C, til ca 20 °C, til ca 15 °C, til ca 10 °C eller til ca 4 °C.

- 30 I en spesifikk utførelse reduseres et dyrs kroppskjernetemperatur for å indusere terapeutisk hypotermi.

5.6.8 BEHANDLING ELLER FOREBYGGELSE AV FEDME

Fedme kan behandles eller forebygges ved tilførsel av en effektiv mengde av et purinderivat.

5

Typer av fedme som kan behandles eller forebygges ved tilførsel av en effektiv mengde av et purinderivat omfatter, men er ikke begrenset til, android fedme, gynoid fedme, bukfedme, aldersrelatert fedme, postindusert fedme, fettindusert fedme, hypotalamisk fedme, morbid fedme, multigenisk fedme og viseral fedme.

10

I en utførelse er fedmen android fedme.

5.6.9 BEHANDLING ELLER FOREBYGGELSE AV EN TÆRENDE SYKDOM

15 I en utførelse tilveiebringer oppfinnelsen anvendelse av et purinderivat for fremstilling av et medikament for behandling eller forebyggelse av en tærende sykdom.

Typen av tærende sykdommer som kan behandles eller forebygges ved tilførsel av en effektiv mengde av et purinderivat omfatter, men er ikke begrenset til, kronisk tærende sykdom, kreftrelatert tæringssyndrom og AIDS-relatert tæringssyndrom

20

6. EKSEMPLER

Materialer: [³H]NECA ble erholdt fra Du Pont NEN, Dreieich, Tyskland. Andre umerkede adenosinreseptoragonister og -antagonister kan erholdes fra RBI, Natick, Massachusetts. Filtreringssystemet for 96-brønners mikrotiterplater (MultiScreen MAFC) ble erholdt fra Millipore, Eschborn, Tyskland. Penicillin (100 U/ml), streptomycin (100 µg/ml), L-glutamin og G-418 ble erholdt fra Gibco-Life Technologies, Eggenstein, Tyskland. Andre materialer kan erholdes som beskrevet i Klotz et al., *J. Biol. Chem.*, 260:14659-14664, 1985; Lohse et al., *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 336:204-210, 1987; and Klotz et al., *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 357:1-9, 1998.

25

30

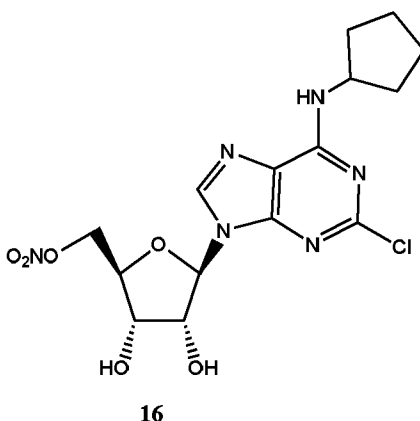
General fremgangsmåter: Proton-kjernemagnetisk resonans (NMR) spektere ble erholdt med et Varian 300 MHz spektrofotometer og kjemiske skift er angitt i milliondeler. Forbindelser ble karakterisert på NMR og massespekter (MS) data. 6-

35

Kloradenosin og 2',3',5'-triacetoksy-2,6-dikloradenosin ble erholdt fra TRC, Ontario, Canada. 2',3'-Isopropylidenadenosin og 2-kloradenosin ble erholdt fra ACROS Organic, USA.

5 6.1 Eksempel 1

Syntese av forbindelse 16



10

2-Klor-N⁶-cyklopentyladenosin - 2',3',5'-triacetoksy-2,6-dikloradenosin (1.5 g) og cyklopentylamin(8 eq.) ble fortynnet med etanol (50 eq.) og den resulterende løsning ble oppslemmet til reflux i ca 15 timer, avkjølt til romtemperatur og oppkonsentrert under vakuem for erholdelse av et råmateriale, som ble fortynnet med en blanding av etylacetat og vann og overført til en skilletrakt. Det organiske skikt ble separert, tørket over natriumsulfat og konsentrert under vakuem for erholdelse av et råprodukt, som ble rensert ved anvendelse av "flash"-kolonnekromatografi på kieselgel (8% MeOH - diklormetan som elueringsmiddel) for erholdelse av 2-klor-N⁶-cyklopentyladenosin (0.948 g).

15

20 MS m/z 370.32 $[M + H]^+$.

25

2',3'-Isopropyliden-2-klor-N⁶-cyklopentyladenosin: 2-klor-N⁶-cyklopentyladenosin (900 mg, fremstilt i foregående trinn) og 2,2-dimetoksypropan (10 eq.) ble fortynnet med aceton (15 ml) og den resulterende løsning ble tilsatt D-kamfersulfonsyre (1 eq) og den resulterende reaksjonsblanding omrørt ved romtemperatur i 2 timer. Den resulterende reaksjonsblanding ble oppkonsentrert under vakuem, fortynnet med en blanding av mettet vandig NaHCO₃ og etylacetat, og overført til en skilletrakt. Det organiske skikt ble separert, tørket over natriumsulfat og oppkonsentrert under vakuem

for erholdelse av et råprodukt som ble renset ved anvendelse av "flash"-kolonnekromatografi på kieselgel (ved anvendelse av 5% MeOH - diklormetan som elueringsmiddel) for erholdelse av 2',3'-isopropyliden-2-klor-N⁶-cyklopentyladenosin (0.905 g).

- 5 ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 1.36 (s, 3H), 1.62 (s, 3H), 1.66 – 2.16 (m, 9H), 3.78 (d, J = 12.9 Hz, 1H), 3.98 (d, J = 12.9 Hz, 1H), 4.51 (bs, 1H), 4.55 – 4.60 (m, 1H), 5.09 – 5.17 (m, 2H), 5.81 (bs, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.89 (s, 1H).

- 2',3'-Isopropyliden-2-klor-N⁶-cyklopentyladenosin-5'-nitrat:** E løsning av salpetersyre (2.0 ml, 60%) ble langsomt over et tidsrom på 30 minutter tilsatt til eddiksyre anhydrid (16.0 ml) ved –10 til 10°C (ved anvendelse av et acetonitril-CO₂ kjølebad) og reaksjonsblandingen ble omrørt ved –10 til 10°C i 10 minutter. Reaksjonsblandingen ble så avkjølt til –30°C hvoretter en løsning av 2',3'-isopropylidene-2-klor-N⁶-cyklopentyladenosin (655 mg, 0.0016 mol, fremstilt i foregående trinn) i eddiksyre anhydrid (8.0 ml) langsomt ble tilsatt. Etter fullført tilsetning ble den resulterende reaksjonsblanding oppvarmet til –5°C, og reaksjonen ble fulgt ved anvendelse av TLC (løsemiddel 5% MeOH-CH₂Cl₂ eller 70% EtOAc-heksan). Etter fullført reaksjon ble reaksjonsblandingen langsomt helt ut i en iskald blanding av mettet vandig NaHCO₃ (300 ekvivalenter i 75 ml vann) og etylacetat (60 ml). Det organiske skikt ble separert, og det vandige skikt ble tilbakeekstrahert med etylacetat. De sammenslåtte organiske skikt ble vasket med vann, tørket over natriumsulfat og oppkonsentrert under vakeum for erholdelse av et råprodukt. Råproduktet ble renset ved anvendelse av "flash"-kolonnekromatografi (5% metanol-diklormetan som elueringsmiddel) for erholdelse av 2',3'-isopropylidene-2-klor-N⁶-cyklopentyladenosin-5'-nitrat (0.435 g).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 1.38 (s, 3H), 1.59 (s, 3H), 1.66 – 2.13 (m, 9H), 4.50 – 4.55 (m, 1H), 4.71 – 4.83 (m, 2H), 5.14 – 5.17 (m, 1H), 5.31 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 6.04 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.81 (s, 1H). MS *m/z* 455.44 [M + H]⁺.

- 30 **Forbindelse 16:** 2',3'-Isopropylidene-2-klor-N⁶-cyklopentyladenosin-5'-nitrat (0.435 g, fremstilt i foregående trinn) ble fortynnet med TFA (20 ml) og vann (5 ml) og den resulterende løsningen ble omrørt i 30 minutter. Den resulterende reaksjonsblanding ble oppkonsentrert under vakeum, det resulterende restmaterialet ble fortynnet med vann (10 ml) og den resulterende løsning ble oppkonsentrert under vakeum. Det erholdte råprodukt ble fortynnet med etylacetat, overført til en skilletrakt, vasket med mettet vandig bikarbonat, tørket over natriumsulfat og oppkonsentrert under vakeum. Det

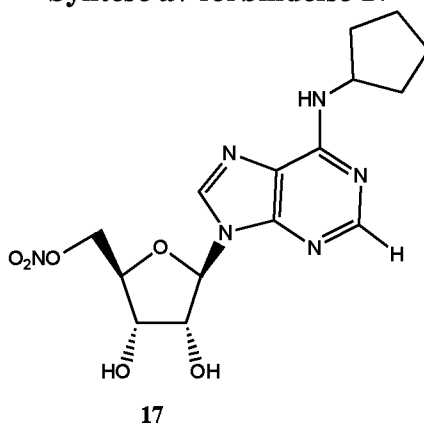
erholdte råprodukt ble renset ved anvendelse av ”flash”-kolonnekromatografi på kieselgel (med 10% metanol-diklormetan som elueringsmiddel) for erholdelse av forbindelse **16** (0.250 g).

¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz): δ 1.52 – 1.95 (m, 9H), 4.13 - 4.24 (m, 2H), 4.55 – 4.58 (m, 1H), 4.73 – 4.85 (m, 2H), 5.50 (bs, 1H), 5.61 (bs, 1H), 5.84 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 8.33 (bs, 2H), MS *m/z* 414.85 [M + H]⁺.

6.2 Eksempel 2

10

Syntese av forbindelse 17



N⁶-Cyklopentyladenosin: En oppløsning av 6-kloradenosin (43 g) og cyklopentylamin(5 eq.) i etanol (50 eq.) ble oppvarmet til reflux i 3 timer, og så avkjølt til romtemperatur. Den resulterende reaksjonsblanding ble oppkonsentrert under vakeum, og det resulterende restmaterialet ble fortynnet med vann (400 ml) og etylacetat (400 ml). Det organiske skikt ble separert, og det vandige skikt ble ekstrahert over i etylacetat (2 x 400 ml). De sammenslåtte organiske skikt ble vasket med vann (2 x 200 ml), tørket over natriumsulfat, oppkonsentrert under vakeum og tørket under vakeum for erholdelse av et faststoff, som ble suspendert i MeOH (400 ml), filtrert og tørket for erholdelse av N⁶-cyklopentyladenosin (43.8 g).

2',3'-isopropyliden-N⁶-cyklopentyladenosin: N⁶-cyklopentyladenosin (43 g) ble fortynnet med aceton (75 eq.) og den resulterende løsning ble tilsatt 2,2-dimetoksypropan (5 eq.), fulgt av *D*-kamfersulfonsyre (1 eq) og den resulterende reaksjonsblanding ble omrørt ved romtemperatur i 3 timer. Reaksjonsblandingen ble oppkonsentrert under vakeum, og restmaterialet ble fortynnet med etylacetat og så nøytralisert til pH 7.0 ved anvendelse av konsentrert vandig NaHCO₃. Det organiske skikt ble separert, tørket over natriumsulfat, oppkonsentrert under vakeum og tørket

under vakeum for erholdelse av et fast stoff, som ble suspendert i heksan (250 ml), filtrert, vasket med heksan og tørket under vakeum for erholdelse av 2',3'-isopropyliden-N⁶-cyklopentyl adenosin (43 g).

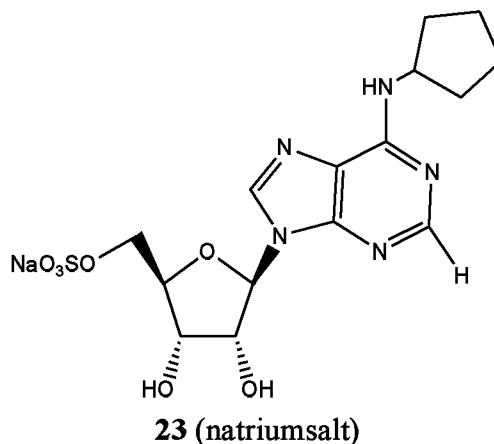
- 5 **2',3'-isopropyliden-N⁶-cyklopentyladenosin-5'-nitrat:** Eddiksyreanhydrid (22 eq) ble langsomt tilsatt til en omrørt løsning av salpetersyre (5 eq., 63%) ved -10°C (acetonitril-CO₂ kjølebad) over et tidsrom på 4 timer mens reaksjonstemperaturen ble holdt ved -5 til 5°C under tilsetningen. Den resulterende løsning ble avkjølt til -20°C, og en løsning av 2',3'-isopropyliden-N⁶-cyklopentyladenosin (18.250 gm, 0.048 mol) i
- 10 eddiksyreanhydrid (37 ml, 8 eq.) ble langsomt tilsatt. Den resulterende reaksjonsblanding ble omrørt ved -15 til -5°C i 1 time, og den resulterende reaksjonsblanding ble langsomt helt ut i en iskald løsning av vandig NaHCO₃ (168 gm i 800 ml vann) og etylacetat (350 ml) hvorefter den resulterende løsning ble omrørt i 5 minutter. Det organiske skikt ble separert og det vandige skikt ekstrahert ved
- 15 anvendelse av etylacetat (350 ml). De sammenslåtte organiske skikt ble vasket med vann, tørket over natriumsulfat, oppkonsentrert under vakeum og rensset ved anvendelse av "flash"-kolonnekromatografi på kieselgel med 70% etylacetat-heksan som elueringsmiddel for erholdelse av 2',3'-isopropyliden-N⁶-cyklopentyladenosin-5'-nitrat (14.9 g).

20

- Forbindelse 17:** 2',3'-isopropyliden-N⁶-cyklopentyladenosin-5'-nitrat (4.8 g) ble fortynnet med en blanding av TFA (20 ml) og vann (5 ml), og den resulterende reaksjonsblanding ble omrørt ved 30°C ved romtemperatur. Den resulterende reaksjonsblanding ble oppkonsentrert under vakeum, og restmaterialet ble fortynnet
- 25 med vann (10 ml) og oppkonsentrert under vakeum. Det resulterende restmaterialet ble fortynnet med etylacetat og vasket med mettet vandig natriumbikarbonat, og det organiske skikt ble tørket over natriumsulfat og oppkonsentrert under vakeum for erholdelse av et hvitt, fast restmateriale som ble tørket under vakeum og så rekrystallisert fra kald etanol for erholdelse av forbindelse 17 (3.1 g).
- 30 ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 1.49 – 1.58 (m, 4H), 1.66 – 1.72 (m, 2H), 1.89 – 1.94 (m, 2H), 4.12 – 4.17 (m, 1H), 4.28 – 4.33 (m, 1H), 4.48 (bs, 1H), 4.65 – 4.87 (m, 3H), 5.5 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 5.63 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 5.91 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.75 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 8.17 (bs, 1H), 8.30 (s, 1H); MS (ES⁺): m/z 381.35 (M+ 1);
- Anal. beregnet for C₁₅H₂₀N₆O₆: C, 47.37; H, 5.30; N, 22.10;
- 35 Funnet: C, 47.49; H, 5.12, N, 21.96.

6.7 Eksempel 7

Syntese av forbindelse 23 (natriumsalt)



5

En blanding av 2',3'-isopropyliden-N⁶-cyklopentyladenosin (1 g, 0.0026 mol, fremstilt som beskrevet i eksempel 1) og svoveltrioksid-pyridinkompleks (0.0039 mol) i DMF
 10 (17 ml) ble omrørt ved romtemperatur i ca 18 timer. DMF ble fjernet under vakeum og restmaterialet tørket under vakeum. Det tørkede restmaterialet ble fortynnet med vann (25 ml), nøytralisert til pH 7.0 ved anvendelse av NaOH (1N) og oppkonsentrert under vakeum for erholdelse av et restmateriale, som ble fortynnet med en løsning av TFA (80% løsning i vann, 50 ml). Den resulterende løsning ble omrørt ved 25°C i 30
 15 minutter, hvorefter reaksjonsblandingen ble oppkonsentrert under vakeum for erholdelse av et restmateriale, som ble fortynnet med vann (10 ml) og oppkonsentrert under vakeum. Råforbindelsen som ble erholdt ble rekrystallisert fra aceton-vann for erholdelse av forbindelse **23** (natriumsalt) (805 mg).

¹HMR (DMSO-d₆, 300 MHz): 1.53 – 1.96 (m, 9H), 3.78 – 4.10 (m, 4H), 4.43 – 4.54
 20 (m, 2H), 5.90 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.46 (s, 1H).
 MS *m/z* 416.20 [M + H]⁺.

6.9 Eksempel 9

25 Celledyrking og membranpreparering

CHO-celler stabilt transfektert med human adenosin A₁-reseptor ble dyrket og opprettholdt i Dulbecco's modifiserte Eagles medium med næringsmiddelblanding F12 (DMEM/F12) uten nukleosider tilsatt 10% fetalt kalveserum, penicillin (100 U/ml), streptomycin (100 µg/ml), L-glutamin (2 mM) og Geneticin (G-418, 0.2 mg/ml; A₂B, 0.5

mg/ml) ved 37°C i 5% CO₂/95% luft. Cellene ble så splittet 2 til 3 ganger hver uke i et forhold på mellom 1:5 og 1:20.

Membraner for bindingseksperimenter med radioaktivt merket ligand ble fremstilt fra friske eller nedfrosne celler som beskrevet i Klotz et al., *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 357:1-9 (1998). Cellesuspensjonen ble så homogenisert i iskaldt hypotonbuffer (5 mM Tris/HCl, 2 mM EDTA, pH 7.4), og homogenatet ble sentrifugert i 10 minutter (4°C) ved 1 000 g. Membranene ble så sedimentert fra supernatanten i 30 minutter ved 100 000 g og resuspendert i 50 mM Tris/HCl-buffer pH 7.4 (for A₃ adenosinreceptorer: 50 mM Tris/HCl, 10 mM MgCl₂, 1 mM EDTA, pH 8.25), nedfrosset i flytende nitrogen ved en proteinkonsentrasjon på 1-3 mg/ml og lagret ved -80°C.

6.10 Eksempel 10

15

Adenosinreceptorbindingsundersøkelser

Affiniteten av utvalgte purinderivater for adenosin A₁-receptoren ble bestemt ved å måle forskyvingen av spesifikk [³H] 2-klor-N⁶-cyklopentyl adenosinbinding i CHO-celler stabilt transfektert med human rekombinant A₁-adenosinreceptor uttrykt som Ki (nM).

20

Dissosiasjonskonstantene for umerkede forbindelser (K_i-verdier) ble bestemt i konkurranseeksperimenter i 96-brønners mikrotiterplater ved anvendelse av den A₁-selective agonist 2-klor-N⁶-[³H]cyklopentyladenosin ([³H]CCPA, 1 nM) for karakterisering av A₁-receptorbindingen. Uspesifikk binding ble bestemt i nærvær av 100 µM R-PIA henholdsvis 1 mM teofyllin. For detaljer, se Klotz et al., *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 357:1-9, 1998. Alle bindingsverdier ble beregnet ved ikke-lineær kurvetilpasning ved anvendelse av programmet SCTFIT (De Lean et al. *Mol. Pharm.* 1982, 21:5-16).

30

Resultatene gis i tabell 1 nedenfor, og viser at forbindelses **16**, **17**, **23** (natriumsalt), og **25**, alle illustrerende purinderivater, er selektive for adenosin A₁-receptoren og følgelig anvendbare for en tilstand, reduksjon av et dyrs metabolske aktivitet eller beskyttelse av et dyrehjerte mot myokardskader under kardioplegi.

35

Tabell 1

Affiniteten av illustrative purinderivater for human A₁-, A_{2A}- og A₃-adenosinreceptorer

Forbindelse	<u>Ki(A₁)^a (nM)</u>	<u>Ki(A_{2A})^b (nM)</u>	<u>Ki(A₃)^c (nM)</u>
CCPA	0.83 (0.55-1.25)	2,270 (1,950-2,660)	42.3 (32.1-55.8)
16	2.63 (2.04-3.38)	4,190 (2,440-7,200)	513 (367-715)
17	0.97 (0.80-1.17)	4,692 (2,300-9,560)	704 (400-1,240)
23	4.05 (3.54-4.63)	9,113 (5,510-15,100)	1,020 (470-2,220)
(natriumsalt)			
25	10.6 (6.77-16.70)	> 100,000	2020 (837-4870)

- 5 ^aForskyving av spesifikk [³H]CCPA-binding i CHO-celler stabilt transfektert med human rekombinant A₁-adenosinreceptor, uttrykt som Ki (nM). ^bForskyving av spesifikk [³H]NECA-binding i CHO-celler stabilt transfektert med human rekombinant A_{2A}-adenosinreceptor, uttrykt som Ki (nM). ^cForskyving av spesifikk [³H]NECA-binding i HEK-celler stabilt transfektert med human rekombinant A₃-adenosinreceptor, uttrykt som Ki (nM). Alle verdier er geometriske middelveier med 95%
10 pålitelighetsintervaller i parentes.

6.11 Eksempel 11

Virkning av forbindelse 17 på septisk sjokk

15

BALB/c-hannmus (6-8 uker gamle) ble anvendt i undersøkelser hvor lipopolysakkaridindusert cytokindannelse og –overlevelse ble undersøkt. For cytokinproduksjon ble musene behandlet med forbindelse 17 (Oral tilførsel av 0.03 mg/kg) oralt ved gavage 30 minutter før behandling med lipopolysakkarid (1 mg/kg i.p.) i 90 minutter, hvorefter blod ble tappet og serum erholdt for analyse. Serum ble fortynnet etter 1:5 før analyse for cytokiner ved anvendelse av artsspesifikke ELISA-sett (R & D Systems) for nivået av kjemokinet MIP-1 α og cytokinet TNF- α , uttrykt som pg/ml. For overlevelsesundersøkelsene ble musene behandlet med forbindelse 17 (oral tilførsel av 0.03 mg/kg) med start 30 minutter før musene ble behandlet med
25 lipopolysakkarid (55 mg/kg i.p.). Musenes overlevelse ble fulgt over 72 timer, og uttrykt som prosentandel overlevende mus ved hvert tidspunkt. Oral tilførsel av 0.03

mg/kg forbindelse 17 forsinket lipopolysakkaridindusert (60 mg/kg) mortalitet i bevisste mus. N=12-14 per gruppe.

FIG. 1 viser at forbindelse 17, tilført oralt til BALB/c-mus i en dose på 0.03 mg/kg, reduserer lipopolysakkaridindusert plasmaproduksjon av TNF- α og MIP-1 α i BALB/c-musemodellen.

FIG. 2 viser at forbindelse 17 tilført oralt til BALB/c-mus i en dose på 0.03 mg/kg, reduserer lipopolysakkaridindusert mortalitet i BALB/c-musemodellen.

Eksempelen ovenfor viser at forbindelse 17, et illustrerende purinderivat, reduserer lipopolysakkaridinduserte plasmanivåer av TNF- α og MIP-1 α , og forsinket lipopolysakkaridindusert dødelighet i mus.

Følgelig er forbindelse 17 anvendbar for behandling av septisk sjokk.

6.12 Eksempel 12

Antiarytmivirkninger av forbindelse 17

Hjerteperfusjon

Sprague-Dawley-hannrotter (med en kroppsvekt på 250 til 300 g) ble heparinisert ved anvendelse av natriumpreparin (1 000 U/kg i.p.), fulgt 10 minutter senere av innføring av anestesi ved intraperitoneal tilførsel av natriumpentobarbital (40 mg/kg). Etter bedøvelse av dyret ble brysthulen åpnet, og hjertet ble hurtig tatt ut og perfundert gjennom den oppadgående aorta ved anvendelse av Krebs-Ringer-buffer bestående av NaCl (118 mmol/liter), KCl (4.75 mmol/liter), KH₂PO₄ (1.18 mmol/liter), MgSO₄ (1.18 mmol/liter), CaCl₂ (2.5 mmol/liter), NaHCO₃ (25 mmol/liter) og glukose (11 mmol/liter). En blanding av 95% O₂ og 5% CO₂ at 37°C ble boblet gjennom perfusatet. Hjertet ble i utgangspunktet perfundert ved et konstant trykk på 70 mm Hg. Ca 10 min etter perfusjonen ved konstant trykk ble perfusjonen hindret til perfusjon ved konstant gjennomstrømning, oppnådd ved anvendelse av en mikroslangepumpe. Perfusjonstrykket ble holdt på det samme nivået som ved perfusjonen under konstant trykk ved å justere gjennomstrømningshastigheten. Etter at gjennomstrømningshastigheten var bestemt, ble denne opprettholdt gjennom eksperimentet. Hjertene ble stimulert med rektangulære pulser med en frekvens på 5 Hz og varighet 2-millisekunder og to ganger

den diastoliske terskel, levert fra en stimulus isoleringsenhet (ADInstruments Ltd, Australia).

Virkning av forbindelse 17 på iskemiinduserte arytmier

5 Rottehjerter ble perfundert ved et konstant trykk på 70 mmHg uten pacing som beskrevet ovenfor. Bipolart epikardialelektrokardiogram (ECG) ble oppsamlet ved å plassere to elektroder på overflaten av fire forkammer og hjertespiessen. En kanyle av rustfritt stål ble anvendt som nøytral elektrode. ECG og hjerterefrekvens ble målt kontinuerlig, og resultatene ble oppsamlet ved anvendelse av et PowerLab data

10 ervervelsessystem (ADInstruments Ltd, Australia) koblet til en Macintosh datamaskin, og analysert ved anvendelse av programvarepakken Chart.3. Etter en ekvilibreringsstid på 20 minutter ble regional iskemi indusert ved ligering av venstre, fremre, nedgående (LAD) kransarterie, og ligaturen ble løsnet 30 minutter etter okklusjonen. Forbindelse 17 ble tilført i perfundatet 10 minutter før LAD-ligering og forelå under LAD-

15 ligeringen. Forbindelse 17 ble analysert ved denne modellen i konsentrasjoner på 10, 30 og 100 pM. Forekomsten av ventrikulær takikardi (VT) var nesten den samme i ubehandlede kontrollhjerter (12/12) og i behandlede hjerter (20/22). Forekomsten av ventrikkelflimmer (VF) var 58% (7/12) i ubehandlede hjerter, og 9% (2/22) i behandlede hjerter. Den totale varighet av både VT og VF ble signifikant redusert av

20 forbindelse 17 i konsentrasjoner på 30 og 100 pM.

FIG. 3 viser at forbindelse 17 reduserer varigheten av iskemiinduserte arytmier i isolerte, perfunderte rottehjerter, sammenlignet med en ubehandlet kontrollgruppe.

25 Eksempelet ovenfor viser at forbindelse 17, et illustrerende purinderivat, reduserer forekomsten av ventrikkelflimmer og følgelig er anvendbar for behandling av en hjertearytmi.

6.13 Eksempel 13

30

Virkning av forbindelse 17 på funksjonsgjenvinning etter global iskemi/reperfusjon

Virkning av forbindelse 17 på funksjonsgjenvinning etter iskemi/reperfusjon

35 Rottehjerter ble i utgangspunktet perfundert ved et konstant trykk på 70 mm Hg ved anvendelse av fremgangsmåten som er beskrevet ovenfor i seksjon 6.12.1. Etter en

stabiliseringstid på 20 minutter ble hjertene utsatt for 30 minutters iskemi uten gjennomstrømning, fulgt av 40 minutters reperfusion. I behandlede hjerter ble forbindelse 17 infusert i 10 minutter før induksjon av iskemi. Forbindelse 17 forbedret i signifikant grad $+dp/dt_{\max}$ etter 30 minutters iskemi fulgt av 40 minuttert reperfusjon i en konsentrasjon på 1 nM. A1-agonistforbindelsen var således ikke bare effektiv når det gjaldt reduksjon av flimmer, men var også effektiv for forbedring av myokardkontraktiliteten (dp/dt) i en myokardiskemireperfusjonsmodell i perfundert hjerte. Denne observasjonen er i tråd med resultater som viser den hjertebeskyttende virkning av A1-agonisme i forskjellige modeller for iskemi og reperfusjon (for eksempel Roscoe et al., 2000; Jacobson et al., 2000; Lee et al., 2003), og den kardiobeskyttende effekten av A1-agonister in vitro (Goldenberg et al., 2003) og in vivo (Baxter et al., 2001; Donato et al., 2003; Kopecky et al., 2003; Kehl et al., 2003; Arora et al., 2003; Regan et al., 2003; Yang et al., 2003).

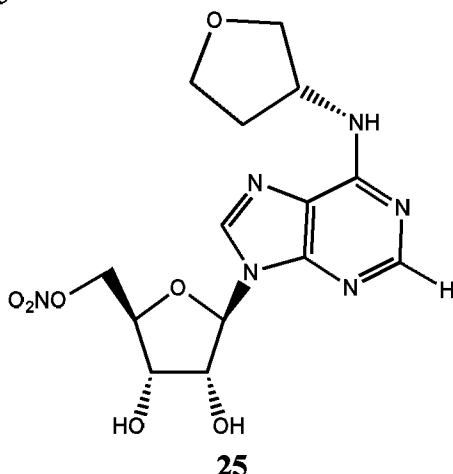
Effekt av forbindelse 12 (1 nM) på den maksimale hastighet for trykkutvikling i venstre ventrikkle ($+dP/dt_{\max}$) etter 30 minutters iskemi fulgt av 40 minutters reperfusjon. * $P < 0.05$ sammenlignet med kontrollverdien.

FIG. 4 viser at forbindelse 17 er anvendbar for å oppnå en hjertebeskyttende virkning etter iskemi og reperfusjon.

Eksempelet ovenfor viser at forbindelse 17, et illustrerende purinderivat, effektivt reduserer flimmer og forbedrer myokardkontraktiliteten etter iskemi og reperfusjon, og følgelig er anvendbar for behandling av en iskemisk tilstand eller en reperfusjonsskade.

6.14 Eksempel 14

Syntese av forbindelse 25



5

2',3'-Isopropyliden-N⁶-(R)-(3-tetrahydrofuranyl) adenosin: 2',3'-isopropyliden-6-kloradenosin (0.750 g, 0.0023 mol) ble fortynnet med etanol (20 ml) og den resulterende løsning ble tilsatt *R*-(3-aminotetrahydrofuranylamin•MeSO₃H) (0.630 g, 0.0035 mol), fulgt av trietylamin (0.9 ml). Den resulterende reaksjonsblanding ble oppvarmet til reflux i 2 dager, og så avkjølt til romtemperatur, og blandingen ble oppkonsentrert under vakeum, fortynnet med vann (25 ml) og etylacetat (25 ml), og overført til en skilletrakt. Det organiske skikt ble separert, tørket over natriumsulfat og oppkonsentrert under vakeum for erholdelse av et restmateriale, som ble rekrystallisert fra EtOAc-heksan for erholdelse av 2',3'-isopropyliden-N⁶-(R)-(3-tetrahydrofuranyl) adenosin (0.680 g).

N⁶-(R)-(3-Tetrahydrofuranyl) adenosin: Eddiksyreanhydrid (4.6 ml, 30 eq.) ble langsomt over et tidsrom på tilnærmet 20 minutter tilsatt til en omrørt løsning av salpetersyre (0.8 ml, 63% erholdt fra ACROS) som på forhånd var avkjølt til ca –5°C ved anvendelse av et acetonitril-CO₂-bad. Utgangsreaksjonen er kraftig, og tilsetningen bør gjøres svært forsiktig for å unngå temperaturøkning. Etter fullført tilsetning av eddiksyreanhydrid ble den resulterende løsning avkjølt til –20°C og tilsatt 2',3'-isopropyliden-N⁶-R-(3-tetrahydrofuranyl)-adenosin (0.605, 0.0016 mol). Den resulterende reaksjonsblanding ble fulgt ved anvendelse av tynnskiktskromatografi (løsemiddel 5% MeOH-CH₂Cl₂ eller 70% EtOAc-heksan). Etter fullført reaksjon ble reaksjonsblandingens langsomt uthelt i en kald løsning av NaHCO₃ (100 ml) og den resulterende løsning ble fortynnet med etylacetat (100 ml), omrørt i 5 minutter, og så

25

overført til en skilletrakt. Det organiske skikt ble oppsamlet og det vandige skikt ekstrahert med etylacetat (50 ml). De sammenslåtte organiske skikt ble så vasket med vann, tørket over natriumsulfat og oppkonsentrert under vakeum for beholdelse av et restmateriale. Restmaterialet ble fortynnet med TFA (16 ml) og vann (4 ml) og den

5 resulterende løsning ble omrørt ved romtemperatur i 30 minutter, og så oppkonsentrert under vakeum. Restmaterialet ble fortynnet med vann, og oppkonsentrert under vakeum for beholdelse av et råprodukt, som ble rensed ved "flash"-kolonnekromatografi på kieselgel med 10% metanol-diklormetan for beholdelse av forbindelse **25** (265 mg).
¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 1.97 – 2.10 (m, 1H), 2.12 – 2.20 (m, 1H), 3.57 – 3.61 (dd, J =
 10 4.8 og 4.5 Hz, 1H), 3.67 – 3.74 (dd, J = 8.1 and 8.1 Hz, 1H), 3.81 – 3.92 (m, 2H), 4.12 – 4.17 (m, 1H), 4.30 (s, 1H), 4.67 9s, 1H), 4.74 – 4.87 (m, 3H), 5.48 9s, 1H), 5.61 (s, 1H), 5.91 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.99 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.34 (s, 1H);
 MS (ES⁺): m/z 383.06 (M+ 1).

15 **6.15 Eksempel 15**

Virkning av forbindelse 17 på smerte

Hannmus (kroppsvekt 25-35 gram) ble fordelt på grupper som følger: en første gruppe
 20 som ble tilført buprenorfin (0.3 mg/kg) intraperitonealt, en andre gruppe som ble tilført buprenorfin (1 mg/kg) intraperitonealt, en tredje gruppe som ble tilført forbindelse 17 (3 mg/kg) intraperitonealt, en fjerde gruppe som ble tilført forbindelse 17 (3 mg/kg) og buprenorfin (1.0 mg/kg), og en femte gruppe som ble tilført forbindelse 17 (3 mg/kg) og buprenorfin (0.3 mg/kg). Den analgetiske virkningen i mus ble målt ved anvendelse av
 25 et IITC modell 33 halepiskings analgesimeter (IITC Inc., Woodland Hills, CA) 0 minutter (kontroll av basalnivået), 5 minutter, 15 minutter, 30 minutter og 60 minutter (i noen tilfeller også 90 og 120 minutter) etter behandling med forbindelse eller bærestoff. Den gjennomsnittlige målte verdi for 2 målinger ble benyttet for hvert tidspunkt. Et basalnivå for hver mus på mellom 2–4 sekunders latens og 10 sekunders avkuttingstid
 30 ble satt for den maksimalt mulige analgetiske virkning (% MPE). % MPE ble beregnet ved anvendelse av følgende formel: %MPE = [(verdi etter medikament - basalnivå) / (avkuttingstid – basalnivå)] x 100.

FIG. 5 viser at forbindelse 17 er anvendbar for å oppnå en analgetisk virkning i et dyr.

Resultatene viser at forbindelse 17, et illustrerende purinderivat, utøver en analgetisk virkning i et dyr og følgelig er anvendbar for behandling av smerte.

6.16 Eksempel 16

5

Virkning av forbindelse 17 på smerte

Hannmus (hver med en kroppsvekt på 20-30 g) ble subkutan tilført 20 µl 1% formalinløsning i formaldehyde (fremstilt ved å fortynne en kommersiell 4 % [vekt/vol] formalinløsning) i det dorsale området av venstre bakpote. Musene ble fordelt på enten en kontrollgruppe og tilført bærestoff, eller på en behandlingsgruppe og tilført forbindelse 17 (1.0 mg/kg). Begge dyregrupper ble fulgt for en reaksjon opptil 30 minutter etter behandlingen for å fastslå hvor mye tid hvert dyr brukte på å slikke den behandlede poten. Slikketiden i kontrollgruppen (dyr forbehandlet med bærestoff) ble så sammenlignet med slikketiden i behandlingsgruppen for beregning av den analgetiske virkning. Reaksjonstiden på 30 minutter ble oppdelt i 2 faser: den tidlige fase som varer fra 0–5 minutter etter behandlingen, og en sen fase som varer fra 10–30 minutter etter behandlingen.

FIG. 6 viser at forbindelse 17 er anvendbar for å oppnå en analgetisk virkning i et dyr.

Resultatene viser at forbindelse 17, et illustrerende purinderivat, viser en analgetisk virkning under den sene fase av responsen og følgelig er anvendbar for behandling av smerte.

25

6.17 Eksempel 17

Virkning av forbindelse 17 på smerte

BALB/C-mus (6-8 uker gamle) ble tilført streptozotocin (40 mg/kg, en gang daglig i 5 på hverandre følgende dager) intraperitonealt for induksjon av diabetes (blukosenivået i blodet var høyere enn 200 mg/ml). Tre uker etter første streptozotocininjeksjon ble dyrene tilført forbindelse 17 (1 mg/kg) intraperitonealt i en bakpote, og allodyni etter behandlingen ble målt ved anvendelse av et elektrovonfreyanesthesiometer (IITC Inc., Woodland Hills CA 91367). Den analgetiske virkningen av forbindelse 17 ble målt 0

minutter (kontroll), 15 minutter, 30 minutter og 60 minutter etter tilførsel av forbindelse 17.

FIG. 7 viser at forbindelse 17 er anvendbar for oppnåelse av en analgetisk virkning i et
5 dyr..

Resultatene viser at forbindelse 17, et illustrerende purinderivat, gir en markant og langvarig analgetisk virkning og følgelig er anvendbar for behandling av smerte i et dyr.

10 **6.18 Eksempel 18**

Virkning av forbindelse 17 på smerte

Male Wistar-rotter (med kroppsvekt mellom 200–250 g, oppstallet under patogenfrie
15 betingelser ved 24–25°C og tilført standard rottefor og vann *ad libitum*) ble bedøvet ved intraperitoneal tilførsel av pentobarbital (50 mg/kg) og ble plassert i en stereotaktisk ramme. Atlanto-oksipikalmembranen ble eksponert og et PE-10-kateter (7.5 cm) innført gjennom et snitt i subaraknoidalrommet. En ytre del av kateteret ble så festet til skallen, såret ble lukket og rottene fikk komme seg i 7 dager etter det kirurgiske inngrep. Dyr
20 uten nevrologiske mangler ble plassert i et observasjonskammer av pleksiglass på en metallnettoverflate, og mekaniske terskler for kvotens fotsåleoverflate ble bestemt ved anvendelse av et Dynamic Plantar Aesthesiometer (Ugo Basile, Italy) som følger: etter aklimatiseringen ble berøringsstimulatorenheten plassert under dyrets pote slik at pilamentet var plassert under målområdet på poten. Pilamentet ble så løftet slik at det
25 kom i kontakt med puten på dyrets pote og kontinuerlig utøvde en økende kraft oppover på poten inntil dyret trakk poten tilbake. Terskelverdien for tilbaketrekking av poten ble målt 5 ganger på denne måten etter tur, og middelveien av de fem verdiene ble beregnet. Etter fullført måling av kontrollterskelverdier ble carrageenan (3%, 100 µl) tilført subkutan i en bakpote, noe som førte til en markant oppsvelling og rødhet av den
30 behandlede pote. Tre timer etter tilførsel av karaginin ble terskelverdiene målt på ny. Dyrene ble så oppdelt i en kontrollgruppe (tilført bærestoff intratekalt), og en behandlingstgruppe (tilført forbindelse 17 intraketalt i et injeksjonsvolum på 10 µl). Bestemmelsene av terskelverdiene ble gjentatt som beskrevet ovenfor 15 minutter, 30 minutter, 60 minutter, 90 minutter og 120 minutter tilførsel av bærestoff eller
35 forbindelse 17.

FIG. 8 viser at forbindelse 17 utøver en analgetisk virkning i et dyr.

Resultatene viser at forbindelse 17, et illustrerende purinderivat, effektivt forhøyer smerteterskelsnivået i en rottemodell for smerte, og følgelig er anvendbar for

5 behandling av smerte.

6.19 Eksempel 19

Virkning av forbindelse 17 på smerte

10

CD-hannrotter (med kroppsvekt fra 220 g til 250 g) ble forberedt ifølge fremgangsmåten som er beskrevet i Z. Seltzer *et al.*, *Pain*, 43:205 – 218 (1990). Denne ble så bedøvet ved intraperitoneal tilførsel av natriumpentobarbital (50 mg/kg). Et innsnitt i huden ble innført i den øvre 1/3 og 2/3 del av venstre lår i hver rotte, og

15 venstre isjasnerve ble eksponert og frigjort fra omgivende bindevev. En 8-0 nylonstur ble så anvendt for stram ligering av venstre isjasnerve i hver rotte, slik at den dorsale 1/3 til 1/2 av nervens tykkelse var omsluttet av ligaturen. Snittet ble lukket ved anvendelse av 4-0 steril sutur. 7 dager etter inngrepet ble dyrene fordelt på 4 grupper: En første gruppe som ble tilført bærestoff (kontrollgruppe), en andre gruppe som ble

20 tilført forbindelse 17 i en dose på 0.1 mg/kg; en tredje gruppe som ble tilført buprenorfin i en dose på 0.3 mg/kg; og en fjerde gruppe som ble tilført forbindelse 17 i en dose på 0.1 mg/kg og buprenorfin i en dose på 0.3 mg/kg. Dyr fra alle fire grupper ble analysert for allodyni umiddelbart før behandlingen og 10, 20, 30 og 60 minutter etter behandlingen ved anvendelse av Von Frey Hair test (G.M. Pitcher *et al.*, *J*

25 *Neurosci Methods*, 87:185-93 (1999)).

FIG. 9 viser at forbindelse 17 alene eller i kombinasjon med buprenorfrin utøver en analgetisk virkning i et dyr.

Resultatene viser at forbindelse 17, et illustrerende purinderivat, utøver en analgetisk

30 virkning i et dyr, og følgelig er anvendbar for behandling av smerte.

6.20 Eksempel 20

Virkning av forbindelse 17 på hjertefrekvensen

- 5 Voksne Wistar-hannrotter (med kroppsvekt fra ca 350 g til ca 400 g) ble bedøvet som i eksempel 19, og så forberedt for måling av blodtrykk og hjertefrekvens. Forbindelse 17 ble så tilført intravenøst via lårbenet i en dose på 1 ng/kg/minutt, 10 ng/kg/minutt eller 1 000 ng/kg/minutt (n = 2 dyr per dosestørrelse) for en total tilførselstid på 20 minutter.
- 10 Resultatene viste at en dose på 10 ng/kg/minutt reduserte hjertefrekvensen fra 440 slag per minutt til 370 slag per minutt og at dosen på 1 000 ng/kg/minutt reduserte hjertefrekvensen fra 440 slag per minutt til 150 slag per minutt. Forbindelse 17, et illustrerende purinderivat, utøver således en hjertefrekvensreduserende virkning, og et purinderivat er følgelig anvendbart for reduksjon av et dyrs ventrikkelfrekvens til en
- 15 hastighet på ikke mer enn tilnærmet 40 slag per minutt.

- Foreliggende oppfinnelse skal ikke begrenses i området utfra de spesifikke utførelser som er beskrevet i eksemplene, som kun er ment som illustrasjoner på noen få spekter av oppfinnelsen, og alle utførelser som er funksjonelt ekvivalente omfattes av
- 20 foreliggende oppfinnelse. Faktisk vil forskjellige modifikasjoner av oppfinnelsen i tillegg til dem som er bevist og beskrevet heri være åpenbare for fagfolk og er ment å omfattes av de vedlagte krav.

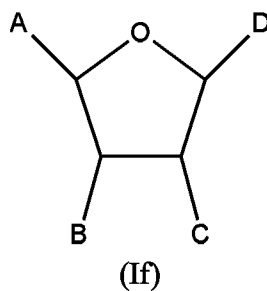
Alle referanser som siteres heri inkorporeres heri ved referanse i sin helhet.

P a t e n t k r a v

1.

Forbindelse, k a r a k t e r i s e r t v e d at den har formelen

5



og farmasøytisk akseptable salter derav,

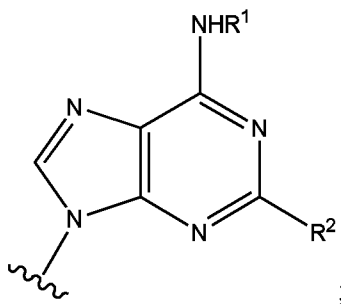
10

hvor

A er $-\text{CH}_2\text{ONO}_2$;

15 B og C er $-\text{OH}$;

D er



20 A og B er *trans* relatert til hverandre;

B og C er *cis* relativt til hverandre;

C og D er *cis* eller *trans* relativt til hverandre;

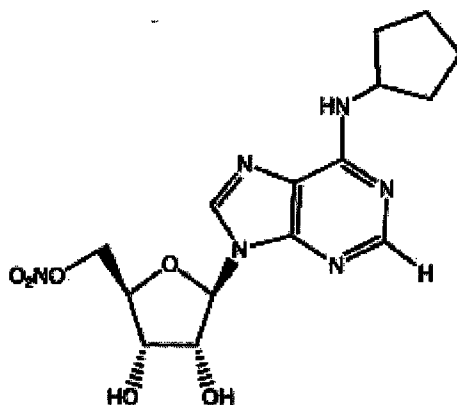
25

R^1 er $-\text{C}_3$ - C_8 monosyklisk cykloalkyl; og

R^2 er –H eller –halo.

2.

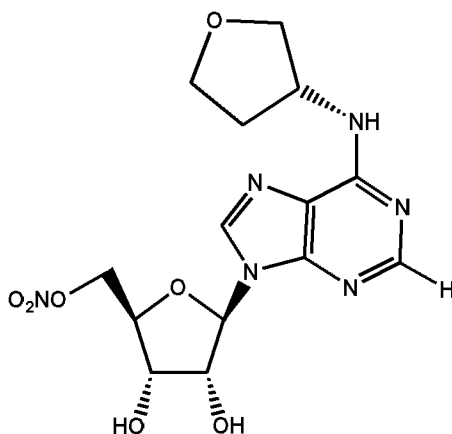
Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at den har
5 formelen:



eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

3.

10 Forbindelse, k a r a k t e r i s e r t v e d at den har formelen



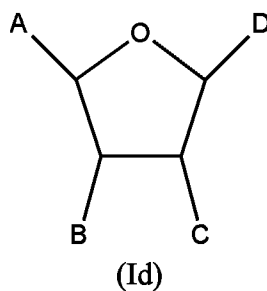
og farmasøytisk akseptable salter derav.

15

4.

Forbindelse, k a r a k t e r i s e r t v e d at den har formelen

64



og farmasøytisk akseptable salter derav,

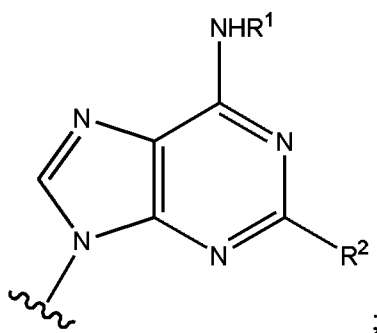
5 hvori

A er $-R^3$;

B og C er $-OH$;

10

D er



A og B er *trans* relativt til hverandre;

15

B og C er *cis* relativt til hverandre;

C og D er *cis* eller *trans* relativt til hverandre;

20 R^1 er $-C_3-C_8$ monosyklisk cykloalkyl;

R^2 er $-H$; og

R^3 er $-CH_2OSO_3H$.

25

5.

Forbindelse ifølge krav 1 eller 4, der A og B er *trans* relativt til hverandre; B og C er *cis* relativt til hverandre; og C og D er *trans* relativt til hverandre.

5 6.

Forbindelse ifølge krav 1 eller 4, der R¹ er cyklopentyl.

7.

10 Preparat, k a r a k t e r i s e r t v e d at det omfatter en effektiv
mengde av en forbindelse eller et farmasøytisk aksepterbart salt av en forbindelse ifølge
et hvilket som helst av krav 1 til 6 og en fysiologisk akseptable bærer eller vehikkel.

8.

15 Preparat, k a r a k t e r i s e r t v e d at det omfatter et
kardioplegi-induserende middel, en effektiv mengde av forbindelsen eller et
farmasøytisk aksepterbart salt av forbindelsen ifølge krav 1 og en fysiologisk
akseptbar bærer eller vehikkel, der nevnte kardioplegi-induserende middel er
kaliumklorid, prokain, lidokain, novokain, bupivokain, nikorandil, pinacidil, halotan, St.
Thomas løsning, Fremes løsning, 2,3-butanedion monoksim og esmolol.

20

9.

Anvendelse av en effektiv mengde av en forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et
farmasøytisk akseptabelt salt derav for fremstilling av et medikament for behandling av
en nevrologisk forstyrrelse hos et dyr.

25

10.

Forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for
behandling av en nevrologisk forstyrrelse hos et dyr.

30 11.

Anvendelse av en effektiv mengde av en forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et
farmasøytisk akseptabelt salt derav for fremstilling av et medikament for behandling av
en hjerte-karsykdom hos et dyr.

35

12.

Forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for behandling av en hjerte-karsykdom hos et dyr.

5 13.

Anvendelse av en effektiv mengde av en forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for fremstilling av et medikament for behandling av en iskemisk tilstand hos et dyr.

10 14.

Forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for behandling av en iskemisk tilstand hos et dyr.

15.

15 Anvendelse av en effektiv mengde av en forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for fremstilling av et medikament for behandling av diabetes hos et dyr.

16.

20 Forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for behandling av diabetes hos et dyr.

17.

25 Anvendelse av en effektiv mengde av en forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav og et kardioplegi-induserende middel for fremstilling av et medikament for beskyttelse av et dyrehjerte mot myokardskader under kardioplegi hos et dyr.

18.

30 Forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav og et kardioplegi-induserende middel for beskyttelse av et dyrehjerte mot myokardskader under kardioplegi hos et dyr.

19.

Anvendelse av en effektiv mengde av en forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for fremstilling av et medikament for å redusere dyrets metabolske aktivitet.

5

20.

Forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for å redusere dyrets metabolske aktivitet.

10 21.

Anvendelse av en effektiv mengde av en forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for fremstilling av et medikament for reduksjon av et dyrs oksygenforbruk.

15 22.

Forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for reduksjon av et dyrs oksygenforbruk.

23.

20 Anvendelse av en effektiv mengde av en forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for fremstilling av et medikament for behandling av fedme hos et dyr.

24.

25 Forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for behandling av fedme hos et dyr.

25.

30 Anvendelse av en effektiv mengde av en forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for fremstilling av et medikament for behandling eller forebyggelse av en tærende sykdom hos et dyr.

26.

35 Forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for behandling eller forebyggelse av en tærende sykdom hos et dyr.

27.

Anvendelse av en effektiv mengde av en forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for fremstilling av et medikament for behandling eller forebyggelse av en reperfusjonsskade hos et dyr.

5

28.

Forbindelse ifølge krav 1 eller 4, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for behandling eller forebyggelse av en reperfusjonsskade hos et dyr.

10 29.

Anvendelse av en effektiv mengde av en forbindelse ifølge krav 1 eller 2, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for fremstilling av et medikament for behandling av takykardi hos et dyr.

15 30.

Forbindelse ifølge krav 1 eller 2, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for behandling av takykardi hos et dyr.

31.

20 Anvendelse ifølge krav 29 eller en forbindelse ifølge krav 30, der takykardien er atrieflimmer eller en supraventrikulær takykardi.

32.

25 Anvendelse ifølge krav 29 eller en forbindelse ifølge krav 30, der behandlingen inkluderer en reduksjon av dyrets ventrikkelfrekvens til en frekvens på fra ca 60 slag per minutt til ca 100 slag per minutt.

33.

30 Anvendelse ifølge krav 29 eller en forbindelse ifølge krav 30, der behandlingen inkluderer en reduksjon av dyrets ventrikkelfrekvens til en frekvens som ikke er lavere enn 40 slag per minutt.

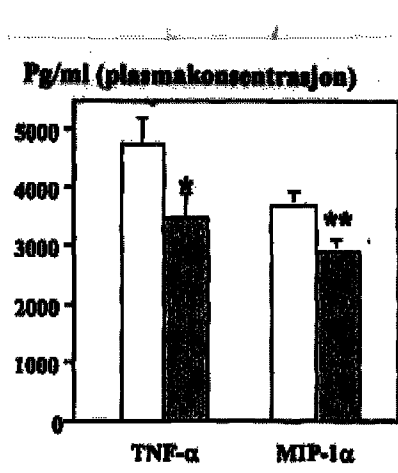


FIG. 1

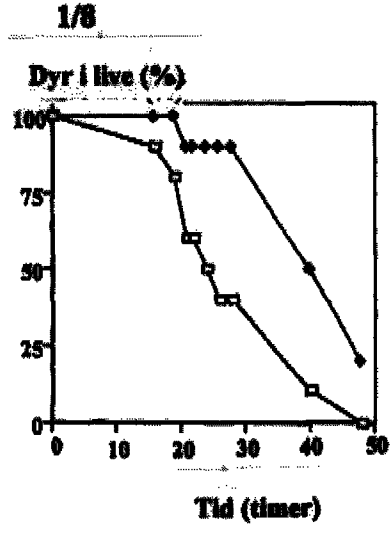


FIG. 2

2/8

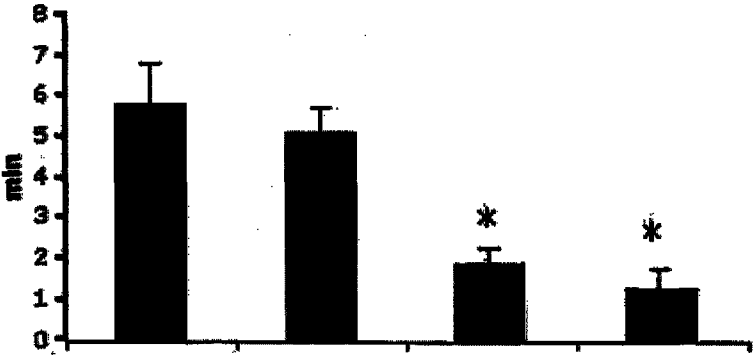


FIG. 3

3/8

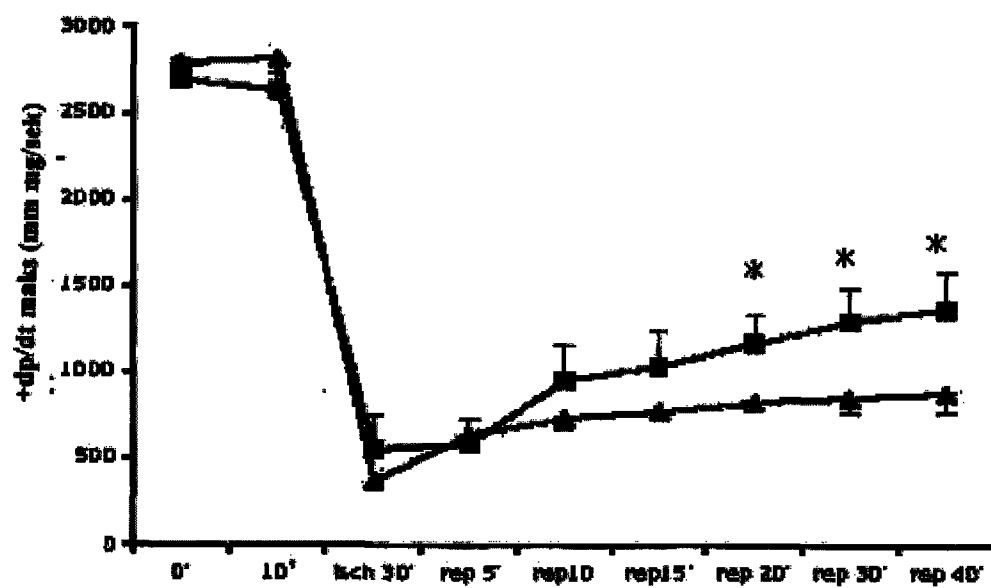


FIG. 4

4/8

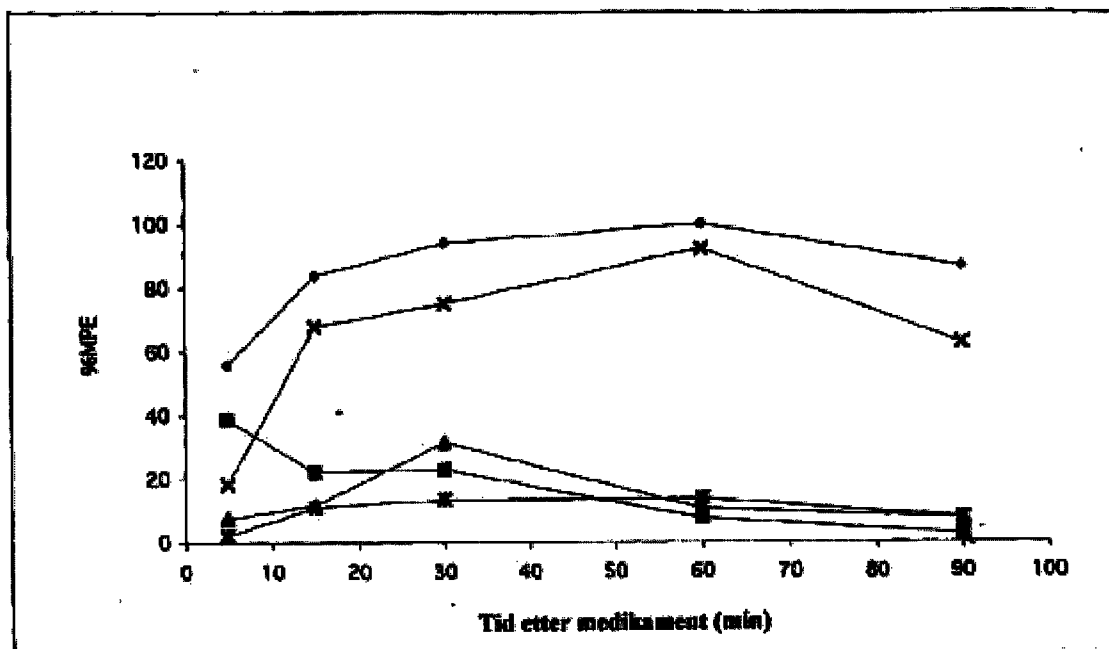


FIG. 5

5/8

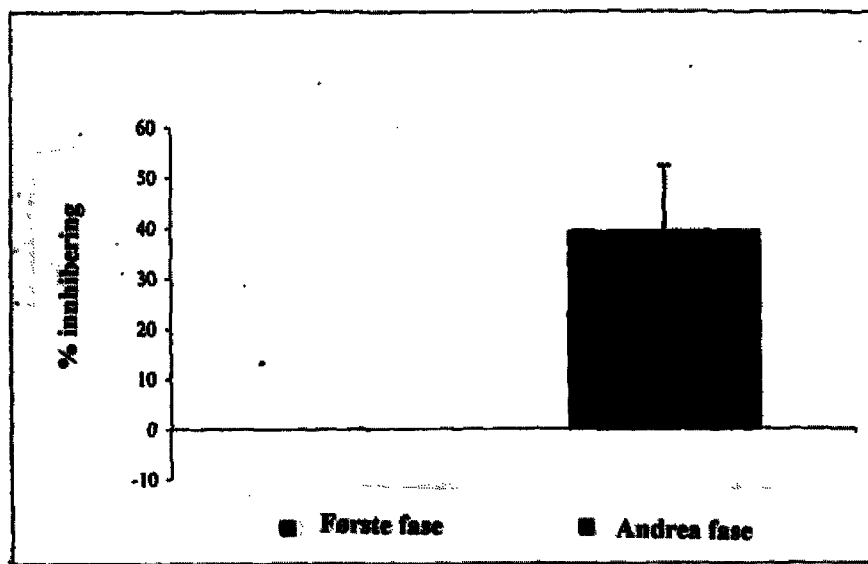


FIG. 6

6/8

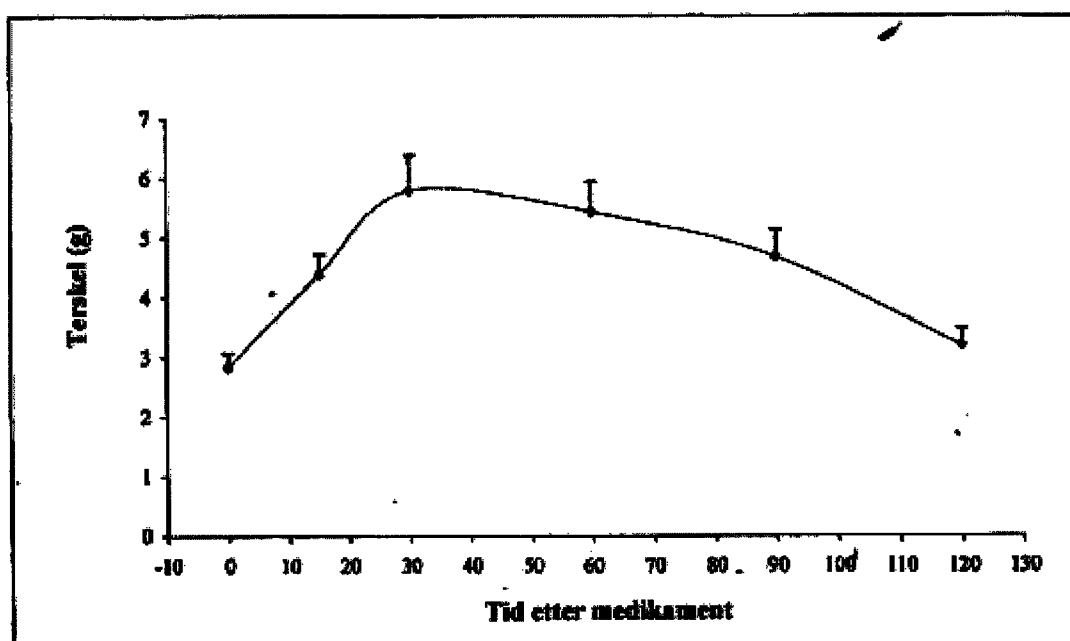


FIG. 7

7/8

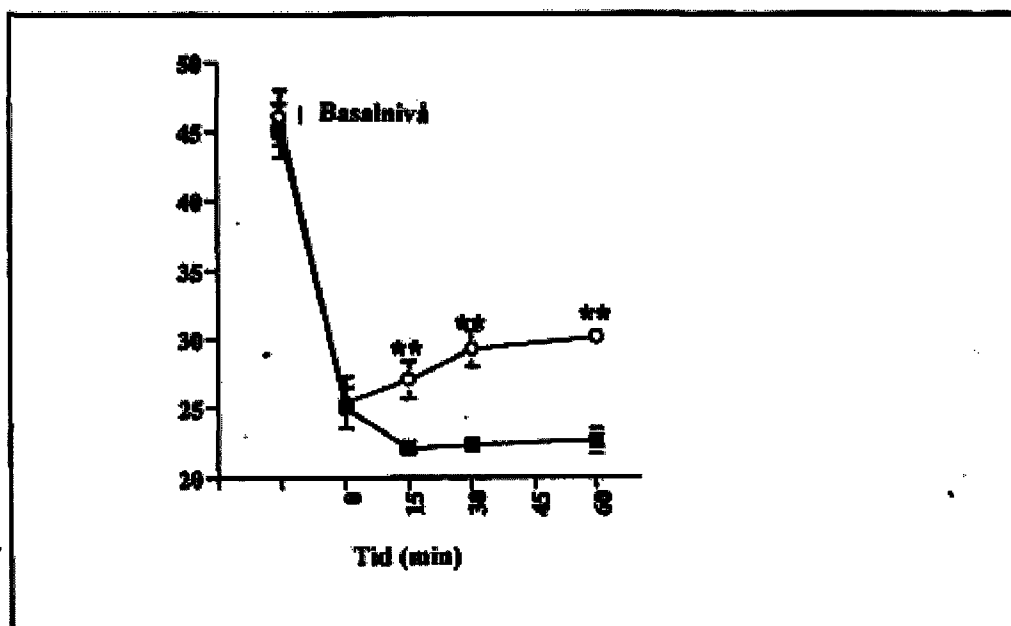


FIG. 8

8/8

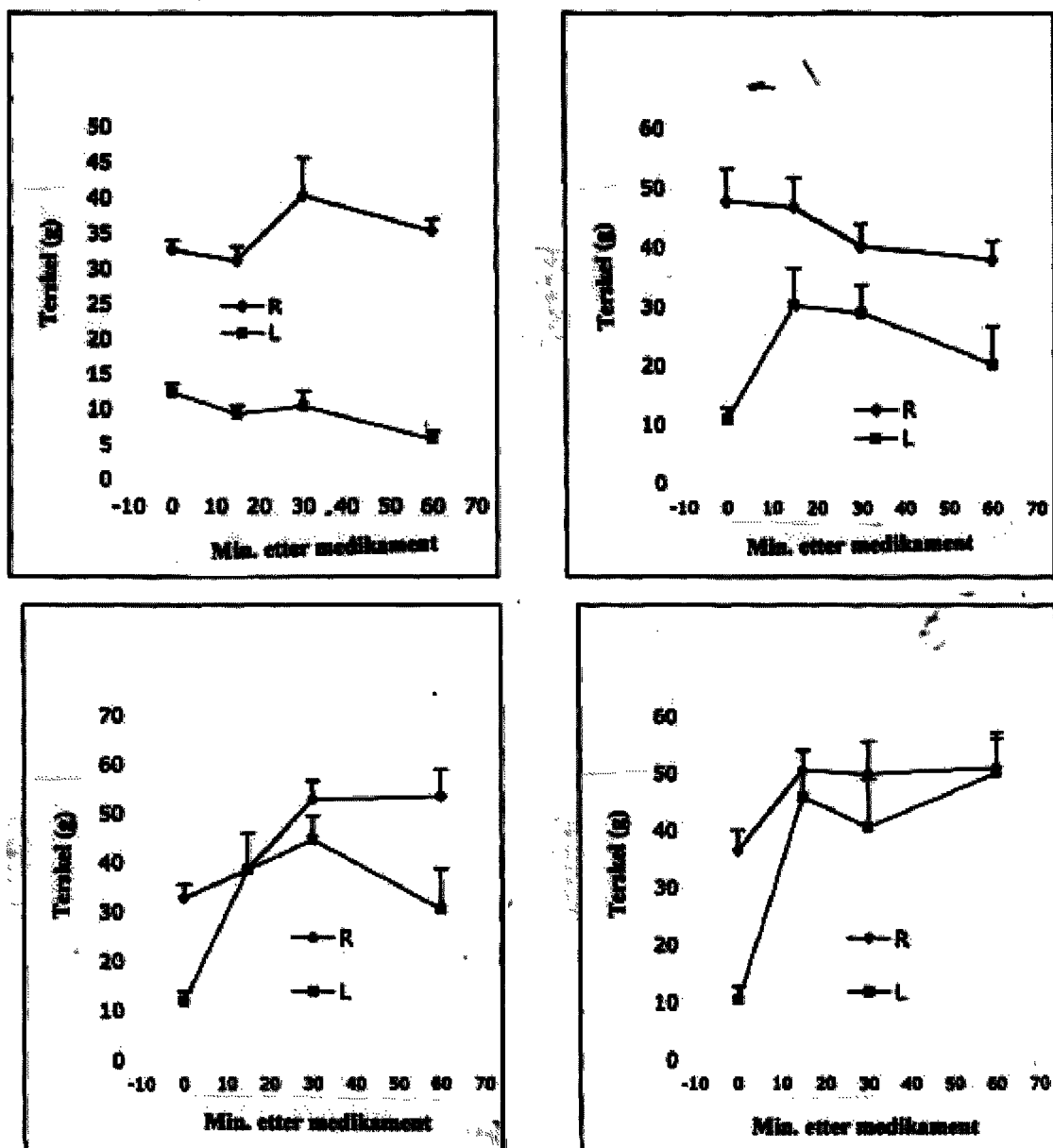


FIG. 9