



H U 0 0 0 2 2 1 5 0 1 B 1

(19) Országkód

HU

MAGYAR
KÖZTÁRSASÁGMAGYAR
SZABADALMI
HIVATALSZABADALMI
LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

221 501 B1

- (21) A bejelentés ügyszáma: P 95 02348
(22) A bejelentés napja: 1994. 02. 08.
(23) Módosítási elsőbbség: 1994. 07. 01.
(30) Elsőbbségi adatok:
9325712.9 1993. 12. 16. GB
9302636.7 1993. 02. 10. GB
(86) Nemzetközi bejelentési szám: PCT/GB 94/00237
(87) Nemzetközi közzétételi szám: WO 94/18216

(51) Int. Cl.⁷

C 07 H 19/20

A 61 K 31/70

A 61 P 7/02

- (40) A közzététel napja: 1996. 04. 29.
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 2002. 10. 28.

(72) Feltalálók:

Cage, Peter Alan, Shepshed, Leicestershire (GB)
Ingall, Anthony Howard, Loughborough,
Leicestershire (GB)
Kindon, Nicholas David, Ibstock, Leicestershire
(GB)

(73) Szabadalmaz:

AstraZeneca AB, Södertälje (SE)

(74) Képvisező:

Ráthonyi Zoltán, S. B. G. & K. Szabadalmi
Ügyvivői Iroda, Budapest

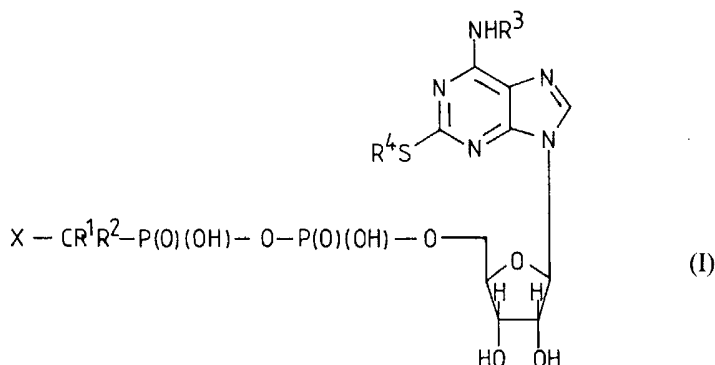
(54)

N-Alkil-2-szubsztituált ATP analógok

KIVONAT

A találmány a thrombocytaaggregációval együttjáró állapotok kezelésére és/vagy megelőzésére felhasználható új (I) általános képletű vegyületekre és gyógyszerészetileg elfogadható sóikra, a vegyületek előállítási eljárásaira, valamint a vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítményekre vonatkozik. Az (I) általános képletben R¹ és R² hidrogén- vagy halogénatom,

R³ és R⁴ fenilcsoport vagy alkilcsoport, amelyet adott esetben a következő csoportból kiválasztott egy vagy több helyettesítő szubsztituál: -OR⁵, -NR⁶R⁷ vagy -COOR⁸ általános képletű csoport, alkil-tio-, fenilcsoport vagy halogénatom, R⁵, R⁶, R⁷ és R⁸ hidrogénatom vagy alkilcsoport, és X jelentése savas csoport.



HU 221 501 B1

A találmány gyógyszerészetileg felhasználható új vegyületekre, a vegyületek előállításai eljárásaira, valamint a vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítményekre vonatkozik.

Az adenosin-trifoszfát (ATP) különféle szöveteken jelentős farmakológiai hatással rendelkezik. Az ATP és más extracelluláris adenin-nukleotidok, az adenosin-difoszfát (ADP) és az adenosin-monofoszfát (AMP) hatását a P_2 -purinoceptorok közvetítik. Ugyanakkor azonban az ATP hatásossága bizonyos szövetekben, például a hólyagszövetben az AMP-vé és adozinná történő, az ilyen szövetekben jelen lévő ektonukleotidázok általi gyors defoszforiláció következtében lecsökkenhet.

A különféle szövetekben jelen lévő P_2 -purinoceptorok vizsgálatához biológiai próbaként az utóbbi időben olyan ATP analógokat alkalmaztak, amelyek a defoszforilálódással szemben rezisztensek:

Cusack és munkatársai a 2-(metil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek metilén-difoszfonsavval, a 2-(metil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval, és a 2-(metil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (difluór-metilén)-difoszfonsavval alkotott vegyületének tengerimalac taenia colira és húgyhólyagra kifejtett hatását ismerteti [Cusack *et al.*, *Br. J. Pharmacol.*, 90, 791–795 (1987)]. Stone és Cusack a patkány hippocampusban lévő P_2 -purinoceptorok vizsgálatával kapcsolatban – egyebek mellett – a 2-(metil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (difluór-metilén)-difoszfonsavval alkotott vegyületének az alkalmazását írja le [Stone and Cusack, *Br. J. Pharmacol.*, 97, 631–635 (1989)]. Maguire és Satchell arról számol be, hogy a 2-klór-5'-adenilsav-monoanhidridnek metilén-difoszfonsavval alkotott vegyületével a tengerimalac taenia coli gátolható [Maguire and Satchell, „Physiological and Regulatory Functions of Adenosine and Adenine Nucleotides”, Ed. H. P. Baer and G. I. Drummond, Raven Press, New York (1979), p. 33–43].

Cusack és Hourani arról is beszámoltak, hogy a 2-(metil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek metilén-difoszfonsavval alkotott vegyülete gátolja az ADP- α -S által indukált trombocytáaggregációt [Cusack and Hourani, *Nucleosides & Nucleotides*, 10(5), 1019–1028 (1991)].

A WO 92/17488 közzétételi számú nemzetközi szabadalmi bejelentés számos 2-szubsztituált ATP analógot ismerteti, illetve leírja ezeknek a vegyületeknek a trombocytáaggregációt gátló hatását.

Az utóbbi időben olyan új N-alkil-2-szubsztituált ATP analógokat találtunk, amelyek farmakológiai aktivitással rendelkeznek.

A jelen találmány egy olyan (I) általános képletű vegyületre és gyógyszerészetileg elfogadható sóira vonatkozik, amelynek képletében

R^1 és R^2 jelentése egymástól függetlenül hidrogén- vagy halogénatom,

R^3 és R^4 jelentése egymástól függetlenül fenilcsoport vagy 1–6 szénatomos alkilcsoport, amelyet adott esetben a következő csoportból kiválasztott egy vagy több helyettesítő szubsztituál: $-OR^5$ általános képletű csoport, 1–6 szénatomos alkil-tio-csoport,

$-NR^6R^7$ általános képletű csoport, fenilcsoport, $-COOR^8$ általános képletű csoport vagy halogénatom,

R^5 , R^6 , R^7 és R^8 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1–6 szénatomos alkilcsoport, és X jelentése savas csoport.

Az (I) általános képletű vegyületeket tautomer, enantiomer és diasztereomer formákban létezhetnek, amelyek mindegyike a találmány oltalmi körébe tartozik.

A találmány további tárgyát képezi egy eljárás az (I) általános képletű vegyületek és gyógyszerészetileg elfogadható sóik előállítására, amelynek során

a) egy (II) általános képletű vegyületet – amelynek képletében R^3 és R^4 jelentése a fentiekben meghatározott, L_1 jelentése kilépőcsoport, és Y jelentése (i) hidroxics csoport, vagy (ii) L_2 kilépőcsoport, – vagy sóját egy (III) általános képletű vegyülettel – amelynek képletében R^1 , R^2 és X jelentése a fentiekben meghatározott – vagy sójával reagáltatunk, majd abban az esetben, ha Y jelentése L_2 kilépőcsoport, hidrolízist végzünk,

b) egy megfelelő, védett (I) általános képletű vegyületből, amelyben egy vagy több funkciócsoport védett, eltávolítjuk a védőcsoportot vagy védőcsoportokat,

és kívánt esetben egy így nyert (I) általános képletű vegyületet vagy sóját átalakítjuk egy gyógyszerészetileg elfogadható sóvá vagy *vice versa*.

Az a) (i) eljárásban, amikor Y jelentése hidroxics csoport, az L_1 kilépőcsoport példái közé tartoznak az aminok, például a dialkil-aminok, illetve a telített vagy telítetlen gyűrűs aminok; különösen előnyös kilépőcsoport – egyebek mellett – a morfolinil-, az imidazolil- és a triazolilcsoport. A reakciót előnyösen oldószerben, például egy dipoláris, aprotikus oldószerben, így piridinben, N,N-dimetil-formamidban, acetonitrilben, hexametil-foszfor-triamidban, N,N'-dimetil-propilén-karbamidban (DMPU) vagy 1-metil-2-pirrolidinonban végezzük. A reakciót -20°C és 100°C , például 10°C és 30°C közötti hőmérséklettartományban hajthatjuk végre.

Az olyan (II) általános képletű vegyületek, amelyek képletében Y jelentése hidroxics csoport, ismertek, illetve az ezen a területen jártas szakember számára ismert, például a WO 92/17488 közzétételi számú nemzetközi szabadalmi bejelentésben ismertetett analóg eljárások alkalmazásával előállíthatók. Például az olyan (II) általános képletű vegyületeket, amelyek képletében L_1 jelentése morfolinilcsoport, úgy állíthatjuk elő, hogy a megfelelő 5'-monofoszfátokat egy kondenzálószer, például ciklohexil-karbodiimid jelenlétében, előnyösen protikus oldószerben, például *tert*-butil-alkohol és víz keverékében morfolinnal reagáltatjuk.

Az a) (ii) eljárásban, amikor Y jelentése L_2 kilépőcsoport, az L_1 és az L_2 kilépőcsoport például egy halogénatom, így klóratom lehet. Az L_1 és L_2 csoport jelentése nem szükségszerűen, de előnyösen azonos. Az olyan (II) általános képletű vegyületeket, amelyek képletében Y jelentése L_2 kilépőcsoport, a megfelelő nukleozidból úgy állíthatjuk elő, hogy a kiindulási anyagot egy három kilépőcsoportot tartalmazó foszforilező-

szerrel, például egy $\text{POL}_1\text{L}_2\text{L}_3$ általános képletű vegyülettel reagáltatjuk; a különösen előnyös foszforilezőszerek közé tartozik – egyebek mellett – például a foszforil-klorid (POCl_3). Az így nyert (II) általános képletű vegyületet nem szükséges izolálni, hanem *in situ* reagáltatható egy (III) általános képletű vegyülettel, majd ezt követően hidrolízist, például nátrium-karbonát alkalmazásával történő báziskatalizált hidrolízist végzünk.

A (II) általános képletű vegyületek előállításában alkalmazott nukleozidok és nukleozid-5'-monofoszfátok ismertek, illetve ismert eljárások alkalmazásával előállíthatók; ilyen eljárásokat ismertetnek például a következő szakirodalmi helyen: „Chemistry of Nucleosides and Nucleotides”, Vol. 2, Ed. Leroy B. Townsend, Plenum Press (1991).

A (III) általános képletű vegyületek ismertek, illetve ismert eljárások, például a WO 92/17488 közzétételi számú nemzetközi bejelentésben ismertetett eljárások alkalmazásával előállíthatók.

A fenti eljárásban szükség lehet a kiindulási anyagokban lévő funkciós csoportok, például hidroxil- vagy aminocsoportok védésére; ennek megfelelően a b) eljárás magában foglalja egy vagy több védőcsoport eltávolítását is.

Alkalmos védőcsoportokat írnak le, illetve ezek eltávolítási eljárásait ismertetik például a következő szakirodalmi helyen: „Protective Groups in Organic Synthesis”, T. Greene and P. G. M. Wuts, John Wiley and Sons Inc. (1991). A hidroxicsoporthok például a következő csoportokkal védhetők: aril-metil-csoportok, például fenil-metil- (benzil-), difenil-metil- (benzhidril-) vagy trifenil-metil-csoport (tritolcsoport); acilcsoportok, például acetil-, triklór-acetil- vagy trifluor-acetil-csoport; vagy tetrahidropiranszármazékok. Az aminocsoportok védésére alkalmas védőcsoportok közé tartoznak – egyebek mellett – például a következők: aril-metil-csoportok, például benzil-, (*R,S*)- α -fenil-etil-, difenil-metil- vagy trifenil-metil-csoport; valamint acilcsoportok, például acetil-, triklór-acetil- vagy trifluor-acetil-csoport. A védőcsoportok eltávolítására hagyományos módszereket alkalmazhatunk, amilyen például a hidrogenolízis, a savas vagy bázisos hidrolízis vagy a fotolízis. Az aril-metil-csoportokat például egy fémkatalizátor, így palládium/szén katalizátor jelenlétében végzett hidrogenolízis útján távolíthatjuk el. A tetrahidropiranszármazékokat savas körülmények között végzett hidrolízissel hasíthatjuk le. Az acilcsoportokat bázissal, például nátrium-hidroxiddal vagy kálium-karbonáttal végzett hidrolízissel távolíthatjuk el, illetve például a triklór-acetil-csoport eltávolítását redukció útján, például zink és ecetsav alkalmazásával végzett redukcióval hajthatjuk végre.

Az (I) általános képletű vegyületeket és a vegyületek sóit szokásos módszerek alkalmazásával izolálhatjuk a reakciókeverékeikből.

Az (I) általános képletű vegyületek sóit úgy állíthatjuk elő, hogy egy szabad sav formájában lévő (I) általános képletű vegyületet vagy ennek egy sóját, illetve egy szabad bázis formájában lévő (I) általános képletű vegyületet vagy ennek egy sóját vagy származékát a

megfelelő bázis vagy sav egy vagy több ekvivalensével reagáltatjuk. A reakciót olyan oldószerben vagy közegben végezhetjük, amelyben a só nem oldódik, vagy pedig amelyben a só oldódik, de az oldószer, például etanol, tetrahidrofuran vagy dietil-éter, vákuum alatt vagy fagyasztva szárítással (lío-filizálással) eltávolítható. A reakció cserebomlási folyamat is lehet, illetve ioncseréről gyantán is elvégezhető.

Az (I) általános képletű vegyületek gyógyszerészeti leg elfogadható sói – egyebek mellett – például a következő sókat foglalják magukban: alkálifémsók, például nátrium- és káliumsók; alkilföldfémsók, például kalcium- és magnéziumsók; a III. csoport elemeinek sói, például alumíniumsók; valamint ammóniumsók.

Az alkalmas szerves bázisokkal képezett sók – egyebek mellett – például a következő vegyületekkel alkotott sókat foglalják magukban: hidroxil-amin; rövid szénláncú alkil-aminok, például metil-amin vagy etil-amin; rövid szénláncú alkil-aminok, például metil-amin vagy etil-amin; szubsztituált rövid szénláncú alkil-aminok, például hidroxil-szubsztituált alkil-aminok; monociklusos, nitrogéntartalmú heterociklusos vegyületek, például piperidin vagy morfolin; aminosavak, például arginin, lizin stb., vagy ezek *N*-alkil-származékai; valamint aminocukrok, például *N*-metil-D-glükamin vagy glükózamin. Elsősorban a nemtoxikus, fiziológián elfogadható sók az előnyösek, ugyanakkor azonban például a termékek elkülönítésében vagy tisztításában más sók is jól alkalmazhatók.

Az (I) általános képletű vegyületek tautomeriát, mégpedig az adenin 6-os helyzetében imin-enamin tautomeriát mutatnak. A vegyületek egy vagy több aszimmetriás szénatommal is rendelkeznek, így optikai és/vagy diasztereoizomeriát ugyancsak mutatnak.

A diasztereoizomereket hagyományos módszerekkel, például kromatográfiás úton vagy frakcionált kristályosítással választjuk el egymástól. A különböző optikai izomereket a vegyületek racém vagy egyéb keverékeinek hagyományos módszerek, így frakcionált kristályosítás vagy HPLC alkalmazásával végzett elválasztás segítségével izolálhatjuk. Alternatív módon a kívánt optikai izomereket úgy is előállíthatjuk, hogy a megfelelő optikailag aktív kiindulási anyagokat olyan körülmények között reagáltatjuk, amely körülmények között nem történik racemizálódás.

Az R^3 – R^8 szubsztituensek jelentésében szereplő alkilcsoportok egyenes, elágazó vagy gyűrűs láncú, telített vagy telítetlen alkilcsoportokat foglalnak magukban.

Az R^1 és R^2 szubsztituens jelentésében szereplő halogénatomok közé tartozik a fluor-, a klór-, a bróm- és a jódatom.

Előnyösnek tekinthetjük azokat a vegyületeket, amelyek képletében R^1 és R^2 jelentése azonos. Különösen előnyösnek tekintjük azokat a vegyületeket, amelyek képletében R^1 és R^2 jelentése klóratom.

Ugyancsak előnyösek azok a vegyületek, amelyek képletében R^3 és R^4 jelentése olyan 1–6 szénatomos alkilcsoport, amelyet adott esetben a következő csoportból kiválasztott egy vagy több helyettesítő szubsztituál:

–OR⁵ általános képletű csoport, 1–6 szénatomos alkil-tio-csoport, –NR⁶R⁷ általános képletű csoport, fenilcsoport, –COOR⁸ általános képletű csoport vagy halogénatom.

Az R³ és R⁴ csoportot szubsztituáló halogénatomok közé tartozik a klór-, a bróm- és a jódatom, illetve különösen előnyös a fluoratom.

Különösen előnyösnek tekintjük azokat a vegyületeket, amelyek képletében R³ jelentése adott esetben 1–6 szénatomos alkil-tio-csoporttal szubsztituált 1–6 szénatomos alkilcsoport. Az R³ szubsztituens jelentésében szereplő alkilcsoportok előnyös példája a propil- és butilcsoport, illetve különösen előnyös az etilcsoport. Az R³ szubsztituens jelentésében szereplő szubsztituált alkilcsoportok egyik különösen előnyös példája a 2-(metil-tio)-etil-csoport.

Különösen előnyösek azok a vegyületek is, amelyek képletében R⁴ jelentése adott esetben egy vagy több, például három halogénatommal szubsztituált 1–6 szénatomos alkilcsoport. Az R⁴ különösen előnyös jelentései a propil- és a 3,3,3-trifluor-propil-csoportot foglalják magukban.

Az X szubsztituens jelentésében szereplő savas csoportok a Brönsted–Lowry-savakat, azaz a protondonorként működő savakat foglalják magukban. A savas csoportok mono- vagy polisavak lehetnek. A példaként megemlíthető egyedi savas csoportok közé tartoznak a következő képletű csoportok: –P(O)(OH)₂ (foszfonsav-csoport), –SO₃H (szulfonsav-csoport) és –COOH (karboxil-csoport).

Előnyösek az olyan (I) általános képletű vegyületek, amelyek képletében Z jelentése –P(O)(OH)₂ képletű csoport.

Az emlősökben kifejtett farmakológiai aktivitásuknak köszönhetően az (I) általános képletű vegyületek jól felhasználhatók. A vegyületek különösen a trombocytáaggregáció megelőzésében mutatnak jelentős hatást.

Az (I) általános képletű vegyületek, mint trombocytáaggregáció inhibitorok hatékonyságát az alapján határozhatjuk meg, hogy a vegyületek milyen mértékben képesek P_{2T}-receptor antagonistaként működni (lásd a X. példát).

A vegyületeket bármely olyan állapot esetén felhasználhatjuk, amely állapot trombocytáaggregációval jár együtt. A vegyületek trombózisellenes szerként hatnak, és alkalmazásuk különösen az instabil angina, a thromboemboliás stroke és perifériás vasculáris betegségek kezelésére vagy megelőzésére javallott. A vegyületek felhasználhatók az angioplasticából, thrombolysisból, endarterectomiából, coronariás vagy vasculáris transzplantációból, vesedialízisből és cardiopulmonariás bypass-ból származó trombózisos komplikációk következményeinek kezelésére vagy megelőzésére is.

A további javallatok közé tartozik a disszeminált intravasculáris koaguláció, a mélyvénás trombózis, a pre-eclampsia/eclampsia, a sebészeti vagy baleseti traumát követő szöveti károsodás, a vasculitis, az arteritis, a trombocythaemia, az ischaemia és a migrén kezelése.

A találmány további részét képezik a fentiekben meghatározott (I) általános képletű vegyületek, mint gyógyszerek.

A találmány kiterjed egy (I) általános képletű vegyületre vagy gyógyszerészetileg elfogadható sójának trombocytáaggregációval együttjáró állapotok kezelésére szolgáló gyógyszerkészítmény előállítására történő felhasználására is.

A beadandó dózis nagymértékben függ – egyéb tényezők mellett – például az alkalmazott egyedi (I) általános képletű vegyülettől, a beadási módtól, a kezelendő állapot jellegétől és súlyosságától. Általában azonban ember esetén a teljes napi dózis 0,1 mg és 1000 mg közötti nagyságú, amelyet több részre, például napi hat részre elosztva adhatunk be. Amennyiben a vegyületet infúzió útján kívánjuk beadni, ember esetén például a 0,5 µg·kg⁻¹·perc⁻¹ tekinthető jellegzetes adagolási sebességnek.

A vegyületeket általában egy gyógyszerkészítmény formájában adjuk be.

A találmány további tárgya egy olyan gyógyszerkészítmény, amely egy gyógyszerészetileg elfogadható hígítószerrel vagy hordozóval összekeverve előnyösen 80 tömeg%-nál kisebb mennyiségben, még előnyösebben 50 tömeg%-nál kisebb mennyiségben, például 0,1–20 tömeg% mennyiségben egy, a fentiekben meghatározott (I) általános képletű vegyületet vagy ennek egy gyógyszerészetileg elfogadható sóját tartalmazza.

A találmány kiterjed egy ilyen gyógyszerkészítmény előállítási eljárására is, amelynek során a gyógyszerkészítmény komponenseit összekeverjük.

A felhasználható gyógyszerkészítmények, valamint az alkalmas hígítószer vagy hordozók példái közé tartoznak a következők:

- intravénás injekció vagy infúzió – tisztított víz vagy nátrium-klorid-oldat;
- inhalációs kompozíciók – szemcsés laktóz;
- tabletták, kapszulák és dragsék – mikrokristályos cellulóz, kalcium-foszfát, diatómaföld, cukor, például laktóz, dextróz vagy mannit, talkum, sztearinsav, keményítő, nátrium-hidrogén-karbonát és/vagy zselatin;
- kúpok – természetes vagy keményített olajok vagy viaszok.

Amennyiben a vegyületet vizes oldatban kívánjuk felhasználni, például infúziók esetén, szükség lehet egyéb vivőanyagok beépítésére is. Közlebből megemlíthetők a kelátképző vagy komplexképző szerek, az antioxidánsok, a tónusszabályozó szerek, a pH-beállító szerek és a pufferelőszerek.

Az (I) általános képletű vegyületeket tartalmazó oldatok kívánt esetben például fagyaszttva szárítással vagy porlasztva szárítással bepárolhatók, amelyek eredményeként olyan szilárd kompozíciókat nyerünk, amelyekből közvetlenül a felhasználást megelőzően állíthatjuk helyre a felhasználásra alkalmas készítményformát.

Amennyiben az (I) általános képletű vegyület nem oldat formájában van, a vegyület 0,01–10 µm átlagos átmérőjű formában van. A készítmények alkalmas tartó-

sítószereket, stabilizáló- és nedvesítőszereket, oldás-gyorsító szereket, például egy vízdoldható cellulózpolimert, így (hidroxil-propil)-metil-cellulózt vagy egy vízdoldható glikolt, így propilén-glikolt, édesítő-, színező- és ízesítőszereket is tartalmazhatnak. Ahol szükséges, a készítményeket hosszan tartó felszabadulású formákká is formálhatjuk.

A találmány részét képezi továbbá egy eljárás trombocitaaggregációval együjtő állapot kezelésére, amelynek során egy ilyen állapottól szenvedő betegnek beadjuk egy (I) általános képletű vegyület terápiásan hatásos mennyiségét.

A találmány szerinti vegyületek előnyei közé tartozik, hogy a technika állása alapján ismert vegyületekhez képest a találmány szerinti vegyületek kevesebb mellékhatást okoznak, például az Y. példa szerinti eljárás alapján kisebb mértékben eredményeznek hypothermiát, előnyösen hosszabb hatástartamúak, kevésbé toxikusak, hatékonyabbak, nagyobb hatóképeségűek, stabilabbak, könnyebben abszorbeálhatók, könnyebben kiürülnek a szervezetből, szélesebb hatástartománnyal, illetve jobb farmakológiai tulajdonságokkal rendelkeznek.

A következő példák a találmány részletesebb bemutatására szolgálnak. A példák nem korlátozó jellegűek. A hőmérsékleti értékeket Celsius-fok (°C) egységben adjuk meg. A példákban alkalmazott vegyületnevek a Chemical Abstract nomenklaturájának elveit követik.

1. példa

N-Etil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó

a) *N-Etil-2-(propil-tio)-adenozin*

1,3 g 6-klór-2-(propil-tio)-9-(2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranozil)-purinnak, 1,6 ml etil-amin 30 ml di-oxánnal készített oldatának és 30 ml víznek a keverékét lezárt autoklávban 20 órán keresztül 110 °C hőmérsékleten melegítettük. A reakciókeveréket ezt követően szobahőmérsékletre hűtöttük, majd bepároltuk. Az így nyert maradékot etil-acetátból átkristályosítottuk, majd szilikagélén végzett kromatográfiával tovább tisztítottuk, amelynek során eluensként 1:15 térfogatarányú metanol/etil-acetát oldószerkeletet alkalmaztunk. Ennek eredményeként 0,46 g mennyiségben nyertük az alcím szerinti vegyületet.

MS (FAB): 370 (M+H, 100%), 238 (30%).

b) *N-Etil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoammónium-só*

0,4 g a) lépés szerinti termék 12 ml trietil-foszfáttal készített oldatához 0 °C hőmérsékleten kevertetés közben 0,66 g foszforil-kloridot adtunk. A reakciókeveréket 4,5 órán keresztül kevertettük, majd 100 g olyan jeges vízre öntöttük, amely jeges víz 1,45 g nátrium-hidrogén-karbonátot tartalmazott. Az oldatot 45 perc elteltével kétszer 100 ml dietil-éterrel mostuk, majd Dowex 50W X 8 (H⁺ forma) oszlopra vittük. Amíg az eluátum elérte a pH 6 értéket, az oszlopot vízzel mostuk, majd ezt követően az elúciót 2 M ammónium-hidroxid-oldattal végeztük. Liofilizálást követően 0,32 g mennyiségben nyertük az alcím szerinti vegyületet.

³¹P-NMR δ (D₂O): 2,03 (s).

c) *N-Etil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó*

0,38 g b) lépés szerinti terméket és 0,15 g tributil-amint összekevertünk kevés piridinnel, majd az oldatot szárazra pároltuk. A háromszor 15 ml piridinnel, majd kétszer 15 ml vízmentes *N,N*-dimetil-formamiddal végzett azeotróp szárítás után az így nyert maradékot feloldottuk 10 ml vízmentes *N,N*-dimetil-formamidban. Az oldathoz 0,66 g karbonil-diimidazolt adtunk, majd a reakciókeveréket 4 órán keresztül szobahőmérsékleten állni hagytuk, ezt követően pedig 0,209 g metanolt adtunk hozzá. Harminc perc elteltével a keverékhez hozzáadtuk 2,09 g (diklór-metilén)-difoszfonsav-mono(tributil-ammónium)-só 30 ml vízmentes *N,N*-dimetil-formamiddal készített oldatát, majd a keveréket 18 órán keresztül szobahőmérsékleten kevertettük. A keveréket szűrtek, a szűrletet bepároltuk, majd az így nyert maradékot DEAE-Sephadex oszlopon kromatografálva tisztítottuk, amelynek során eluensként 0 M → 0,6 M (trietil-ammónium)-hidrogén-karbonát-oldatot alkalmaztunk. Az eluátum liofilizálásával kapott trietil-ammónium-sót feloldottuk 2 ml metanolban, majd az oldathoz hozzáadtunk 30 ml 1 M acetonos nátrium-jodid-oldatot. A csapadékot centrifugálással elkülönítettük, 40 ml acetonban szuszpendáltuk, majd centrifugáltuk. Az utóbbi műveletet még három alkalommal megismételtük. Végül a szilárd anyagot feloldottuk vízben, és az oldatot liofilizáltuk. A cím szerinti sót szintelen por formájában és 0,25 g mennyiségben nyertük.

³¹P-NMR δ (D₂O): 9,00 (d, J=18,6 Hz), 1,8 (dd, J=18,6 Hz, J=30,4 Hz), -9,35 (d, J=30,4 Hz).

2. példa

N-Butil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó

a) *N-Butil-2-(propil-tio)-adenozin*

Az alcím szerinti vegyületet az 1. példa a) lépésében ismertetett eljárásnak megfelelően állítottuk elő. MS (FAB): 398 (M+H, 100%).

b) *N-Butil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó*

1,8 g a) lépés szerinti termék 50 ml trietil-foszfáttal készített oldatához hűtés közben cseppenként hozzáadtunk 1,39 g foszforil-kloridot.

5,76 g (diklór-metilén)-difoszfonsav-mono(tributil-ammónium)-só 60 ml trietil-foszfáttal készített szuszpenziójához kevertetés közben hozzáadtunk 2,16 ml tributil-amint. A keveréket egy órán keresztül szobahőmérsékleten kevertettük, majd az így nyert oldatot 15 perc alatt hozzáadtuk az előző bekezdésben ismertetett oldathoz. A reakciókeveréket 4 órán keresztül kevertettük, majd 113 ml 5 tömeg%-os vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldatra öntöttük, és az így nyert keveréket 18 órán keresztül kevertettük. A kapott oldatot négyszer 50 ml dietil-éterrel mostuk, majd liofilizáltuk. Az így nyert anyagot fordított fázisú C₁₈ szilícium-dioxid

oszlopon tisztítottuk, amelynek során eluensként előbb 4 tömeg%-os nátrium-klorid-oldatot, majd vizet alkalmaztunk. A cím szerinti sót szintelen, szilárd anyag formájában és 0,69 g mennyiségben nyertük.

^{31}P -NMR δ (D_2O): 9,70 (d, $J=18,4$ Hz), 3,4 (dd, $J=18,4$ Hz, $J=30,5$ Hz), -9,19 (d, $J=30,5$ Hz).

3. példa

A következő vegyületeket a 2. példa szerinti eljárásnak megfelelően állítottuk elő.

a) *N*-Propil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó

i. *N*-Butil-2-(propil-tio)-adenozin
MS (FAB): 384 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100%).

ii. *N*-Butil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó

^{31}P -NMR δ (D_2O): 8,92 (d, $J=18,5$ Hz), 1,07 (dd, $J=18,7$ Hz, $J=29,0$ Hz), -9,4 (d, $J=29,4$ Hz).

b) *N*-Izopropil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, diammóniumsó

i. *N*-Izopropil-2-(propil-tio)-adenozin
MS (FAB): 384 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100%), 252.

ii. *N*-Izopropil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, diammóniumsó

A nyersterméket DEAE-Sephadex oszlopon kromatografálva tovább tisztítottuk, amelynek során eluensként 0 $\text{M} \rightarrow 0,6$ M ammónium-hidrogén-karbonát-oldatot alkalmaztunk, és ezt követően kaptuk a cím szerinti sót.

^{31}P -NMR δ (D_2O): 8,71 (d, $J=18,6$ Hz), 0,38 (dd, $J=19,1$ Hz, $J=28,7$ Hz), -9,49 (d, $J=29,0$ Hz).

c) *N*-(2-Metoxi-etil)-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó

i. *N*-(2-Metoxi-etil)-2-(propil-tio)-adenozin
MS (FAB): 400 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100%), 268.

ii. *N*-(2-Metoxi-etil)-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó

^{31}P -NMR δ (D_2O): 9,05 (d, $J=18,7$ Hz), 1,44 (dd, $J=18,8$ Hz, $J=29,3$ Hz), -9,40 (d, $J=29,5$ Hz).

d) *N*-Ciklopentil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó

i. *N*-Ciklopentil-2-(propil-tio)-adenozin
MS (FAB): 410 ($\text{M}+\text{H}^+$, 278 (100%).

ii. *N*-Ciklopentil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó

Elementáranalízis:

$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_{12}\text{P}_3\text{S}_7\text{H}_2\text{O}$ összegképletre

számított %: C 24,56, H 4,30, N 7,53, S 3,44.

talált %: C 24,43, H 4,43, N 7,52, S 3,76.

e) *N*-Fenil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó

i. *N*-Fenil-2-(propil-tio)-adenozin

MS (FAB): 418 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100%), 278.

ii. *N*-Fenil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó

^{31}P -NMR δ (D_2O): 8,98 (d, $J=18,3$ Hz), 2,70 (dd, $J=18,3$ Hz, $J=30,6$ Hz), -9,89 (d, $J=30,6$ Hz).

f) *N*-(2,2,2-Trifluor-etil)-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó

i. *N*-(2,2,2-Trifluor-etil)-2-(propil-tio)-adenozin
MS (FAB): 424 ($\text{M}+\text{H}^+$), 292 (100%).

ii. *N*-(2,2,2-Trifluor-etil)-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó
MS (FAB): 822, 820, 818 ($\text{M}+\text{H}^+$), 115 (100%).

g) *N*-[(Metoxi-karbonil)-metil]-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, triammóniumsó

20 i. *N*-[(Metoxi-karbonil)-metil]-2-(propil-tio)-adenozin

Elementáranalízis:

$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ összegképletre

számított %: C 46,48, H 5,61, N 16,94, S 7,76,

25 talált %: C 46,44, H 5,43, N 16,80, S 7,67.

ii. *N*-[(Metoxi-karbonil)-metil]-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, triammóniumsó

30 A nyersterméket DEAE-Sephadex oszlopon kromatografálva tovább tisztítottuk, amelynek során eluensként 0 $\text{M} \rightarrow 0,6$ M ammónium-hidrogén-karbonát-oldatot alkalmaztunk, és ezt követően kaptuk a cím szerinti sót.

^{31}P -NMR δ (D_2O): 9,05 (d, $J=18,7$ Hz), 1,44 (dd, $J=18,8$ Hz, $J=29,3$ Hz), -9,40 (d, $J=29,5$ Hz).

h) *N*-[2-(Metil-tio)-etil]-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, triammóniumsó

i. *N*-[2-(Metil-tio)-etil]-2-(propil-tio)-adenozin
MS (FAB): 416 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100%).

ii. *N*-[2-(Metil-tio)-etil]-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, triammóniumsó

45 A nyersterméket DEAE-Sephadex oszlopon kromatografálva tovább tisztítottuk, amelynek során eluensként 0 $\text{M} \rightarrow 0,6$ M ammónium-hidrogén-karbonát-oldatot alkalmaztunk, és ezt követően kaptuk a cím szerinti sót.

^{31}P -NMR δ (D_2O): 8,68 (d, $J=18,6$ Hz), 0,33 (dd, $J=18,9$ Hz, $J=29,0$ Hz), -9,53 (d, $J=29,0$ Hz).

j) *N*-[2-(*N,N*-Dimetil-amino)-etil]-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, trinátriumsó

i. *N*-[2-(*N,N*-Dimetil-amino)-etil]-2-(propil-tio)-adenozin

MS (FAB): 413 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100%).

ii. *N*-[2-(*N,N*-Dimetil-amino)-etil]-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, trinátriumsó

60 MS (FAB): 789, 787, 785 ($\text{M}+\text{H}^+$), 93 (100%).

4. példa

2-(Ciklohexil-tio)-N-etil-5'-adenilsav-monoanhidrid (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó

- a) 2-(Ciklohexil-tio)-6-klór-9-(2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranozil)-purin

10,0 g 2-amino-6-klór-9-(2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranozil)-purin 200 ml acetonitrillel készített oldatához hozzáadtunk 51,5 g diciklohexil-diszulfidot és 16,96 g izoamil-nitritet. Az oldatot nitrogénnel gázmentesítettük, majd 16 órán keresztül 60 °C hőmérsékleten melegítettük. Az oldatot betöményítettük, és a maradékot szilikagélén kromatografálva tisztítottuk, amelynek során eluensként 1:1 térfogatarányú etil-acetát/petroléter oldószerkeletet alkalmaztunk. Az alcím szerinti vegyületet narancssárga gumi formájában és 3,88 g mennyiségben nyertük.

MS (EI): 528, 526 (M⁺), 43 (100%).

- b) 2-(Ciklohexil-tio)-N-etil-adenozin

Az alcím szerinti vegyületet az a) lépés termékének felhasználásával az 1. példa a) eljárásának megfelelően állítottuk elő.

MS (FAB): 410 (M+H⁺, 100%).

- c) 3-(Ciklohexil-tio)-N-etil-5'-adenilsav-monoanhidrid (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó

Az alcím szerinti vegyületet a b) lépés termékének felhasználásával a 2. példa b) eljárásának megfelelően állítottuk elő.

³¹P-NMR δ (D₂O): 9,85 (d, J=18,5 Hz), 3,85 (dd, J=18,5 Hz, J=30,4 Hz), -9,07 (d, J=30,4 Hz).

5. példa

N-Etil-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-5'-adenilsav-monoanhidrid (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, trinátriumsó

- a) 2-[(3,3,3-Trifluor-propil)-tio]-adenozin

1,453 g 60 tömeg%-os nátrium-hidrid és 5,35 g 2-tioxo-adenozin 80 ml N,N-dimetil-formamiddal készített szuszpenzióját egy órán keresztül szobahőmérsékleten kevertettük, majd hozzáadtunk 6,6 ml 3-klór-1,1,1-trifluor-propánt. Az oldatot 5 napon keresztül kevertettük, majd betöményítettük. A maradékot megosztottuk 250 ml etil-acetát és 150 ml víz között. A szerves fázist szárítottuk, majd betöményítettük. A maradékot szilikagélén kromatografálva tisztítottuk, amelynek során eluensként 9:1 térfogatarányú metilén-diklorid/metanol oldószerkeletet alkalmaztunk. Az alcím szerinti vegyületet színtelen, szilárd anyag formájában és 5,55 g mennyiségben nyertük.

MS (FAB): 396 (M+H⁺, 100%).

- b) N-Acetil-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-adenozin-2',3',5'-triacetát

5,28 g a) lépés szerinti terméket és 0,723 g vízmentes nátrium-acetátot 42 ml ecetsavanhidriddel 6,5 órán keresztül 80 °C hőmérsékleten kevertettünk. Az oldatot meghígítottuk 100 ml vízzel, szobahőmérsékleten 18 órán keresztül kevertettük, majd négyszer 20 ml metilén-dikloriddal extraháltuk. Az egyesített szerves extraktumokat 200 ml telített, vizes nátrium-hidrogén-kar-

bonát-oldattal mostuk, majd bepároltuk. A maradékot szilikagélén kromatografáltuk, amelynek során eluensként 97:3 térfogatarányú dietil-éter/metanol oldószerkeletet alkalmaztunk. Ennek eredményeként az alcím szerinti vegyületet színtelen hab formájában és 5,35 g mennyiségben nyertük.

MS (FAB): 564 (M+H⁺), 139 (100%).

- c) N-Acetil-N-etil-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-adenozin-2',3',5'-triacetát

0,443 g 60 tömeg%-os nátrium-hidrid 100 ml N,N-dimetil-formamiddal készített, 2,2 ml etil-jodidot tartalmazó szuszpenziójához 3 óra alatt cseppenként hozzáadtuk 5,12 g b) lépés szerinti termék 100 ml N,N-dimetil-formamiddal készített oldatát. A keveréket 2 napon keresztül kevertettük, majd az oldatot bepároltuk. A maradékot feloldottuk 300 ml etil-acetátban, majd az oldatot háromszor 100 ml vízzel mostuk. A szerves fázist betöményítettük, és a maradékot szilikagélén kromatografálva tisztítottuk, amelynek során eluensként 1:1 térfogatarányú etil-acetát/ciklohexán oldószerkeletet alkalmaztunk. Ennek eredményeként az alcím szerinti vegyületet sárga gumi formájában és 4,54 g mennyiségben nyertük.

MS (FAB): 592 (M+H⁺), 139 (100%).

- d) N-Etil-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-adenozin

4,54 g c) lépés szerinti terméket 155 ml 0,1 M metanolos nátrium-hidroxid-oldatban 30 percen keresztül visszafolytatás mellett forraltunk. A reakciókeveréket szobahőmérsékletre hűtöttük, ezt követően hozzáadtunk 0,89 ml jégcetet, majd a keveréket betöményítettük. A maradékot szilikagélén kromatografálva tisztítottuk, amelynek során eluensként 95:5 térfogatarányú metilén-diklorid/metanol oldószerkeletet alkalmaztunk. Ennek eredményeként az alcím szerinti vegyületet színtelen, szilárd anyagformájában és 2,73 g mennyiségben nyertük.

MS (FAB): 424 (M+H⁺, 100%).

- e) N-Etil-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-5'-adenilsav-monoanhidrid (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, trinátriumsó

A cím szerinti sót a d) lépés termékének felhasználásával a 2. példa b) eljárásának megfelelően állítottuk elő.

³¹P-NMR δ (D₂O): 8,89 (d, J=18,0 Hz), 2,34 (dd, J=18,0 Hz, J=30,0 Hz), -9,90 (d, J=30,0 Hz).

6. példa

A következő vegyületeket a 2. példa szerinti eljárásnak megfelelően állítottuk elő.

- a) N-(2,2,2-Trifluor-etil)-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-5'-adenilsav-monoanhidrid (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, triammóniumsó

- i. N-Acetil-N-(2,2,2-trifluor-etil)-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-adenozin-2',3',5'-triacetát

MS (FAB): 646 (M+H⁺).

- ii. N-(2,2,2-Trifluor-etil)-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-adenozin

MS (FAB): 478 (M+H⁺), 346 (100%).

- iii. N-(2,2,2-Trifluor-etil)-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-5'-adenilsav-monoanhidrid (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, triammóniumsó

^{31}P -NMR δ (D_2O): 8,82 (d, $J=18,6$ Hz), 0,63 (dd, $J=18,9$ Hz, $J=28,9$ Hz), -9,43 (d, $J=29,0$ Hz).

b) *N*-[2-(Metil-tio)-etil]-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-5'-adenilsav-monoanhidrid (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, triammóniumsó

i. *N*-Acetil-*N*-[2-(Metio-tio)-etil]-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-adenozin-2',3',5'-triacetát
MS (FAB): 638 ($\text{M}+\text{H}^+$), 139 (100%).

ii. *N*-[2-(Metil-tio)-etil]-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-adenozin

Elementáranalízis:

$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_4\text{S}_2$ összegképletre:

számított %: C 40,90, H 4,72, N 14,92, S 13,70,

talált %: C 40,70, H 4,82, N 14,79, S 13,70.

iii. *N*-[2-(Metil-tio)-etil]-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-5'-adenilsav-monoanhidrid (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, triammóniumsó

A nyersterméket DEAE-Sephadex oszlopon kromatografálva tovább tisztítottuk, amelynek során eluensként 0 M $\rightarrow$ 0,6 M ammónium-hidrogén-karbonát-oldatot alkalmaztunk, és ezt követően kaptuk a cím szerinti sót.

^{31}P -NMR δ (D_2O): 8,77 (d, $J=18,7$ Hz), 0,38 (dd, $J=18,9$ Hz, $J=27,4$ Hz), -9,43 (d, $J=28,8$ Hz).

7. példa

N-(2-Metoxi-etil)-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-5'-adenilsav-monoanhidrid (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó

a) *N*-(2-Metoxi-etil)-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-adenozin

4,8 g 5. példa b) eljárás szerinti termék, 1,2 ml 2-bróm-etil-metil-éter és 1,77 g kálium-karbonát 190 ml vízmentes *N,N*-dimetil-formamiddal készített oldatát 3 napon keresztül szobahőmérsékleten kevertettük. A reakciókeverékhez hozzáadtunk további 1,2 ml 2-bróm-etil-metil-étert és 1,77 g kálium-karbonátot, majd 24 órán át 40 °C hőmérsékleten kevertettük a keveréket. Ezt követően a reakciókeveréket szűrtük, és a szűrletet betöményítettük. A maradékként nyert olajat megosztottuk 200 ml etil-acetát és 200 ml víz között. A szerves fázist szárítottuk és betöményítettük. A maradékként nyert gumit feloldottuk 180 ml 0,1 M metanolos nátrium-metanolat-oldatban, majd az oldatot 45 percen keresztül visszafolyatás mellett forraltuk. Az oldatot ecetsavval semlegesítettük, ezt követően betöményítettük, és a maradékot szilikagélén kromatografálva tisztítottuk, amelynek során eluensként 92:8 térfogatarányú metilén-diklorid/metanol oldószerkeletet alkalmaztunk. Az alcím szerinti vegyületet szintelen, szilárd anyag formájában és 3,41 g mennyiségben nyertük.

MS (FAB): 454 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100%).

b) *N*-(2-Metoxi-etil)-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-5'-adenilsav-monoanhidrid (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete, tetranátriumsó

A cím szerinti sót az a) lépés termékének felhasználásával a 2. példa b) eljárásának megfelelően állítottuk elő.

^{31}P -NMR δ (D_2O): 9,88 (d, $J=19,0$ Hz), 3,80 (dd, $J=19,0$ Hz, $J=31,0$ Hz), -9,12 (d, $J=31,0$ Hz).

X. példa

5 *A mosott humán vérlemezkékben fellépő $\text{P}_{2\text{T}}$ receptor agonista/antagonista aktivitás kvantifikálása*

Preparálás

100 ml humán vénás vért egyenlő részletekben három olyan csőbe mértünk, amelyek mindegyike antikoagulánsként 4 ml 3,2% trinátrium-citrátot tartalmazott. A csöveket 15 percen keresztül 240 G mellett centrifugáltuk, és így egy vérlemezkében dús plazmát (platelet-rich plasma, PRP) nyertünk, amelyhez a vérlemezkék mosás alatti stabilizálása érdekében 300 $\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ prosztaciklint (PGI_2) adtunk (az 1 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ koncentrációjú etanolos törzsoldatot nátrium-klorid-oldattal tízszeres térfogatra hígítottuk, majd ebből a meghígított oldatból 3 μl -t mértünk a PRP minden egyes milliliteréhez). A 125 G mellett 10 percen keresztül, majd 640 G mellett további 15 percen keresztül végzett centrifugálás eredményeként vörösvérsejtektől mentes PRP-t nyertünk. A felülúszót félretettük, és a vérlemezpelletet felszuszpendáltuk módosított, kalciummentes Tyrode-oldatban [(10 ml) CFT, összetétel: 137 mM ($8 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) nátrium-klorid, 11,9 mM ($1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) nátrium-hidrogén-karbonát, 0,38 mM ($0,06 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) nátrium-dihidrogén-foszfát, 2,86 mM (1 ml 20%-os oldat $\cdot \text{l}^{-1}$) kálium-klorid, 1,05 mM (1 ml 10%-os oldat $\cdot \text{l}^{-1}$) magnézium-klorid, 5,55 mM ($1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) dextróz], a szuszpenziót 95% oxigén/5% szén-dioxid gázkeverékkel telítettük, majd 37 °C hőmérsékleten tartottuk. További 300 $\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ PGI_2 -t adtunk hozzá, majd a szuszpenziót 640 G mellett 15 percen keresztül ismételt centrifugáltuk. A felülúszót félretettük, és a vérlemezkéket előbb 10 ml CFT-ben szuszpendáltuk, majd a vérlemezkesszám $2 \times 10^5 \cdot \mu\text{l}^{-1}$ értékre történő beállításához szükséges mennyiségben további CFT adtunk a szuszpenzióhoz. Az így nyert végső szuszpenziót levegő kizárása mellett, 3 °C hőmérsékleten egy fecskendőben tároltuk.

40 A normál funkció PGI_2 -gátlás alóli felszabadulásához az aggregációs vizsgálatokban a végső szuszpendálás után kétórás vérlemezkéket használtunk. Valamennyi vizsgálatban úgy jártunk el, hogy a vérlemezkesszuszenzió 430 μl -es részleteit olyan, szilikált (siliconized) aggregációs küvetákba mértük, amelyek mindegyike 10 μl 45 mM kalcium-klorid-oldatot tartalmazott (a kalcium-klorid végkoncentrációja 1 mM volt), majd a keveréket egy PAP4 aggregométerben (Biodata) 900 fordulat/perc sebesség mellett kevertettük. A keverékhez 50 humán fibrinogént (Sigma, F 4883) és a vegyületek P_1 agonista aktivitásának blokkolása érdekében 8-szulfonil-teofillint (8-SPT) adtunk olyan mennyiségben, hogy a humán fibrinogén végkoncentrációja 0,2 mg/ml , míg a 8-szulfonil-teofillin végkoncentrációja 3×10^{-4} M legyen; ennek során a fibrinogén esetén egy 10 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ koncentrációjú, nátrium-klorid-oldattal készült koagulálható protein törzsoldat 10 μl -ét, illetve a 8-SPT esetén egy 5,6 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ koncentrációjú, 6%-os glükózoldattal készült törzsoldat 10 μl -ét mértük be. Ezt követően megkezdjük az aggregáció rögzítését.

Protokoll

a) A szubmaximális ADP-koncentráció kiválasztása

A 10–300 μM tartományban koncentráció/válasz görbét szerkesztettünk, majd ennek alapján kiválasztottunk egy éppen szubmaximális választ eredményező ADP-koncentrációt. Az aggregáció első nyomainak megjelenése után 20 perccel a megfelelő ADP-oldat 10 μl -ét bemértük az aggregációs küvetába. A látható transzmisszió változásának maximális sebességét alkalmazva mértük az aggregációs válaszreakciókat. A protokoll ezen fázisában kiválasztott szubmaximális ADP-koncentrációt alkalmaztuk a vegyületek antagonistá potenciájának ezt követő meghatározása során. Az egyes donorktól származó vérlemezkékkel valamennyi mérést duplikátumban végeztük.

b) Az agonista/antagonista potencia értékelése

Az aggregáció megkezdődése után 5 perccel 30 μl mennyiségben nátrium-klorid-oldatot vagy a tesztvegyület oldatát mértük be az aggregációs küvetába, és így 0, 10, 100 vagy 1000 μM végkoncentrációkat nyertünk. Ennél a pontnál az aggregáció alapján az agonista aktivitásra volt jellemző, illetve – ha előfordult – az agonista hatékonyságot az a) lépésben nyert kontroll ADP válaszreakciókkal összehasonlítva lehetett megállapítani.

Amennyiben nem történt aggregáció, a tesztvegyület hozzáadása után 15 perccel bemértük az előzetesen kiválasztott szubmaximális koncentrációjú ADP 10 μl -ét. Egy megfelelő IC_{50} -érték megállapításához az antagonistá hatékonyságot a kontroll ADP válaszreakció %-os gátlásának formájában határoztuk meg. Az ADP-választ a kezdeti koncentrációkban teljesen gátló vegyületek esetén alacsonyabb koncentrációtartományban ismételt vizsgálatot végeztünk. Azokat a vegyületeket, amelyek esetén az $\text{IC}_{50} < 10^{-8}$ M értékű volt, a P_1 agonistaaktivitás hiányának megerősítése érdekében 8-SPT nélkül, illetve annak ellenőrzésére, hogy a gátlás időfüggő-e, 15 perc helyett 2 perces inkubálással ugyancsak ismételt teszteltük.

Eredmények

Az (I) általános képletű vegyületek esetén nyert reprezentatív adatokat az alábbi I. táblázatban az antagonistáhatékonyság negatív logaritmusának (pIC_{50}) formájában fejezzük ki.

I. táblázat

Példa száma	pIC_{50}
1.	$9,04 \pm 0,15$
5.	$8,68 \pm 0,33$
6a.	$9,14 \pm 0,11$

Y. példa

A hypothermicus-aktivitás mérése tudatuknál lévő ege- rekben

A vizsgálatban 25–45 g testtömegű CR/CD–1 ege-
reket használtunk. Lemértük az ege-
rek testtömegét, majd termisztorhőmérő alkalmazásával meghatároztuk az állatok kezdeti rectalis hőmérsékletét. Valamennyi

állatot befogókónuszba helyeztük, majd a farokvénát egy polietilén fecskendőhöz csatlakoztatott 27G szub-
kután injekciós tű alkalmazásával kanuláltuk, majd a
tűt ebben a helyzetben rögzítettük. Az állatok kezelése
során a tesztvegyület megfelelő dózist 10 percen ke-
resztül, $0,5 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{perc}^{-1}$ sebességgel végzett intravé-
nás infúzióval adtuk be. A rectalis hőmérsékletet az in-
fúzió beadása után 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6 és 24 órával
mértük.

A vegyület dózisának függvényében a rectalis hő-
mérsékletben fellépő maximális csökkenés átlagérté-
keit ábrázoltuk, majd meghatároztuk az 5°C -kal törté-
nő hőmérsékletcsökkenéshez szükséges dózis értékét.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Egy (I) általános képletű vegyület és gyógyszeré-
szetileg elfogadható sói, ahol a képletben

20 R^1 és R^2 jelentése egymástól függetlenül hidrogén-
vagy halogénatom,

25 R^3 és R^4 jelentése egymástól függetlenül fenilcsoport
vagy 1–6 szénatomos alkilcsoport, amelyet adott
esetben a következő csoportból kiválasztott egy
vagy több helyettesítő szubsztituál: $-\text{OR}^5$ általános
képletű csoport, 1–6 szénatomos alkil-tio-csoport,
 $-\text{NR}^6\text{R}^7$ általános képletű csoport, fenilcsoport,
 $-\text{COOR}^8$ általános képletű csoport vagy halogén-
atom,

30 R^5 , R^6 , R^7 és R^8 jelentése egymástól függetlenül hidro-
génatom vagy 1–6 szénatomos alkilcsoport, és
X jelentése savas csoport.

2. Egy 1. igénypont szerinti (I) általános képletű ve-
gyület vagy gyógyszerészetileg elfogadható sója, ahol
a képletben X jelentése $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ képletű csoport.

3. Egy, az 1. vagy 2. igénypont szerinti (I) általános
képletű vegyület vagy gyógyszerészetileg elfogadható
sója, ahol a képletben R^4 jelentése adott esetben halogén-
atommal szubsztituált 1–6 szénatomos alkilcsoport.

40 4. Egy, az 1–3. igénypontok bármelyike szerinti (I)
általános képletű vegyület vagy gyógyszerészetileg el-
fogadható sója, ahol a képletben R^1 és R^2 jelentése klór-
atom.

5. Egy, az 1–4. igénypontok bármelyike szerinti (I)
általános képletű vegyület vagy gyógyszerészetileg el-
fogadható sója, ahol a képletben R^3 jelentése adott eset-
ben 1–6 szénatomos alkil-tio-csoporttal szubsztituált
1–6 szénatomos alkilcsoport.

50 6. Egy 1. igénypont szerinti (I) általános képletű ve-
gyület a következők közül:

N -etil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek
(diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete,

N -etil-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-5'-adenilsav-
monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval ké-
pezett vegyülete,

55 N -[2-(metil-tio)-etil]-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-
5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difosz-
fonsavval képezett vegyülete,

60 vagy az előbbi vegyületek bármelyikének egy
gyógyszerészetileg elfogadható sója.

7. Egy 1. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyület a következők közül:

N-butil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete,

N-propil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete,

N-izopropil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete,

N-(2-metoxi-etil)-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete,

N-ciklopentil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete,

N-fenil-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete,

N-(2,2,2-trifluor-etil)-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete,

N-[(metoxi-karbonil)-metil]-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete,

N-[2-(metil-tio)-etil]-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete,

N-[2-(*N,N*-dimetil-amino)-etil]-2-(propil-tio)-5'-adenilsav-monoanhidridnek (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete,

2-(ciklohexil-tio)-*N*-etil-5'-adenilsav-monoanhidrid (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete,

N-(2,2,2-trifluor-etil)-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-5'-adenilsav-monoanhidrid (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete,

N-(2-metoxi-etil)-2-[(3,3,3-trifluor-propil)-tio]-5'-adenilsav-monoanhidrid (diklór-metilén)-difoszfonsavval képezett vegyülete,

vagy az előbbi vegyületek bármelyikének egy gyógyszerészetileg elfogadható sója.

8. Gyógyszerkészítmény, amely egy gyógyszerészetileg elfogadható hordozóval vagy hígítószerrel összekeverve egy, az 1–7. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületet vagy ennek egy gyógyszerészetileg elfogadható sóját tartalmazza.

9. Eljárás egy, az 1–7. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületnek vagy gyógyszerészetileg elfogadható sójának az előállítására, *azzal jellemezve*, hogy

a) egy (II) általános képletű vegyületet – amelynek képletében R^3 és R^4 jelentése a fentiekben meghatározott, L_1 jelentése kilépőcsoport, és Y jelentése (i) hidroxicsoporthoz, vagy (ii) L_2 kilépőcsoport – vagy sóját egy (III) általános képletű vegyülettel – amelynek képletében R^1 , R^2 és X jelentése a fentiekben meghatározott – vagy sójával reagáltatunk, majd abban az esetben, ha Y jelentése L_2 kilépőcsoport, hidrolízist végzünk,

b) egy megfelelő, védett (I) általános képletű vegyületből, amelyben egy vagy több funkciócsoport védett, eltávolítjuk a védőcsoportot vagy védőcsoportokat, és kívánt esetben egy így nyert (I) általános képletű vegyületet vagy sóját átalakítjuk egy gyógyszerészetileg elfogadható sóvá vagy *vice versa*.

