

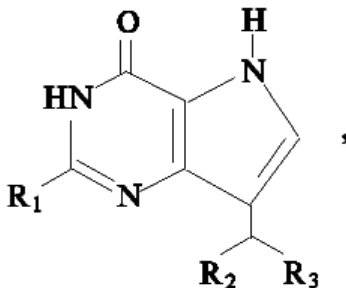
(19) **KG** (11) **214** (13) **C2**

ГОСУДАРСТВЕННОЕ АГЕНТСТВО
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
ПРИ ПРАВИТЕЛЬСТВЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (КЫРГЫЗПАТЕНТ)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

к патенту Кыргызской Республики

- (21) 940087.1
(22) 30.08.1994
(31) 429.097; 429.098; 429.099; 429.100; 442.798
(32) 31.10.89; 29.11.89
(33) US
(86) PCT/US 90/05756 (12.10.1990)
(46) 01.10.1997, Бюл. №1, 1998
(71)(73) Биокрист Фармасьютикалз Инк. (US)
(72) Джон. А. Секрист, Марк Дэвид Эрион, Джон А.Монтгомери, Стивен Э. Илик, Вейн С. Гайда, Шри Нивас (US)
(56) Irene S. Kurmers и др., Science, 1981, v, 214, p. 1137-1139
(54) **Производные 2-амино-7-(CHR₂R₃)-3Н, 5Н-пирроло {3,2-d} пиримидин-4-она, способы их получения и способ селективного ингибирования пролиферации Т-лимфоцитов млекопитающего и не оказывающий воздействия на В-лимфоциты**
(57) Производные 2-амино-7-(CHR₂R₃)-3Н, 5Н-пирроло-[3,2-d] пиримидин-4-она формулы:



где: R₁ означает Н или NH₂; R₂ означает насыщенный пятичленный гетероцикл, содержащий в качестве гетероатома серу или кислород, или шестичленный гетероцикл, содержащий в качестве гетероатома N, и которые могут быть необязательно замещены (C₁-C₄) алкокси, трифторметилом или галогеном; (C₆-C₁₀) циклоалкил, незамещенный или замещенный фенил; R₃ означает Н, (CH₂)_nCN, (CH₂)_nCO₂H, (CH₂)_nCONH₂, CO₂CH₃, (CH₂)_nCO₂CH₃ или (CH₂)_nOH, n = 1-4, или R₂ и R₃ вместе с СН группой, к которой они присоединены, образуют циклогексил- или циклогексенильную группу. Также раскрывается способ получения указанных соединений и способ селективного

ингибирования пролиферации Т-лимфоцитов млекопитающего и не оказывающего воздействия на (З-лимфоциты путем введения указанных соединений. 3 с.п. и 6 з.п. ф-лы., 218 пр, 1 табл.

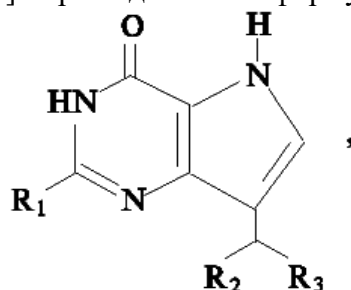
Настоящее изобретение относится к новым производным 2-амино-7-(CH₂R₂,R₃)-3Н, 5Н-пирроло [3,2-d] пиримидинам, обладающим свойствами селективного ингибитора Т-лимфоцитов, способам их получения и способу селективного ингибирования пролиферации Т-лимфоцитов млекопитающего и не оказывающего воздействия на В-лимфоциты.

Известно, что пуриннуклеозидфосфорилаза (PNP) катализирует фосфоролитическое расщепление пуриннуклеозидов в обратимой реакции. У индивидуумов, лишенных PNP, проявляется ослабленное развитие Т-лимфоцитов, приводящее к пониженному межклеточному иммунитету, и нормальное развитие базофильного инсuloцита, приводящее к нормальному гуморальному иммунитету. Соответственно, специфические ингибиторы PNP, которые селективно ингибируют развитие Т-лимфоцитов без нарушения гуморального иммунитета, могут быть потенциально эффективны против болезней, в которых активированные Т-лимфоциты являются патогенными.

В журнале Science, v.214 (1981) описаны 8-аминогуанозины, обладающие селективным действием на Т-клетки, без воздействия на В-клетки.

Новые производные пирролопиримидинов, в основе которых лежит бициклическая гетероциклическая система, неожиданно проявили свойство селективно ослаблять функции Т-лимфоцитов млекопитающего без ослабления влияния на гуморальный иммунитет, и благодаря этим найденным и исследованным свойствам могут найти применение для лечения тяжелых заболеваний, таких как аутоиммунных нарушений, отторжение трансплантированных органов, а также в терапии онкологических заболеваний.

Согласно настоящему изобретению предлагаются производные 2-амино-7-(CHR₂R₃)-3Н, 5Н-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-она формулы I:



где: R₁ означает Н или NH₂,

R₂ означает насыщенный пятичленный гетероцикл, содержащий в качестве гетероатома серу или кислород, или шестичленный гетероцикл, содержащий в качестве гетероатома N, и которые могут быть необязательно замещены (C₁-C₄) алкокси, трифторметилом или галогеном; (C₆-C₁₀) циклоалкил, незамещенный или галоидзамещенный фенил, R₃ означает Н, CH₂CN, CH₂CO₂H, CH₂CONH₂, CO₂CH₃, CO₂H или CH₂CH₂OH, или R₂ и R₃ вместе с СН-группой, к которой они присоединены, образуют циклогексил или циклогексенильную группу. Предпочтительны соединения, в которых R₂ и R₃ вместе с СН-группой, к которой они присоединены, образуют циклогексил или циклогексенил.

Предпочтительны соединения, где R₁ - NH₂ группа, и соединения, где R₂ и R₃ вместе с прилегающей СН-группой образуют циклогексильное или циклогексенильное кольцо, либо R₂ - фенил, соединения, где R₃ - CH₂CN, CH₂COOH, CH₂CONH₂, либо соединения, где R₂ - возможно замещенные C₁-C₄-алкокси, галогеном, трифторметилом, 3-пиперидинил, 2-тетрагидрофуранил, 2-тетрагидротииенил, 3-, 4-пиридинил, цикlopентил, циклогексил, циклогептил, 2-адамантил; либо фенил, 3-хлорфенил, 2,3,5-трихлорфенил.

Среди предпочтительных соединений можно назвать 2-амино-7-(CH₂R)-3Н,5Н-

пирроло [3,2-d] пиримидин-4-оны (1'), где R -2- или 3-тетрагидротие-нил, 2-, 3- или 4-пиперидинил, 2- или 3-тетрагидрофуранил, 2-, 3- или 4-тетрагидрофуранил. В частности, можно назвать соединения, предлагаемые согласно изобретению, выбранные из группы: 2-амино-7-(2-пиперидинилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IB), 2-амино-7-(3-пиперидинилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IC), 2-амино-7-(4-пиперидинилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (ID), 2-амино-7-(2-тетрагидрофуранилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IE), 2-амино-7-(3-тетрагидрофуранилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IF), 2-амино-7-(2-тетрагидротие-нилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IG), 2-амино-7-(3-тетрагидротие-нилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-ОН (IH).

В указанных соединениях гетероциклический радикал R в положении 7 может быть замещен одним или двумя заместителями, выбранными из группы: галоген, (C₁-C₄) алкокси, трифторметил.

В качестве галогена предпочтительным является хлор или фтор. В качестве алкокси предпочтительными являются низший алкокси, метокси, этокси, пропокси и бутокси.

Среди соединений, охватываемых настоящим изобретением, можно назвать 2-амино-7-(CH₂R)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-оны (II), в которой R-пиридинил, в частности, соединения II, выбранные из группы, 2-амино-7-(3-пиридинилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IIA), 2-амино-7-(2-пиридинилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IIB), или 2-амино-7-(4-пиридинилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IIC), в которых пиридинил может иметь один или два заместителя, выбранных из группы, содержащей галоген, (C₁-C₄) алкокси или трифторметил. В качестве галогена предпочтительны хлор или фтор. В качестве алкокси предпочтительны метокси, этокси, пропокси и бутокси.

Другой группой предпочтительных соединений являются (III) 2-амино-7-(R)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-оны, в которых R-1-, 2- или 3-циклогексенил или циклогексил. Среди них можно назвать соединения III, выбранные из группы: 2-амино-7-(1-циклогексенил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IIIA), 2-амино-7-(2-циклогексенил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IIIB), 2-амино-7-(3-циклогексенил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IIIC) или 2-амино-7-(циклогексил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IIID).

Согласно изобретению предлагаются также 2-амино-7- (CH₂R) -3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-оны (IV), в которых R-однокольцевые циклопарафины, как, например, цикlopентил, циклогексил и циклогептил; многокольцевые циклопарафины, как, например, 1-й 2-адамантил, 1-норборнанил, 2-экзонорборнанил, 2-эндонорборнанил, 1-й 2-бицикло [2.2.2] октанил, 1-, 2-, 3-, 6- и 8- бицикло [3.2.1] октанил, и 1-, 2-й 3-бицикло [3.3.1] нонанил, и циклоолефины, как, например, 1- и 2-норборненил. Примерами этой группы веществ (IV) являются 2-амино-7-(2-адамантилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IVA), 2-амино-7-(1-адамантилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IVB), 2-амино-7-(циклопентилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IVC), 2-амино-7-(циклогексилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IVD), 2-амино-7-(циклогептилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IVE), 2-амино-7-(1-норборнанилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IVF), 2-амино-7-(2-экзонорборнанилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IVG), 2-амино-7-(2-эндонорборнанилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IVH), 2-амино-7-(1-норборненилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IVI), 2-амино-7-(2-норборненилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IVJ), 2-амино-7-(1-бицикло [2.2.2] октанилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IVK), 2-амино-7-(1-бицикло [3.2.1] октанилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IVL) и 2-амино-7-(1-бицикло [3.3.1] нонанилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IVM), и 2-амино-7-(1-норадамантилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он (IVN).

Среди соединений, полученных согласно настоящему изобретению, можно назвать группу производных 2-амино-7-(CHR₂R₃)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-она формулы I, где R₁, R₂ имеют значения указанные выше, а R₃ является группой, выбранной из H, CH₂CN, CH₂CO₂H, CH₂CONH₂, CO₂CH₃, CO₂H, CH₂CH₂OH.

Другим объектом настоящего изобретения является способ селективного ингибирования пролиферации Т-лимфоцитов млекопитающего и не оказывающий воздействия на В-лимфоциты, заключающийся в том, что млекопитающему вводят вышеуказанные соединения формулы I в эффективном количестве, при этом указанное соединение ингибирует пуриннуклеозидфосфорилазу и тем самым образование Т-лимфоцитов.

Возможно также введение млекопитающим эффективного количества соединения I, не оказывающего ослабляющего действия на гуморальный иммунитет и оказывающего селективное ослабляющее действие на Т-лимфоциты, с фармацевтически переносимым разбавителем.

Особенностью изобретенного способа селективного ослабления функции Т-лимфоцитов млекопитающего без ослабления влияния на гуморальный иммунитет, является то, что введение млекопитающему вещества (I), ингибирует пуриннуклеозидфосфорилазу и тем самым образование Т-лимфоцитов.

Для энтерального, такого как пероральное или ректальное, трансдермальное или парентеральное, введения млекопитающим, включая человека, которые пригодны для ингибирования активности пуриннуклеозидфосфорилазы и для лечения болезней, восприимчивых к ней, возможно введение эффективного количества фармакологически активного вещества настоящего изобретения, одного или в комбинации с одним или более фармацевтически переносимыми носителями.

Предпочтительной используемой формой композиций являются таблетки и желатиновые капсулы, включающие активный ингредиент вместе с а) разбавителями, например, лактозой, глюкозой, сахарозой, маннитом, сорбитом, целлюлозой и/или глицином; б) смазывающими веществами, например, двуоксидом кремния, тальком, стеариновой кислотой, ее магниевой или кальциевой солью и/или полиэтиленгликолем; для таблеток также с в) связующими веществами, например, магнийалюмосиликатом, крахмальной пастой, желатином, трагакантом, метилцеллюлозой, натрий карбоксиметилцеллюлозой и/или поливинилпирролидоном; при желании, г) дезинтегрантами, например, крахмалами, агар-агаром, альгиновой кислотой или ее натриевой солью, или шипучими смесями; и/или д) абсорбентами, красителями, корригентами и подслащивателями. Вспрыскиваемые композиции являются предпочтительно водными изотоническими растворами или суспензиями, и суппозитории преимущественно готовят из жировых эмульсий или суспензий. Указанные композиции могут быть стерилизованными и/или содержать адьюванты, как, например, предохраняющие, стабилизирующие, смачивающие или эмульгирующие агенты, растворенные промоторы, соли для регулирования осмотического давления и/или буферные растворы. Кроме того, они могут также содержать другие терапевтически ценные вещества. Указанные композиции готовят в соответствии со стандартными способами перемешивания, гранулирования или покрытия, соответственно, и они содержат обычно около 0.1-75 %, предпочтительно около 1-50 %, активного ингредиента.

Для трансдермального применения используют эффективное количество вещества настоящего изобретения с носителем. Полезные носители включают абсорбируемые фармакологически приемлемые растворители для того, чтобы помочь проходить через кожу в организм. Существенным является то, что трансдермальные аппараты могут иметь форму бандажа, включающего поддерживающую деталь, резервуар, содержащий предпочтительное вещество с носителями, перегородку для доставки вещества к коже организма с контролируемой и предварительно определенной скоростью в течение

продолжительного периода времени, и средства для прикрепления аппарата к коже.

Изобретенный способ селективного ингибирования активности пурииннуклеозидфосфорилазы может быть использован при лечении болезней и сред, восприимчивых к ним, например, при аутоиммунных нарушениях, отторжениях при трансплантации, псориаза.

Способ также пригоден для ингибирования фосфоролиза и метаболического расщепления противовирусных или противоопухолевых пурииннуклеозидов у млекопитающих путем введения соединения I самостоятельно или с одним или более фармацевтически переносимыми носителями. В частности, это относится к способу ингибирования фосфоролиза и метаболического расщепления известных пурииннуклеозидов, например, 2'-дезоксигуанозина, 2', 3'-дидезоксиинозина, 2', 3'-дидезоксигуанозина или 2', 3'-дидезоксиаденозина.

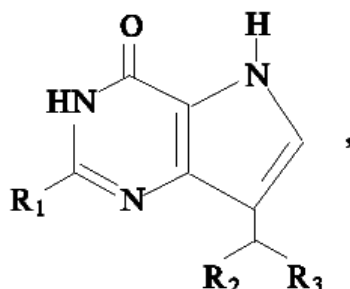
Таким образом, настоящее изобретение относится также к способу ингибирования фосфоролиза или метаболического расщепления противовирусного или противоопухолевого эффекта 2'- или 3'-монодезоксипурииннуклеозидов или 2', 3'-дидезоксипурииннуклеозидов у млекопитающих, который включает введение млекопитающим при необходимости, или отдельно, или в комбинации с указанным нуклеозидом эффективного количества вещества настоящего изобретения, ингибирующего пурииннуклеозидфосфорилазу, предпочтительно в комбинации с одним или более фармацевтически переносимыми носителями. Более конкретно, это относится к способу активации или усиления влияния 2,3'-дидезоксипурииннуклеозидов, известных в технике, например, 2', 3'-дидезоксиинозина, 2,3'-дидезоксигуанозина или 2,3'-дидезоксиаденозина для лечения ретровирусных инфекций, например, ВИЧ-ретровирусных инфекций (приобретенный иммунодефицитный синдром, AIDS). 2,3'-Дидезоксипурииннуклеозиды известны в качестве ингибиторов ВИЧ-ретровирусной инфекции и метаболически расщепляются посредством PNP, например, как описано в *Biochemical Pharmacology*. 22. 3797 (1987). Они вводятся в фармацевтически переносимой дозе, которая эффективна в ингибировании ВИЧ-ретровирусных инфекций. Предпочтительно используется самая низкая возможная эффективная доза.

Фармацевтически переносимая эффективная дозировка активного вещества настоящего изобретения, которую вводят, зависит от вида теплокровных животных (млекопитающих), веса тела, возраста, индивидуального состояния и от формы введения.

Фармацевтическая композиция может быть пероральной, парентеральной, суппозиторием или другой формой, которая доставляет вещество в ток крови млекопитающего, которое необходимо вылечить. Пероральная форма имеет от около 1, до около 150 мг активного вещества для взрослого человека (50-70 кг), которое смешивается вместе с фармацевтически переносимыми разбавителями, например, лактозой. В обычной капсуле 25 мг вещества смешивают вместе с 192 мг лактозы, 80 мг модифицированного крахмала и 3 мг стеарата магния. Возможно также использование форм, пригодных для впрыскивания.

Использование соединений настоящего изобретения также возможно с другими терапевтическими средствами. Ежедневная дозировка для человека весом 50-70 кг - 1-50 мг/кг ингибирует метаболическое разрушение определенных противораковых средств, например, бета-2'-деокси-6-тиогуаназина и противовирусных средств, например, 2,3'-дидезоксиинозина, анти-AIDS средства. Эти типы медикаментов, как известно, неустойчивы и разрушаются, теряя свою эффективность. Вещества настоящего изобретения способны уменьшить такую неустойчивость, что увеличивает эффективность других химиотерапевтических средств.

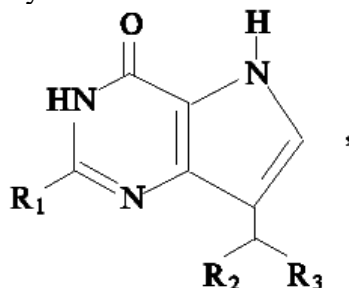
Объектом настоящего изобретения являются также способы получения производных 2-амино-7-(CHR₂, R₃)-3Н,5Н-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-онов общей формулы:



где R_1 означает H, NH_2 , R_2 и R_3 означают незамещенный или галоидзамещенный фенил или циклогексил, R_2 означает CH_2CN .

Один способ предназначен для получения соединений указанной формулы, где R_1 означает NH_2 , а другой для соединений указанной формулы, где R_1 означает H.

Способ получения производных 2-амино-7-($CH(R_2)R_3$)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиридин-4-она (способ А) формулы 1'



где R_1 - NH_2 , R_2 - фенил, незамещенный или замещенный галоидом, или циклогексил, R_3 - CH_2CN , заключается в том, что осуществляют следующие последовательные стадии:

а) реакцию соответствующего R_2 -замещенного альдегида с циануксусной кислотой в присутствии ацетата аммония с получением 3(R_2)-замещенного пентандинитрила;

б) реакцию полученного 3(R_2)-пентандинитрила с алкиловым эфиром муравьиной кислоты в присутствии основания, с получением 3(R_2)-2-формилпентандинитрила,

в) который взаимодействует с гидрохлоридом метилового эфира глицина в присутствии ацетата натрия или аммония с получением метил-N-[(R_2)-2,4-дициано]-2-бутенил] глицина;

г) полученный при этом N-[(3(R_2)-2,4-дициано)-2-бутенил] глицин взаимодействует с алкиловым эфиром хлоруксусной кислоты в присутствии 1,5-диазабицикло [4.3.0]-нон-5-еном или 1,8-диазабицикло [5.4.0] ундек-7-еном с получением метил-3-амино-4-(2-циано-1(R_2)-этил)-1-этил-1H-пирроло-1,2-дикарбоксилата;

д) получаемый метил-3-амино-4-(2-циано-1(R_2)-этил)-1-этил-1H-пирроло-1,2-дикарбоксилат обрабатывают основанием с получением метил-3-амино-4-(2-циано-1(R_2)-этил)-1H-пирроло-2-карбоксилата;

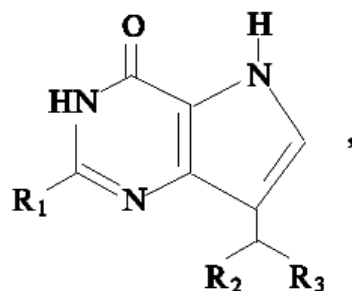
е) последний подвергают взаимодействию с бензоилизотиоцианатом с получением N-бензоил-N'-[4-(2-циано-1(R_2)-этил)-2-метоксикарбонил-1H-пиррол-3-ил] тиомочевины;

ж) полученную N-бензоил-N'-[4-(2-циано-1(R_2)-этил)-2-метоксикарбонил-1H-пиррол-3-ил] тиомочевину алкилируют галоидным алкилом с получением N-бензоил-N'-[4-(2-циано-1(R_2)-этил)-2-метоксикарбонил-1H-пиррол-3-ил]-S-метилтиомочевины;

з) затем N-бензоил-N'-[4-(2-циано-1(R_2)-этил)-2-метоксикарбонил-1H-пиррол-3-ил]-S-метилтиомочевину обрабатывают метанольным или этанольным раствором аммиака с получением смеси 3(R_2)-3-[2-амино-4-оксо-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиридин-7-ил] пропаннитрила и 3(R_2)-3-[2-метилмеркапто-4-оксо-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиридин-7-ил] пропаннитрила.

Предпочтительно этот способ использовать для соединений I', где R₂ -фенил.

Способ получения производных 7(CHR₂R₃)-3H,5H-пирроло-[3,2-d] пиримидин-4-она формулы I" (способ В)



где R₁-H, R₂- фенил, незамещенный или замещенный галоидом, или циклогексил, R₃ - CH₂CN, заключается в том, что осуществляют следующие последовательные стадии:

а) реакцию соответствующего циклического альдегида с циануксусной кислотой в присутствии ацетата аммония с получением 3(R₂)-замещенного пентандинитрила;

б) реакцию полученного 3(R₂)- пентандинитрила с алкиловым эфиром муравьиной кислоты в присутствии основания с получением 3(R₂)-2-формилпентандинитрила;

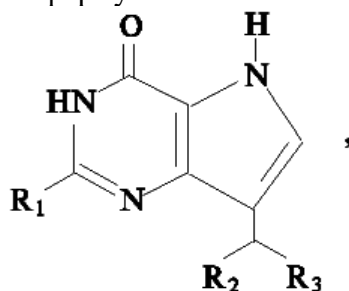
в) последний подвергают взаимодействию с гидрохлоридом метилового эфира глицина в присутствии ацетата натрия или аммония с получением метил-N-[(3(R₂)-2,4-дициано)-2-бутенил]глицина;

г) полученный метил-N-[(3(R₂)-2,4-дициано)-2-бутенил] глицин подвергают взаимодействию с алкиловым эфиром хлоруксусной кислоты в присутствии 1,5-диазабицикло [4.3.0] нон-5-ена или 1,8-диазабицикло [5.4.0] ундек-7-ена с получением метил-3-амино-4-(2-циано-1(R₂)-этил)-1-этил-1H-пиррол-1,2-дикарбоксилата;

д) метил-3-амино-4-(2-циано-1(R₂)-этил)-1-этил-1H-пиррол-1,2-дикарбоксилат обрабатывают основанием с получением метил-3-амино-4-(2-циано-1 (R₂)-этил)-1H-пирроло-2-карбоксилата;

е) затем метил-3-амино-4-(2-циано-1(R₂)-этил)-1H-пирроло-2-карбоксилат подвергают взаимодействию с диметилацеталем диметилформамида с получением метил-4-(2-циано-1 (R₂)-этил)-3-[N-(диметиламино-метил)амино]-1H-пирроло-2-карбоксилата; и

ж) метил-4-(2-циано-1(R₂)-этил)-3-[N-(диметиламинометил)амино]-1H-пирроло-2-карбоксилат обрабатывают метанольным раствором аммиака с получением 3(R₂)-3-[4-оксо-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-7-ил] пропаннитрила. Более подробно способ для получения соединений формулы:



где R₁ - аминогруппа (способ А), проводится следующим образом:

Первая стадия способа включает реагирование соответствующего R₂ замещенного циклического альдегида с циануксусной кислотой при молярном отношении около 1:1 до 1:5 в присутствии ацетата аммония при температуре около температуры кипения с обратным холодильником в течение около 10 часов до 8 дней с получением 3R₂-замещенного пентандинитрила в качестве промежуточного соединения. Во второй стадии 3(R₂) замещенный пентандинитрил реагирует с алкиловым эфиром муравьиной кислоты, например, этиловым эфиром муравьиной кислоты, в присутствии сильного основания, например, металлсодержащего основания, гидроксида натрия или алкоксида натрия, в частности, метоксида натрия, при молярном отношении около 1-2:3-6:1-3 и при

температуре около 20 -65°C в течение около 10 часов до 8 дней, с получением 3(R₂)-2-формилпентан-динитрила. Следующая стадия включает взаимодействие 3(R₂)-2-формилпентанди-нитрила с гидрохлоридом метилового эфира глицина и в присутствии ацетата натрия или аммония при молярном отношении около 1-2:1,5-4:1,5-4 и при температуре около 20-60°C в течение около 10-48 часов с получением метил-N-[(3(R₂)-2,4-дициано)-2-бутенил] глицина в качестве промежуточного соединения. В последующей стадии метил-N-[(3(R₂)-2,4-дициано)-2-бутенил] глицин реагирует с алкиловым эфиром хлормуравьиной кислоты, например, этиловым эфиром хлормуравьиной кислоты, в присутствии 1,5-диазабицикло [4.3.0] нон-5-еном (DBN) или 1,8-диазабицикло [5.4.0] ундек-7-еном (DBU) при молярном соотношении около 1-2:1,5-5:1,5-4 и при температуре около 0-50°C в течение около 10 часов до 10 дней с получением метил-3-амино-4-(2-циано-1(R₂)-этил)-1-этил-1Н-пиррол-1,2-дикарбоксилата в качестве промежуточного соединения. Следующая стадия включает взаимодействие метил-3-амино-4-(2-циано-1(R₂)-этил)-1-этил-1Н-пиррол-1,2-дикарбоксилата с основанием, например, карбонатом натрия, при молярном соотношении около 2:1 до 1:5 и при температуре около комнатной в течение около 10-48 часов с получением метил-3-амино-4-(2-циано-1(R₂)-этил)-1Н-пиррол-2-карбоксилата в качестве промежуточного соединения. В следующей стадии метил-3-амино-4-(2-циано-1(R₂)-этил)-1Н-пиррол-2-карбоксилат реагирует с бензоилизотиоцианатом при молярном соотношении около 2:1 до 1:2 и при температуре около комнатной в течение около от 30 минут до 3 часов с получением N-бензоил-N-[4-(2-циано-1(R₂)-этил)-2-метоксикарбонил-1Н-пиррол-3-ил] тиомочевины в качестве промежуточного соединения. Следующую стадию взаимодействия N-бензоил-N-[4-(2-циано-1(R₂)-этил)-2-метоксикарбонил-1Н-пиррол-3-ил] тиомочевины с галоидным алкилом, например, йодистым метилом, проводят при молярном отношении около 1:1 до 1:6 и при температуре около 0-30°C в течение от приблизительно 10 минут до 10 часов с получением N-бензоил-N-[4-(2-циано-1(R₂)-этил)-2-метоксикарбонил-1Н-пиррол-3-ил]-8-16 метилтиомочевины в качестве промежуточного соединения. В следующей стадии N-бензоил-N-[4-(2-циано-1(R₂)-этил)-2-метоксикарбонил-1Н-пиррол-3-ил]-S-метилтиомочевину (около 1-2 молей) обрабатывают метанольным или этанольным раствором аммиака при молярном соотношении около 1:1 до 1:20 и при температуре около 20-130°C в течение около 16-60 часов с получением смеси 2-аминосоединения настоящего изобретения 3(R₂)-3-(2-амино-4-оксо-3Н,5Н-пирроло [3,2-d] пиримидин-7-ил) пропаннитрила и 3(R₂)-3-(2-метилмеркапто-4-оксо-3Н,5Н-пирроло [3,2-d] пиримидин-7-ил) пропаннитрила, которое может быть использовано в качестве промежуточного соединения для получения другого вещества настоящего изобретения.

В другом способе получения соединений, где R¹ - водород (способ В) метил-3-амино-4-(2-циано-1(R₂)-этил)-1Н-пиррол-2-карбоксилат, полученный выше в способе А, обрабатывают диметилацетатом диметилформаида при молярном соотношении около 1:1 до 1:4 и при температуре около 25-100°C в течение около 1-10 дней с получением метил-4-(2-циано-1(R₂)-этил)-3-[N-(диметиламинометил)амино]-1Н-пирроло-2-карбоксилата в качестве промежуточного соединения. Следующая стадия включает обработку метил-4-(2-циано-1(R₂)-этил)-3-[N-(диметиламинометил)амино]-1Н-пирроло-2-карбоксилата метанольным или этанольным раствором аммиака при молярном соотношении около 1:1 до 1:20 и при температуре около 20-130°C в течение около 10-68 часов с получением соединения настоящего изобретения 3(R₂)-3-(4-оксо-3Н,5Н-пирроло [3,2-d] пиримидин-7-ил) -пропаннитрила.

Как видно из вышесказанного, для получения соединений формулы I используют 3-замещенные пропионитрилы в качестве исходных веществ. Такие исходные вещества могут быть получены с помощью целого ряда способов, которые хорошо известны в литературе. Соединение I получается затем из указанного исходного вещества с использованием ряда известных реакций, описанных M.I.Lim, R.S.Klein and J.J.Fox, *J. Org. Chem.*, 44, 3826 (1979); M.I.Lim, R.S.Klein and J.J.Fox, *Tetrahedron Lett.*, 21, 1013 (1980);

M.I.Lim and R.S.Klein, Tetrahedron Lett., 22, 25 (1981); M.I.Lim, W.I.Ren, B.A.Otter and R.S.Klein, J. Org. Chem., 48, 780 (1983).

Для получения группы соединений II, где R - пиридинил, используют 3-(пиридинил) пропионитрил в качестве исходного вещества. Соответствующий 3-(пиридинил) пропионитрил может быть получен путем превращения соответствующего 3-(пиридинил) пропионилхлорида в соответствующий амид реакцией амминолиза, например, обработкой аммония, который затем дегидратируется в желаемый нитрил при дистилляции с дегидратирующим агентом, например, POCl_3 или SOCl_2 . Либо исходное вещество получают конденсацией 3-альдегида с цианоуксусной кислотой, с последующим декарбоксилированием с получением соответствующего замещенного акрилонитрила, который гидрируют для получения соответствующего 3-(пиридинил) пропионитрила или каталитически, или при растворении металлического магния в метаноле при 0°C , как, например, описано в Profitt, J. et al., J. Org. Chem. 40, 127 (1975). Далее вещества (II) получают из указанного вещества по методике, описанной M.I.Lim, R.S.Klein and J.J.Fox, J. Org. Chem., 44, 3826 (1979); M.I.Lim, R.S.Klein and J.J.Fox, Tetrahedron Lett., 21, 1013 (1980); M.I.Lim and R.S.Klein, Tetrahedron Lett., 22, 25 (1981); M.I.Lim, W.I.Ren, B.A.Otter and R.S.Klein, J. Org. Chem., 48, 780 (1983).

Возможно использование в качестве исходного вещества циклогексенилацетонитрила для получения соединений группы (III) в результате взаимодействия этого исходного вещества с использованием методики, описанной M.I.Lim, R.S.Klein and J.J.Fox, J. Org. Chem., 44, 3826 (1979); M.I.Lim, R.S.Klein and J.J.Fox, Tetrahedron Lett., 21, 1013 (1980); M.I.Lim and R.S.Klein, Tetrahedron Lett., 22, 25 (1981); M.I.Lim, W.I.Ren, B.A.Otter and R.S.Klein, J. Org. Chem., 48, 780 (1983). Каталитическое гидрирование одного из (IIIA), (IIIB) или (IIIC) дает вещество (HID).

Способ получения группы соединений (IV) настоящего изобретения использует соответствующие 3-замещенные пропионитрилы в качестве исходных веществ. Такие исходные вещества могут быть получены посредством ряда способов, которые хорошо известны в литературе. Вещество (IV) затем получают из этого исходного вещества посредством использования методик, описанных M.I.Lim, R.S.Klein and J.J.Fox, J. Org. Chem., 44, 3826 (1979); M.I.Lim, R.S.Klein and J.J.Fox, Tetrahedron Lett., 21, 1013 (1980); M.I.Lim and R.S.Klein, Tetrahedron Lett., 22, 25 (1981); M.I.Lim, W.I.Ren, B.A.Otter and R.S.Klein, J. Org. Chem., 48, 780 (1983).

Как очевидно для специалистов в данной области техники, варианты вышеупомянутых способов являются полезными при получении ряда веществ настоящего изобретения без отклонения от существа изобретения. Для реакций, включающих некоторые промежуточные соединения, требующие защиты атомов азота или кислорода в промежуточных соединениях, используют известные способы.

Чтобы более полно описать настоящее изобретение ниже приводятся следующие примеры, не ограничивающие область его применения. В примерах все части и проценты даны в масс. %, за исключением особо оговоренных случаев. Пропорции смесей растворителей, использованных в качестве хроматографических растворителей для элюирования, даны по объему.

Испытания (как это следует из материалов заявки) проводились на млекопитающих. В частности, в примерах, приведенных в описании, опыты проводились на крысах линии Lewis, которым делалось внутрибрюшинное введение полученных по настоящему изобретению веществ в виде инъекционных растворов с указанием дозировок, частоты инъекций и сравнительных опытов с контрольными группами животных. Результаты оговорены там же (примеры 22, 22, 53, 65, 70, 81, 89 и др.), а также в приведенной таблице 1.

Пример 1.

Способ получения 3-(3-пиридинил)пропионитрила.

В трехгорлую колбу, снабженную магнитной мешалкой, термометром, капельной

воронкой и обратным холодильником, вводят аргон через холодильник. Свежеизмельченный гидроксид калия (6.6 г, 0.1 моля) и безводный ацетонитрил (150 мл) загружают в колбу и нагревают до кипения с обратным холодильником, добавляют 3-пиридинкарбоксальдегида (10.7 г, 0.1 моля) в безводном ацетонитриле (50 мл) добавляют по каплям в течение периода около 5 минут и кипячение с обратным холодильником продолжают в течение следующих приблизительно 3 минут. Полученную горячую реакционную смесь выливают в смесь лед/вода (100 г) и полученный раствор экстрагируют с CH_2Cl_2 (3 x 100 мл), высушивают с Na_2SO_4 и выпаривают, получая сырой 3-(3-пиридинил) акрилонитрил, который очищают посредством колоночной хроматографии над силикагелем, используя CHCl_3 в качестве растворителя для элюирования; выход 3.3 г (25.6 %).

В атмосфере аргона, перемешиваемый раствор акрилонитрила (2.662 г, 0.02 моля) в 99 %-ном этаноле (100 мл) обрабатывают каплей 4 %-ного водного гидроксида натрия, затем боргидридом натрия (0.378 г, 0.01 моля). Дополнительно боргидрид натрия (0.378 г) добавляют еще дважды с 4-часовыми интервалами. Смесь перемешивают при комнатной температуре в течение ночи, разбавляют водой, экстрагируют с EtOAc и высушивают Na_2SO_4 . Растворитель удаляют при пониженном давлении и полученный сырой продукт хроматографируют через колонку с силикагелем, используя хлороформ:метанол (40:1) в качестве растворителя для элюирования, получая 2.2 г (84.6 %) продукта в виде бесцветного 20 масла.

3-(3-Пиридинил)пропионитрил, полученный в примере 1, используют далее для синтеза соединений настоящего изобретения.

Пример 2.

В атмосфере сухого N_2 смесь 3-(3-пиридинил)пропионитрила (0.661 г, 5.0 ммоль), гидрида натрия (0.240 г, 10.0 ммоль) и этилового эфира муравьиной кислоты (1.11 г, 15.0 ммоль) в безводном тетрагидрофуране (20 мл) перемешивают в течение 48 часов с защитой от воздуха и влаги. Летучее вещество выпаривают и раствор твердого остатка в 15 мл холодной воды доводят при 0°C до pH 6 с помощью холодной 6N HCl. Полученную маслянистую смесь экстрагируют CHCl_3 и экстракт промывают водой, высушивают, используя Na_2SO_4 , и выпаривают, получая темное масло, которое является смесью 2-формил-3-(3-пиридинил)пропионитрила и нитрила исходного вещества. Этот сырой продукт используют в следующей реакции без дальнейшей очистки.

Пример 3.

Гидрохлорид метилового эфира глицина (0.942 г, 7.5 ммоль) и безводный ацетат натрия (0.615 г, 7.5 ммоль) добавляют к раствору сырого формильного производного (0.89 г) в MeOH/ H_2O (4:1, 50 мл). Спустя 24 часа MeOH выпаривают в вакууме, и смесь воды и масла экстрагируют с CHCl_3 . Слой CHCl_3 высушивают (Na_2SO_4) и выпаривают, получая янтарное масло, которое направляют в колонну с силикагелем. Элюирование с CHCl_3 дает два основных слоя: (1) 3-(3-пиридинил) пропионитрил (использованный в качестве исходного вещества в предыдущей стадии) и (2) желаемый енамин.

Пример 4.

В атмосфере азота этиловый эфир хлоруксусной кислоты (0.521 г, 4.8 ммоль) добавляют по каплям к раствору енамина примера 3 (0.513 г, 3.2 ммоль) и 1.5-диазабицикло [4.3.0] нон-5-ена (DBN, 1.37 г, 11.1 ммоль) в сухом CH_2Cl_2 (15 мл) с внешним охлаждением на ледяной бане. После перемешивания при 0°C в течение одного часа раствор оставляют при комнатной температуре в течение ночи. После проверки хода реакции с помощью ТСХ добавляют дополнительное количество ClCO_2Et (0.1 мл) и DBN (1.0 г) для завершения реакции, и раствор выдерживают в течение 24 часов. Летучее вещество выпаривают в вакууме, и вязкий остаток очищают в короткой колонке с силикагелем (главная цель которой - удаление менее подвижного DBN), получая N-защищенный пиррол, который используют для следующей стадии без дальнейшей очистки.

Пример 5.

К раствору N-защитленного пиррола примера 4 (0.635 г, 2.0 ммоль) в MeOH (50 мл) добавляют твердый Na_2CO_3 (0.212 г, 2.0 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 48 часов с выделением полученного деблокированного пиррола. Смесь упаривают досуха и остаток тщательно растирают в порошок с H_2O (25 мл) для растворения неорганических веществ и экстрагируют с CHCl_3 (3 x 100 мл). Экстракт высушивают (Na_2SO_4) и выпаривают до получения вязкой смолы, которая кристаллизуется при высушивании в вакууме для использования в качестве промежуточного вещества без дальнейшей очистки. Более высокая очистка может быть проведена или колоночной хроматографией при использовании силикагель/ CHCl_3 , или перекристаллизацией из смеси толуол/циклогексан (1:3).

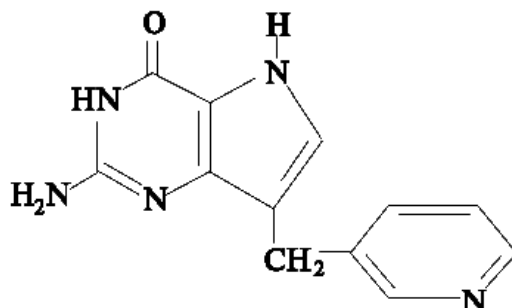
Пример 6.

Бензоилизотиоцианат (0.232 г, 1.42 ммоль) добавляют по каплям к раствору деблокированного пиррола примера 5 (0.290 г, 1.18 ммоль) в сухом CH_2Cl_2 (100 мл). После 1 часа при комнатной температуре раствор выпаривают, и смолистый остаток перемешивают в смеси Et_2O /циклогексан (1:1, 20 мл). Полученную суспензию желтого твердого вещества отфильтровывают под давлением азота и тиюреидное соединение высушивают в вакууме над P_2O_5 .

Пример 7.

Йодистый метил (0.228 г, 1.61 ммоль) добавляют к раствору тиюреида примера 6 (0.383 г, 0.94 ммоль) и DBN (0.140 г, 1.12 ммоль) в сухом CH_2Cl_2 (10 мл) при 0°C . Раствор перемешивают при 0°C в течение 15 минут, при температуре окружающей среды в течение 1 часа и затем выпаривают в вакууме. Раствор остатка в CHCl_3 хроматографируют в колонне с силикагелем со смесью CHCl_3 /метанол в качестве растворителя для элюирования, получая гомогенные фракции метилтиозамещенного промежуточного соединения.

Пример 8.

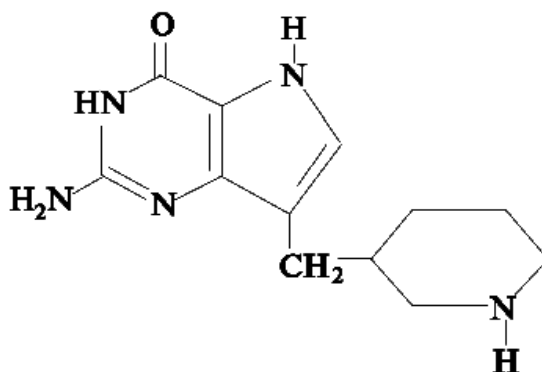


Раствор метилтиосоединения примера 7 (0.358 г, 0.85 ммоль) в 100 мл MeOH, который был насыщен NH_3 при 0°C , нагревают при $90-95^\circ\text{C}$ в течение 24 часов в футерованной стеклянными плитками бомбе из нержавеющей стали. Содержимое охлажденной бомбы выпаривают в вакууме, получая смесь желаемого 2-аминопроизводного, бензамида, и побочного продукта, представляющего собой 2-метилтиопроизводное. Смесь растворяют в метаноле, и раствор выпаривают с силикагелем (около 5 г). Смесь затем осторожно наносят на верхнюю часть хроматографической колонки с силикагелем, которую затем элюируют смесью CHCl_3 /MeOH (9:1), получая побочное метилтио соединение и желаемый 2-амино-7-(3-пиридинилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он, как промежуточное соединение. Дальнейшую очистку проводят перекристаллизацией из кипящего изопропилацетата в аппарате Сокслета. Анализ: вычислено для $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_5\text{O}$:

C, 59.74; H, 4.60; N, 29.03;

найдено: C, 59.58; H, 4.86; N, 28.89.

MS (FAB): 242 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; UV: 0.1 N HCl 233 (18.2), 269 (17.4); pH 7 233 (18.2), 269 (17.4); pH 7 233 (22.4); 269 (12.3); 0.1 N NaOH 227 (22.2), 263 (10.5), 290 (sh). $\text{IC}_{50}(\text{PNP})=25\text{nM}$.



Раствор пиридинилметильного промежуточного соединения в 0.1N HCl гидрируют на платиновом катализаторе при давлении H_2 60 фунтов/дюйм² (4.2186 кг/см²). Катализатор генерируют посредством кратковременного гидрирования PtO_2 в 0.1N HCl. Когда реакция заканчивается катализатор удаляют фильтрованием под давлением N_2 и фильтрат выпаривают. Остаток в минимальном количестве этанола разбавляют медленно большим количеством PtO_2 и получают гидрохлоридную соль в виде белого гигроскопичного твердого вещества (IC). Т.пл. (в °C) при 200° размягчается.

MS (FAB) m/e 248($\text{M}+\text{H}^+$); UV 0.1N HCl 234 (15.7), 273 (13.8) pH 7 буффер 232 (19.1), 271 (9.3), 0.1N NaOH 229 (19.0), 266 (7.1), 288 (sh); ^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$) δ 1.19, 1.61, 1.77 (m, 4H, H-4's and 5's пиперидина), 1.96 (m, 1H, H-3 пиперидина), 2.53 (d, 2H, $-\text{CH}_2-$), 2.69 (m, 2H, H-2's пиперидина), 3.14 (d, 2H, H-6's пиперидина), 7.25 (d, $J=2.8$, 1H, H-6), 7.76 (s, 2H, NH_2), 8.81, 9.18 (уш., 1 каждый, NH^+ обменивается с D_2O), 12.24 (s, 1H, S-NH).

Анализ: вычислено для $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_6\text{O} \cdot 2.8 \text{ HCl} \cdot 0.2 \text{ C}_2\text{H}_6\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}$:

C, 39.55; H, 6.16; N, 18.60; Cl, 26.36.

Найдено: C, 39.75; H, 6.24; N, 18.65; Cl, 26.08. $\text{IC}_{50} = 1 \text{ мкМ}$.

Пример 9.

Вещество (IC) примера 8 испытывают на ферментативную ингибирующую активность. Проводят ферментативный анализ пуриноклеозидфосфорилазы (PNP), в котором изучают PNP активность (IC_{50}) для вещества, которую определяют радиохимически посредством измерения образования [^{14}C]-гипоксантина из [^{14}C]-инозина [см. Biomedicina, 33, 39 (1980)], используя селезенку задней части голени в качестве источника энзима.

Примеры 10-14.

Следующие вещества настоящего изобретения, представляющие собой 2-амино-7-(CH_2R)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-оны, в которых R группа означает следующее:

пример 10: R- 2- метил -3-пиперидинил;

пример 11: R- 2-хлор-3-пиперидинил;

пример 12: R - 2-трифторметил-3-пиперидинил;

пример 13: R - 2-метокси-3-пиперидинил;

пример 14: R - 2-фтор-3-пиперидинил;

получают, следуя способам, приведенным в примерах 1-8, используя соответствующие 3-(замещенные 3-пиридинил)-пропионитрилы в качестве исходных веществ.

Пример 15.

3-(2-Пиридинил) пропионитрил получают в этом примере, используя способ V.Boekelheide, et al., J. Am. Chem. Soc., 75. 3243 (1953). Раствор цианида калия (83.74 г) в воде (160 мл) добавляют к раствору свежеперегнанного 2-винилпиридина (67.59 г) в ангидриде уксусной кислоты (131.30 г) со скоростью, отрегулированной для поддержания осторожного кипения с обратным холодильником. Когда добавление заканчивают, полученную темно-красную смесь нагревают в течение примерно 17 часов при 105°C в масляной бане с энергичным перемешиванием. Охлажденную реакционную смесь доводят до pH 8 насыщенным раствором Na_2CO_3 . Смесь экстрагируют CHCl_3 (4 x 150 мл),

промывают водой, высушивают Na_2SO_4 и выпаривают до темного вязкого масла. Масло фракционированно перегоняют в вакууме через Vigreux колонну. После малого предгона, содержащего 2-винилпиридин (0.35 г), желаемый 3-(2-Пиридинил)пропионитрил собирают в виде прозрачного, флуоресцирующего желто-зеленого вязкого масла: выход 59.8 г; 70.4 %; точка кипения 86°C при 1.0 ммHg.

Примеры 16-20.

Получают следующие вещества настоящего изобретения: 2-амино-7-(CH_2R)-3Н,5Н-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-оны, в которых группа R имеет следующие значения:

пример 16: R - 2-пиперидинил;

пример 17: R - 4-пиперидинил;

пример 18: R - 3-трифторметил-4-пиперидинил;

пример 19: R - 3-метокси-2-пиперидинил;

пример 20: R - 3-фтор-4-пиперидинил;

следуя способам, приведенным в примерах 1-8 и 15, используя соответствующие 3-(2- или 4-пиридинил)пропионитрилы в качестве исходных веществ.

Пример 21.

Получают фармацевтическую композицию для интраперитональной инъекции для испытания вещества (IC). Для этого интраперитональный инъекционный раствор, содержащий вещество примера 8, растворяют в водном носителе, который содержит 10 % DMSO.

Пример 22.

Вводят интраперитонально в Lewis Rats композицию примера 21, содержащую вещество (IC) с дозой 30 мг вещества (IC) с инъекцией дважды в день. Используют контрольные группы, которые получают только наполнитель. Через определенное время после введения животных усыпляют и получают образцы плазмы. Плазму экстрагируют холодной 0.5N HClO_4 и нейтрализуют твердым NH_4HCO_3 . После удаления перхлоратных солей экстракт подвергают HPLC (ЖХВД) - жидкостная хроматография высокого давления) на колонне с обратной фазой (Spherisorb ODSI). Наблюдают значительное увеличение плазменного инозина в плазме, взятой из животных, получающих вещество (IC)

Примеры 23-33.

Вещества, полученные в примерах 10-20, использованы для приготовления лекарственных средств в соответствии со способом приготовления примера 21. Полученные впрыскиваемые растворы испытывают в соответствии со способом примера 22. Наблюдают значительное увеличение плазменного инозина в плазме, взятой из животных, получающих вещества настоящего изобретения.

Пример 34.

В этом примере получают 3-(2-фуранил)пропионитрил. В трехгорлую колбу, снабженную конденсатором и осушительной трубкой, добавляют магниевые стружки (20 г) к раствору 3-(2-фуранил)акрилонитрила (67.2 г) в сухом метаноле (2 л). Дополнительное количество магния добавляют по частям в зависимости от скорости реакции до тех пор, пока не будет добавлено все количество (145 г). Спустя около 5 часов растворитель выпаривают до тех пор, пока содержимое не образует твердую пасту, которую доводят до pH около 6.5 с помощью 6N HCl при охлаждении. Смесь экстрагируют с помощью нескольких порций CHCl_3 , сушат с помощью Na_2SO_4 и концентрируют до темного масла. Перегонка в вакууме через короткую Vigreux колонку дает пропионитрил в виде бесцветного масла; выход 49.5 г (72 %); точка кипения $46.0\text{--}46.5^\circ\text{C}$ при 0.5 ммHg.

3-(2-фуранил)пропионитрил из примера 34 далее используют в синтезах настоящего изобретения.

Пример 35.

В атмосфере сухого N_2 пропионитрил (48.7 г), гидрид натрия (10.28 г), этиловый

эфир муравьиной кислоты (32.74 г) и безводный тетрагидрофуран (200 мл) перемешивают при комнатной температуре с защитой от влаги в течение 18 часов. Летучее вещество затем выпаривают, полученное желтое твердое вещество растворяют в примерно 20 мл 27 холодной воды с охлаждением на ледяной бане, и раствор доводят до pH 6.0 с помощью холодной 6N HCl. Полученный тяжелый маслянистый осадок экстрагируют в CHCl_3 и экстракт промывают водой, высушивают с помощью Na_2SO_4 и выпаривают, получая жидкое масло, которое содержит сырое формильное производное; выход 53.06 г.

Пример 36.

Гидрохлорид метилового эфира глицина (67.05 г) и безводный ацетат натрия (43.79 г) добавляют к раствору сырого формильного производного предыдущего примера (53.05 г) в $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (4:1, 1500 мл). Через 24 часа MeOH выпаривают в вакууме и смесь воды и масла экстрагируют с помощью CHCl_3 . Слой CHCl_3 высушивают (Na_2SO_4) и выпаривают, получая янтарное масло (59.1 г).

Пример 37.

В атмосфере азота этиловый эфир хлормуравьиной кислоты (43.68 г) добавляют по каплям к раствору янтарного масла примера 36 (59.1 г) и DBN (133 г) в сухом CH_2Cl_2 (400 мл) с внешним охлаждением на ледяной бане. После перемешивания при 0°C в течение 1 часа раствор оставляют стоять при комнатной температуре в течение ночи. После проверки течения реакции с помощью ТСХ вводят дополнительное количество ClCO_2Et и DBN для завершения реакции, и раствор оставляют стоять в течение 24 часов. Летучее вещество выпаривают в вакууме, вязкий остаток очищают на колонне с силикагелем (главная цель которой - удаление менее мобильного DBN), получая N-защищенный пиррол, соответствующий пиррол без этоксикарбонильной защитной группы на пиррольном азоте и исходный пропионитрил.

Пример 38.

К раствору N-защищенного пиррола примера 37 (11.66 г) в MeOH (200 мл) добавляют твердый Na_2CO_3 (4.23 г) и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 24 часов с отделением полученного деблокированного пиррола. Смесь выпаривают досуха, и остаток тщательно растирают в порошок с H_2O (200 мл) для растворения неорганических веществ, и экстрагируют с помощью CHCl_3 (3 x 200 мл). Экстракт сушат (Na_2SO_4) и выпаривают, получая вязкую смолу, которая кристаллизуется при высушивании в вакууме, для использования в качестве промежуточного соединения без дальнейшей очистки. Более глубокая очистка может быть проведена колоночной хроматографией с использованием силикагель/ CHCl_3 , или перекристаллизацией из смеси толуол/циклогексан (1:3).

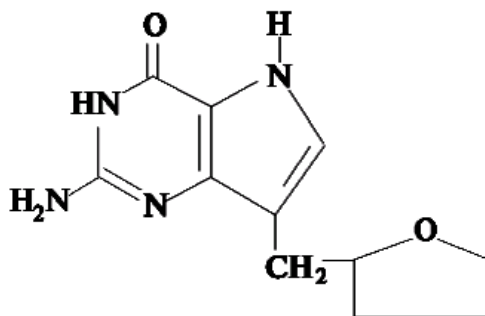
Пример 39.

Бензоилизотиоцианат (4.58 г) добавляют по каплям к раствору деблокированного пиррола примера 38 (5.15 г) в сухом CH_2Cl_2 (75 мл). Через 1 час при комнатной температуре раствор выпаривают, и смолистый остаток растворяют в Et_2O (100 мл) с почти немедленным выделением кристаллического твердого вещества, которое собирают фильтрованием. Фильтрат Et_2O нагревают до кипения и разбавляют с помощью равного объема горячего циклогексана. При медленном охлаждении раствор дает дополнительное количество тиюреидопроизводного.

Пример 40.

Йодистый метил (8.70 г) добавляют к раствору тиюреидолпроизводного примера 39 (10.68 г) и DBN (4.15 г) в сухом CH_2Cl_2 (250 мл) при 0°C . Раствор перемешивают при 0°C в течение 15 минут, при температуре окружающей среды в течение 1 часа и затем выпаривают в вакууме. Раствор остатка в CHCl_3 хроматографируют в колонне с силикагелем с использованием CHCl_3 в качестве растворителя для элюирования, получая гомогенные фракции метилтиопромежуточного соединения.

Пример 41.



Раствор метилтиосоединения из примера 40 (0.80 г, 2.0 ммоль) в 25 мл MeOH, который был насыщен NH_3 при 0°C , нагревают при $90-95^\circ\text{C}$ в течение 24 часов в футерованной стеклянными плитками бомбе из нержавеющей стали. Содержимое охлажденной бомбы выпаривают в вакууме, получая смесь 2-аминосоединения, бензамида и побочного продукта, который является 2-метилтиопроизводным. Смесь перемешивают энергично в течение нескольких минут с 30 мл смеси 2:1 Et_2O /циклогексан, и нерастворимое белое твердое вещество отфильтровывают и промывают Et_2O . Фильтрат содержал большую часть бензамида и 2-метилтиопроизводного. Раствор нерастворимого в смеси Et_2O /циклогексан твердого вещества (0.425 г) в MeOH выпаривают с приблизительно 10 г силикагеля. Измельченный в порошок остаток наносится равномерно на верх колонны с силикагелем, которая затем элюируется с помощью смеси $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{HOAc}$ (95:5:1), давая 2-метилтиопроизводное как побочный продукт и желаемое фуранильное промежуточное соединение. Промежуточное соединение перекристаллизовывают экстракцией в кипящем изопропилацетате в аппарате Сокслета. Белые кристаллы собирают в три порции и сушат в вакууме над P_2O_5 при 110°C в течение 7 часов.

Раствор промежуточного соединения (116 г, 0.5 ммоль) в метаноле (50 мл) гидрируют с помощью 30 % палладия на древесном угле (40 мг) при давлении H_2 62 фунта/дюйм² (4.3592 кг/см²) в течение около 36 часов. Катализатор удаляют фильтрованием под давлением N_2 и фильтрат выпаривают, и затем повторно выпаривают с толуолом. Твердый остаток перекристаллизовывают экстракцией в кипящем изопропилацетате в аппарате Сокслета. 2-Тетрагидрофуранильное соединение (IE) получают в виде белого кристаллического твердого вещества, которое высушивают в вакууме над P_2O_5 при 110°C в течение примерно 6 часов; выход 73 мг (61.8 %); т.пл. $284-286^\circ\text{C}$ (разл.).

MS (FAB) m/e 235 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, UV 0.1 N HCl 235 (17.1), 273 (14.7), pH 7 буффер 232 (20.0), 271 (10.5), 0.1 N NaOH 228 (20.2), 264 (7.0), 286 (6.2); ^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$) δ 1.50, 1.78 (m, 4H, H-3's и 4's тетрагидрофуранила), 2.52, 2.69 (2d, 2H, $-\text{CH}_2\text{R}$), 3.57, 3.76 (2m, 1H каждый, H-5's тетрагидрофуранила), 5.82 (s, 2H, NH_2), 6.97 (d, $J=2.8$, 1H, H-6), 10.34 (s, 1H, 3-NH), 11.18 (s, 1H, 5-NH). Анализ: вычислено для $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$:

C, 56.40; H, 6.02; N, 23.92;

найдено: C, 56.33; H, 6.49; N, 23.95.

Пример 42.

Продукт примера 41 испытывают на ферментативную ингибирующую активность в соответствии со способом примера 9, и наблюдают PNP активность ($\text{IC}_{50}=11$ мкМ) для вещества.

Пример 43.

Приготавливают фармацевтическую композицию для интраперитонеальной инъекции для испытания вещества (IE). Для этого интраперитонеальный инъектируемый раствор, содержащий вещество примера 41, растворяют в водном носителе, который содержит 10 % DMSO.

Пример 44.

Используя способ примера 16, вводят интраперитонеально в Lewis Rats композицию

примера 43, содержащую вещество (IE) с дозой 30 мг вещества (IE) и результаты анализируют по сравнению с контрольными. Наблюдают значительное увеличение плазменного инозина в плазме, взятой из животных, получающих вещество (IE).

Примеры 45-49.

Получают следующие вещества настоящего изобретения, 2-амино-7-(CH₂R)-3H, 5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-оны, в которых группа R означает:

пример 45: R - 3-тетрагидрофуранил;

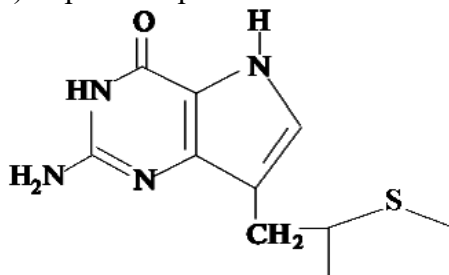
пример 46: R - 3-хлор-2-тетрагидрофуранил;

пример 47: R - 3-трифторметил-2-тетрагидрофуранил;

пример 48: R - 3-метокси-3-тетрагидрофуранил;

пример 49: R - 3-фтор-2-тетрагидрофуранил.

Вещества получают, следуя способам, приведенным в примерах 34-41, используя соответствующие 3-(фуранил)-акрилонитрилы в качестве исходных веществ. Пример 50.



В атмосфере азота раствор тетрагидрофуранильного производного (IE) (500 мг), полученного в примере 41, и кристалл фенола в 2N HBr (20 мл) перемешивают в течение 18 часов при 40°C. Растворитель выпаривают в вакууме при низкой температуре и остаток промывают с помощью нескольких мл Et₂O, декантацией удаляя любой трибромфенол. Т.пл. 311-313°C.

MS (FAB) m/e 251 (M+H)⁺; UV 0.1 N HCl 234 (17.4), 274 (15.2), pH 7 буффер 232 (20.9), 272 (10.6), 0.1 N NaOH 228 (21.3), 265 (7.3), 287 (6.5); ИК (KBr) 3211, 3203, 3127, 3108, 2936, 1661, 1609, 1567, 1524, 1369 см⁻¹; ¹H-ЯМР (DMSO-d₆) δ 1.62, 1.87, 2.01 (комплекс m, 4H, H-3's и 4's тетрагидротииенила), 2.72 (m, 4H, -CH₂-перекрывающий H-5's тетрагидротииенила), 3.64 (p, 1H, 6-2 тетрагидротииенила), 5.82 (s, 2H, NH₂), 6.97 (d, J=3.0, 1H, H-6), 10.34 (s, 1, 3-NH), 11.17 (s, 1, 5-NH);

Анализ: вычислено для C₁₁H₁₄N₄OS:

C, 52.78; H, 5.64; N, 22.38;

найдено: C, 52.56; H, 5.64; N, 22.50.

Из фильтрата получают 2-амино-1,5-дигидро-7-(1,2-дитиан-3-илметил)-4H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он; т.пл. 311-313°C.

MS (FAB) m/e 283 (M+H)⁺; IR (KBr) 3139, 3135, 3131, 2926, 1673, 1658, 1609, 1569, 1523, 1370 см⁻¹; ¹H-ЯМР (DMSO-d₆) δ 1.53, 1.67, 2.04 (комплекс m, 4H, H-4's и 5-s дитиенила), 2.67 (m, 2H, -CH₂R); 2.75 (m, 2H, H-6's дитиенила), 3.17 (m, 1H, H-3 дитиенила), 5.84 (s, 2H, NH₂), 7.00 (d, J=3.0, 1H, H-6), 10.34 (s, 1H, 3-NH), 11.24 (s, 1H, 5-NH).

Анализ: вычислено для C₁₁H₁₄N₄OS₂:

C, 46.80; H, 5.00; N, 19.85;

найдено: C, 46.78; H, 4.97; N, 19.81.

Суспензию остатка в воде доводят до pH 7 1N NaOH, получая бромоспирт в виде свободного основания. Твердое вещество собирают, промывают холодной водой и высушивают при комнатной температуре.

Раствор бромоспирта в безводном диметилацетамиде охлаждают в ледяной бане и обрабатывают эквимольной порцией PBr₃. Раствор перемешивают при комнатной температуре в течение 1 часа, затем диметилацетамид выпаривают в вакууме при низкой температуре, используя воздушный насос и ловушку с сухим льдом. Суспензию остатка в

смеси лед/вода доводят до pH 7, используя 1N NaOH, и получают сырой продукт реакции, содержащий 1,4-дибромсоединение. После фильтрования, промывания холодной водой и высушивания при комнатной температуре, полученный продукт кипятят с обратным холодильником с сульфидом натрия в смеси 50 % этанол/вода, либо нагревают с Na₂S в растворе N,N-диметилацетамида; растворитель удаляют под вакуумом, остаток промывают водой для удаления NaBr и pH доводят до примерно 7 для осаждения 2-тетрагидротиенильного вещества (IG).

Пример 51.

Вещество примера 50 испытывают на ферментативную ингибирующую активность, как в примере 9, и наблюдают PNP активность (IC₅₀ = 11 пМ) для вещества наблюдают. IC₅₀ = 18 пМ для дитиан-3-ильного соединения.

Пример 52.

Готовят фармацевтическую композицию для интраперитонеальной инъекции для испытания вещества (IG). Интраперитонеальный инъектируемый раствор, содержащий вещество примера 50, растворяют в водном носителе, который содержит 10 % DMSO.

Пример 53.

Используя способ примера 16, вводят интраперитонеально в Lewis Rats опытную композицию примера 52, содержащую вещество (IG) с дозой 30 мг вещества (IG) и результаты анализируют по сравнению с контрольными. Наблюдают значительное увеличение плазменного инозина в плазме, взятой из животных, получающих вещество (IG).

Примеры 54-58.

Получают следующие вещества настоящего изобретения, 2-амино-7-(CH₂R)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-оны, в которых R означает:

пример 54: R - 3-тетрагидротиенил;

пример 55: R - 3-хлор-2-тетрагидро-тиенил;

пример 56: R - 3-трифторметил-2-тетрагидротиенил;

пример 57: R - 3-метокси-2-тетра-гидротиенил;

пример 58: R - 3-фтор-2-тетрагидро-тиенил;

вещества получают, следуя способам, приведенным в примерах 34-41 и 50, используя соответствующие 3-(фуранил)-акрилонитрилы в качестве исходных веществ.

Пример 59.

Используя способ примера 1, 3-(2-пирролил)-пропионитрил получают, используя пиррол-2-карбоксальдегид в качестве исходного вещества. Следуя примерам 2-8, промежуточное вещество 2-амино-7-(2-пирролил-метил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он получают из пропионитрила, из которого 2-пирролидинильное вещество (II) получают восстановлением промежуточного вещества.

Пример 60.

Используя способ примера 1, 3-(3-пирролил)-пропионитрил получают, используя пиррол-3-карбоксальдегид в качестве исходного вещества. Следуя примерам 2-8, промежуточное соединение 2-амино-7-(3-пирролилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он получают из пропионитрила, из которого 3-пирролидинильное вещество (IJ) получают восстановлением промежуточного вещества.

Пример 61.

Используя способ примера 1, 3-(2-пиранил)-пропионитрил получают, используя 2-пиранкарбоксальдегид в качестве исходного вещества. Следуя примерам 2-8, промежуточное вещество 2-амино-7-(2-пиранилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он получают из пропионитрила, из которого 2-тетрагидропиранильное вещество (IL) получают восстановлением промежуточного вещества.

Пример 62.

Используя способ примера 1, 3-(3-пиранил)-пропионитрил получают, используя 3-

пиранкарбоксальдегид в качестве исходного вещества. Следуя примерам 2-8, промежуточное вещество 2-амино-7-(3-пиранилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он получают из пропионитрила, из которого 3-тетрагидропиранильное вещество (IM) получают восстановлением промежуточного соединения.

Пример 63.

Используя способ примера 1, 3-(4-пиранил)-пропионитрил получают, используя 4-пиранкарбоксальдегид в качестве исходного вещества. Следуя примерам 2-8, промежуточное вещество 2-амино-7-(4-пиранилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он получают из пропионитрила, из которого 4-тетрагидропиранильное вещество (IN) получают восстановлением промежуточного соединения.

Пример 64.

Раствор метилтиопроизводного примера 7 (0.358 г, 0.85 ммоль) в 100 мл MeOH, который был насыщен NH_3 при 0°C , нагревают при $90-95^\circ\text{C}$ в течение 24 часов в футерованной стеклянными плитками бомбе из нержавеющей стали. Содержимое охлажденной бомбы выпаривают в вакууме, получая смесь желаемого 2-аминопромежуточного вещества, бензамида, и побочного продукта, который является 2-метилтиопроизводным. Смесь растворяют в метаноле, и раствор выпаривают с силикагелем (около 5 г). Затем смесь осторожно наносят на верх хромато-графической колонны с силикагелем, которую затем элюируют с помощью смеси $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (9:1), получая метилтиопобочный продукт и желаемый 2-амино-7-(3-пиридинилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он, вещество (IIA). Дальнейшую очистку проводят перекристаллизацией из кипящего изопропилацетата в аппарате Сокслета.

Пример 65.

Вещество (IIA) примера 64 испытывают на ферментативную ингибирующую активность. Проводят ферментативный анализ пуриннуклеозидфосфо-риказы (PNP), в котором наблюдают PNP активность (IC_{50}) для вещества, определяемую радиохимически посредством измерения образования ^{14}C -гипоксантина из ^{14}C -инозина (см. Biomedicina, 33, 39, 1980), используя селезенку задней части голени в качестве источника энзима.

Примеры 66-67.

Получают следующие вещества настоящего изобретения, 2-амино-7-(CH_2R)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-оны, в которых R означает: пример 66:

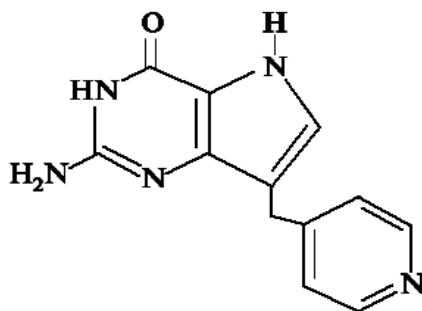
R - 2-пиридинил; пример 67:

R - 3-хлор-2-пиридинил;

вещества получают, следуя способам, приведенным в примерах 1-7 и 64, используя соответствующие 3-(пиридинил)-пропионитрилы в качестве исходных веществ.

Пример 68.

2-амино-4-оксо-3H,5H-7-[(4-пиридил)метил] пирроло [3,2-d] пиримидин гидрохлорид гидрат (2:4:1)



Метил 3-[(N-бензоил-8-метилизотиокарбамоил)амино]-4-[(4-пиридил)метил]-1H-пиррол-2-карбоксилат (BCX-180, 9.5 г, 23.25 ммоль) добавляют в 300 мл выложенный стеклянной футеровкой стеклянный сосуд высокого давления, к 90 мл метилата аммония (полученного путем пропускания аммиака в безводный метанол при температуре $0-5^\circ\text{C}$ до насыщения) и реакционный сосуд закупоривают. Этот сосуд нагревают до температуры $85-90^\circ\text{C}$ в течение 12 часов и затем охлаждают до комнатной температуры. Летучие

вещества выпаривают с помощью вращающегося испарителя и к полученному остатку добавляют 150 мл 1N HCl и 100 мл хлороформа. Полученную смесь энергично перемешивают и выделяют экстракт HCl. Экстракт HCl нейтрализуют, используя водный раствор карбоната натрия. Выпавшее в осадок твердое вещество выделяют путем фильтрации, высушивают на воздухе и экстрагируют 2 л этанола в аппарате Сокслета в течение 48 часов. Этанол выпаривают и образовавшийся светло-коричневый твердый остаток (3.1 г) размешивают с 20 мл деионизированной (DI) воды. Концентрированную (37 %) соляную кислоту добавляют по каплям до тех пор, пока все твердое вещество не растворяется (2.1 мл, 25.7 ммоль). Прозрачный раствор обрабатывают активированным углем (700 мг) при температуре 50°C в течение 5 минут и фильтруют через короткую колонку, заполненную цеолитом. Полученный фильтрат концентрируют на вращающемся испарителе при температуре 50-55°C, с получением белого твердого вещества, высушивают на воздухе, а затем в вакууме при температуре перегонки толуола. Вес полученного белого твердого вещества составляет 3.6 г (48 %), т.пл. 340-342°C.

Анализ: вычислено для $C_{12}H_{11}N_5O \cdot 2HCl \cdot 0.5H_2O$:

C, 44.59; H, 4.67; N, 21.67.

Найдено: C, 44.59; H, 4.57; N, 21.47.

Пример 69.

Готовят фармацевтическую композицию для интраперитонеальной инъекции для испытания вещества (ПА). Для этого интраперитонеальный инъектируемый раствор, содержащий вещество примера 64, растворяют в водном носителе, который содержит 10 % DMSO.

Пример 70.

Вводят интраперитонеально в Lewis Rats опытную композицию примера 69, содержащее вещество (ПА), в дозе 30 мг вещества (ПА) инъекцией дважды в день. Используют контрольные группы, которые получают только наполнитель. Через определенное время после введения животных усыпляют и получают образцы плазмы. Плазму экстрагируют с помощью холодной 0.5N HClO₄ и нейтрализуют с помощью твердого NH₄NCО₃. После удаления перхлоратных солей экстракт подвергают ЖХВД на колонне с обратной фазой (Spherisorb ODSI). Наблюдали значительное увеличение плазменного инозина в плазме, взятой из животных, получающих вещество (ПА).

Примеры 71-73.

Вещества, полученные как в примерах 66-68, использованы для получения фармкомпозиций в соответствии со способом примера 69, и полученные инъектируемые растворы испытаны в соответствии со способом примера 70. Наблюдают значительное увеличение плазменного инозина в плазме, взятой у животных, получающих вещество настоящего изобретения.

Пример 74.

1 -Циклогексенилацетонитрил используют в синтезах для получения соединений настоящего изобретения. В атмосфере сухого N₂ раствор 1-циклогексенилацетонитрила (9.2 г, 75.92 ммоль) в безводном тетрагидрофуране (THF, 10 мл) добавляют к перемешиваемой смеси гидроксида натрия (3.18 г, 132.86 ммоль) и этилового эфира муравьиной кислоты (30.14 г, 406.93 ммоль) в 50 мл THF, и полученную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение около 18 часов. Летучее вещество выпаривают в вакууме при комнатной температуре. Воду (30 мл) добавляют к остатку при 0°C, и раствор доводят до pH 6 добавлением по каплям 6N HCl. Полученный осадок в виде тяжелого масла экстрагируют CHCl₃. Экстракт промывают водой и высушивают с помощью Na₂SO₄ и полученный органический слой выпаривают, получая сырое формильное производное в виде красно-коричневого масла (9.6 г).

Пример 75.

Гидрохлорид метилового эфира глицина (16.68 г, 132.85 ммоль) и безводный

ацетат натрия (10.89 г, 132.85 ммоль) добавляют к раствору сырого формильного производного (9.6 г) примера 74 без дальнейшей очистки в смеси MeOH/H₂O (4:1, 150 мл). Спустя 24 часа MeOH выпаривают в вакууме и смесь воды и масла экстрагируют с помощью CHCl₃. Слой CHCl₃ высушивают (Na₂SO₄) и выпаривают, получая янтарное масло, которое подают на колонку с силикагелем. Элюирование с помощью CHCl₃ дает желаемый енамин: выход 4.5 г.

Пример 76.

В атмосфере азота этиловый эфир хлормуравьиной кислоты (3.04 г, 28.06 ммоль) добавляют по каплям к раствору енамина примера 75 (4.12 г, 18.70 ммоль) и 1,5-диазабицикло [4.3.0] нон-5-ена (DBN, 6.96 г, 56.11 ммоль) в сухом CH₂Cl₂ (100 мл) с внешним охлаждением в ледяной бане. После перемешивания при 0°C в течение 1 часа раствору дают постоять при комнатной температуре в течение ночи. После проверки хода реакции с помощью ТСХ вводят дополнительное количество ClCO₂Et (0.5 мл) и DBN (3.0 мл) для завершения реакции, и раствор оставляют на 24 часа. Летучее вещество выпаривают в вакууме, вязкий остаток очищают на короткой колонке с силикагелем (главная цель которой есть удаление менее мобильного DBN), получая N-защищенный пиррол, который используют для следующей стадии без дальнейшей очистки.

Пример 77.

К раствору N-защищенного пиррола примера 76 (3.0 г, 10.26 ммоль) в MeOH (100 мл) добавляют твердый Na₂CO₃ (2.71 г, 25.65 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 48 часов с отделением полученного деблокированного пиррола. Смесь выпаривают досуха, и остаток тщательно растирают в порошок с водой (50 мл) для растворения неорганических веществ, и экстрагируют с помощью CHCl₃ (3 x 50 мл). Экстракт сушат (Na₂SO₄) и выпаривают до получения вязкой смолы, которую очищают на колонне с силикагелем, используя CHCl₃ в качестве элюента; выход 2.04 г; т.пл. 125°C.

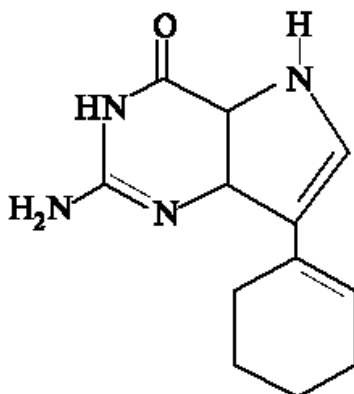
Пример 78.

Бензоилизотиоцианат (0.76 г, 4.65 ммоль) добавляют по каплям к раствору деблокированного пиррола примера 77 (0.91 г, 4.13 ммоль) в сухом CH₂Cl₂ (30 мл). Спустя 1 час при комнатной температуре раствор выпаривают и смолистый остаток растирают в порошок с метанолом, получая тиюреидопроизводное; выход 0.70 г, т.пл. 170°C.

Пример 79.

Йодистый метил (0.678 г, 4.78 ммоль) добавляют к раствору тиюреидопроизводного примера 78 (0.630 г, 1.64 ммоль) и DBN (0.230 г, 1.85 ммоль) в сухом CH₂Cl₂ (50 мл) при 0°C. Раствор перемешивают при 0°C в течение 15 минут, при температуре окружающей среды в течение 1 часа, а затем выпаривают в вакууме. Раствор остатка в CHCl₃ хроматографируют на колонке с силикагелем с помощью CHCl₃ в качестве элюента, получая гомогенные фракции метилтиосоединения как промежуточного соединения; выход 0.7 г.

Пример 80



Раствор метилтиосоединения примера 79 (0.70 г, 1.76 ммоль) в 50 мл MeOH,

который был насыщен NH_3 при 0°C , нагревают при $90-95^\circ\text{C}$ в течение 24 часов в футерованной стеклянными плитками бомбе из нержавеющей стали. Содержимое охлажденной бомбы выпаривают в вакууме, получая смесь вещества (IIIА), бензамида и побочного продукта, который является 2-метилтиопроизводным, в отличие от 2-аминосоединения (IIIА). Смесь энергично перемешивают в течение нескольких минут с приблизительно 50 мл Et_2O , и нерастворимое белое твердое вещество отфильтровывают и промывают с помощью Et_2O . Фильтрат содержал большую часть бензамида и 2-метилтио производного. Раствор нерастворимого в Et_2O твердого вещества (0.342 г) в MeOH выпаривают с приблизительно 10 г силикагеля. Измельченный в порошок остаток наносят равномерным слоем на верхнюю часть колонны с силикагелем, который затем элюируют с помощью смеси $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{HOAc}$ (95:5:1), получая 2-метилтиопроизводное как побочный продукт и желаемое 2-амино-соединение (IIIА). (IIIА) перекристаллизуют экстракцией в кипящем изопропилацетате в аппарате Сокслета. Белые кристаллы собирают в три массы и высушивают в вакууме над P_2O_5 при 110°C в течение 7 часов; выход 44 %; т.пл. 280°C (разл.).

Анализ для $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O} \cdot 0.6\text{H}_2\text{O}$:

вычислено: С, 59.78; Н, 6.35; N, 23.23;

найденно: С, 59.98; Н, 6.46; N, 23.15.

Пример 81.

Вещество примера 80 испытывают на ферментативную ингибирующую активность. Проводят ферментативный анализ пуриннуклеозидфосфорилазы (PNP), в котором определяют PNP активность для вещества радиохимическим измерением образования ^{14}C -гипоксантина из ^{14}C -инозина (см. Biomedicina, 33, 39, 1980), используя селезенку задней части голени в качестве источника энзима. При 1 mM фосфата IC_{50} равно 1.9 мкМ, и при 50 mM фосфата IC_{50} равно 19 мкМ.

Пример 82.

Следуя способам, приведенным в примерах 74-80, вещества (IIIВ) и (IIIС) получают, используя 2- и 3-циклогексенацетонитрил, соответственно, в качестве исходных веществ. Вещества испытывают, как в примере 81, и наблюдают значительную ферментативно-ингибирующую активность.

Примеры 83-87.

Получают следующие вещества настоящего изобретения: 2-амино-7-(R)-3Н,5Н-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-оны, в которых R группа следующая:

пример 83: R - 3-метил-2-циклогексенил;

пример 84: R - 2-хлор-3-циклогексенил;

пример 85: R - 3-трифторметил-1-циклогексенил;

пример 86: R - 3-метокси-1-циклогексенил;

пример 87: R - 2-фтор-3-циклогексенил;

вещества получают, следуя способам, приведенным в примерах 74-81, используя соответствующие циклогексенацетонитрилы в качестве исходных веществ.

Пример 88.

Готовят фармацевтическую композицию для интраперитонального введения для испытания вещества (IIIА). Интраперитональный инъеклируемый раствор, содержащий вещество (IIIА), растворяют в водном носителе, который содержит 10 % DMSO.

Пример 89.

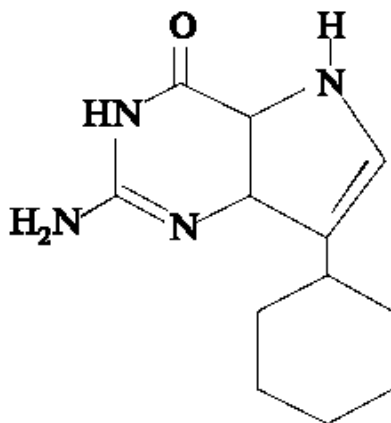
Вводят интраперитонально в Lewis Rats опытную композицию, содержащую вещество (IIIА) примера 88, в дозе 30 мг вещества (IIIА) с инъекцией дважды в день. Используют контрольные группы, которые получают только наполнитель. Через определенное время после введения животных усыпляют, и получают образцы плазмы. Плазму экстрагируют с помощью холодной 0.5N HClO_4 и нейтрализуют с помощью твердого NH_4HCO_3 . После удаления перхлоратных солей экстракт подвергают ЖХВД на колонке с обратной фазой (Spherisorb ODSI). Наблюдают значительное увеличение

плазменного инозина в плазме, взятой из животных, получающих вещество (ША).

Примеры 90-94.

Вещества, полученные, как в примерах 83-87, использованы для приготовления лекарственных средств в соответствии со способом приготовления примера 88, и полученные инъектируемые растворы испытывают в соответствии со способом примера 89. Наблюдают значительное увеличение плазменного инозина в плазме, взятой у животных, получающих вещества настоящего изобретения.

Пример 95.



Вещество (IID) получают, используя 2-амино-7-(1-циклогексенил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пириимидин-4-он в качестве промежуточного соединения. Раствор промежуточного соединения (0.2 г, 0.86 ммоль) в этаноле (50 мл) гидрируют с помощью 10 % Pd-C (50 мг) при давлении 45 фунтов/дюйм² в течение 16 часов и фильтруют горячий раствор через цеолит. Фильтрат выпаривают досуха, и остаток кристаллизуют из горячего этанола, получая вещество (IID); выход 157 мг (78 %); т.пл. > 300°C (разл.). Анализ для C₁₂H₁₆N₄O • 0 • EtOH:

вычислено: C, 61.80; H, 7.10; N, 23.51;

найденно: C, 61.95; H, 7.43; N, 23.56.

Пример 96.

Вещество (IID), полученное в примере 95, испытывают на ферментативноингибирующую активность, как в примере 81. При 1 mM фосфата IC₅₀ равно 1.3 мкМ, и при 50 mM фосфата IC₅₀ равно 145 мкМ.

Пример 97.

3-(2-Адамантил)-пропионитрил получают в этом примере, используя методику способа M. Ohno et al., J. Org. Chem., 53, 1285 (1988). Раствор 2-бромадамантана (20 г, 92.96 ммоль), Bu₃SnH (32.46 г, 111.5 ммоль), акрилонитрила (9.86 г, 185.92 ммоль) и AIBN (740 мг) в толуоле (280 мл) перемешивают при температуре кипения с обратным холодильником в течение 3 часов. Реакционную смесь промывают аммиачной водой (0.4 M, 500 мл), органический слой промывают водой и высушивают над MgSO₄ и выпаривают. Остаток перегоняют при температуре между 110-118°C и около 0.2 ммHg; фракции соединяют, получая сырой образец загрязненного 3-(2-адамантил)-пропионитрила с комплексами олова, который очищают на колонне с силикагелем с помощью гексанов; за которыми следуют гексан/этилацетат 97:3 и гексан/этилацетат 95:5; выход 9.4 г (53.4 %), т.пл. полутвердый.

Пример 98.

3-(2-Адамантил)-пропионитрил примера 97 используют далее для синтеза соединений настоящего изобретения. В атмосфере сухого N₂, смесь 3-(2-адамантил)-пропионитрила (7.0 г, 36.99 ммоль), гидрида натрия (1.7 г, 73.95 ммоль) и безводного тетрагидрофурана (75 мл) нагревают при 52°C в водяной бане в течение 15 минут, и раствор этилового эфира муравьиной кислоты (13.69 г, 184.89 ммоль) в THF (100 мл) добавляют в течение 45 минут. Через 2 часа при 50-55°C вторую порцию NaNH (0.8 г) и HCO₂Et (7.5 мл) добавляют, и реакционную смесь перемешивают в течение примерно 2

дней. Третью порцию HCO_2Et (7.5 мл) и NaN (0.8 г) добавляют и оставляют при комнатной температуре в течение около 24 часов (непрореагировавший нитрил инертен в следующей стадии и может быть регенерирован в первой стадии очистки). Крутую пасту перемешивают в течение ночи и дают охладиться до комнатной температуры. Летучее вещество выпаривают при пониженном давлении и оставшуюся бледно-желтую корку растворяют в минимальном объеме холодной воды (приблизительно 150 мл) при 0°C . Раствор доводят до pH 6.0 добавлением 6N HCl и экстрагируют с помощью CHCl_3 (3 x 100 мл). Экстракт промывают водой, высушивают над Na_2SO_4 и выпаривают в вакууме до густого янтарного масла. Этот сырой продукт используют в следующей реакции без дальнейшей очистки.

Пример 99.

Гидрохлорид метилового эфира глицина (6.96 г, 55.46 ммоль) и безводный ацетат натрия (4.55 г, 55.46 ммоль) добавляют к раствору сырого формильного производного (8.0 г) в $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (4:1, 500 мл). Спустя 24 часа MeOH выпаривают в вакууме и смесь воды и масла экстрагируют CHCl_3 . Слой CHCl_3 высушивают (Na_2SO_4) и выпаривают, получая янтарное масло, которое подают в колонку с силикагелем. Элюирование с помощью CHCl_3 дает два основных слоя: (1) 3-(2-адамантил)-пропионитрил (использованный в качестве исходного вещества в предыдущей стадии), и (2) желаемый енамин; выход 6 г.

Пример 100.

В атмосфере азота этиловый эфир хлормуравьиной кислоты (2.82 г, 26.0 ммоль) добавляют по каплям к раствору енамина примера 99 (5.0 г, 17.34 ммоль) и 1,5-диазабицикло [4.3.0] нон-5-ена ("DBN", 6.46 г, 52.0 ммоль) в сухом CH_2Cl_2 (50 мл) с внешним охлаждением в ледяной бане. После перемешивания при 0°C в течение 1 часа раствору дают стоять при комнатной температуре в течение ночи. После контролирования хода реакции по ТСХ, вводят дополнительное количество ClCO_2Et (1.81 мл) и DBN (3.23 г) для завершения реакции, и раствор оставляют стоять в течение 24 часов. Летучее вещество выпаривают в вакууме, вязкий остаток очищают на короткой колонне с силикагелем (главная цель которой - удаление менее мобильной DBN), получая N-защищенный пиррол, который используют для следующей стадии без дальнейшей очистки.

Пример 101.

К раствору сырого N-защищенного пиррола примера 100 (6.0 г, 16.59 ммоль) в MeOH (100 мл) добавляют твердый Na_2CO_3 (4.39 г, 41.49 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 48 часов с отделением полученного деблокированного пиррола. Смесь выпаривают досуха, и остаток растирают в порошок тщательно с водой (50 мл) для растворения неорганических веществ и экстрагируют CHCl_3 (3 x 100 мл). Экстракт сушат (Na_2SO_4) и выпаривают, получая вязкую смолу, которую кристаллизуют с помощью эфира; выход 4 г; т.пл. $162-163^\circ\text{C}$.

Пример 102.

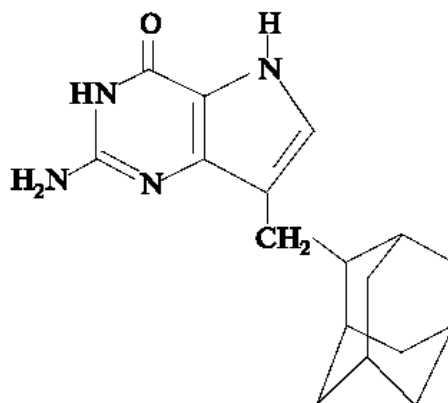
Бензоилизотиоцианат (1.22 г, 7.47 ммоль) добавляют по каплям к раствору деблокированного пиррола примера 101 (1.91 г, 6.62 ммоль) в сухом CH_2Cl_2 (50 мл). Спустя 1 час при комнатной температуре раствор выпаривают, и смолистый остаток растворяют в Et_2O (100 мл) с почти немедленным выделением кристаллического твердого вещества, которое отфильтровывают. Маточник Et_2O нагревают до кипения и разбавляют равным объемом горячего циклогексана. При медленном охлаждении раствор дает дополнительное количество тиюреидо-производного; выход 2.81 г (95 %); т.пл. $193-194^\circ\text{C}$.

Пример 103.

Йодистый метил (2.46 г, 17.39 ммоль) добавляют к раствору тиюреидопроизводного примера 102 (2.7 г, 5.98 ммоль) и DBN (0.82 г, 6.57 ммоль) в сухом CH_2Cl_2 (50 мл) при 0°C . Раствор перемешивают при 0°C в течение 15 минут, при температуре

окружающей среды в течение 1 часа и затем выпаривают в вакууме, получая сырой образец метилтиосоединения как промежуточного вещества; выход 2.78 г (сырой).

Пример 104.



Раствор метилтиосоединения примера 103 (2.78 г, 5.18 ммоль) в 150 мл MeOH, который был насыщен NH_3 при 0°C , нагревают при $90-95^\circ\text{C}$ в течение 24 часов в футерованной стеклянными плитками бомбе из нержавеющей стали. Содержимое охлажденной бомбы выпаривают в вакууме, получая смесь вещества (IVA), бензамида и побочного продукта, который является 2-метилтио-производным, в отличие от 2-аминосоединения (TVA). Смесь энергично перемешивают в течение нескольких минут с приблизительно 75 мл Et_2O и нерастворимое белое твердое вещество отфильтровывают с помощью Et_2O . Фильтрат содержал большую часть бензамида и 2-метилтиопроизводное. Раствор нерастворимого в Et_2O твердого вещества (1.38 г) в MeOH выпаривают с приблизительно 25 г силикагеля. Измельченный в порошок остаток наносится равномерно на верхнюю часть колонки с силикагелем, которую затем элюируют с помощью $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{HOAc}$ (95:5:1), получая 2-метилтиопроизводное как побочный продукт и желаемое 2-аминосоединение (IVA). (IVA) продукт перекристаллизовывают при экстракции в кипящем изопропилацетате в аппарате Сокслета. Белые кристаллы собирают в три массы и высушивают в вакууме над P_2O_5 при 110°C в течение 7 часов; выход 51.5 %; т.пл. $>350^\circ\text{C}$ (разл.).

Анализ для $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O} \cdot 0.21 \text{ MeOH} \cdot 0.22 \text{ H}_2\text{O}$:
вычислено: C, 66.88; H, 7.59; N, 18.12;
найденно: C 66.86; H, 7.59; N, 18.12.

Пример 105.

Вещество примера 104 испытывают на ферментативную ингибирующую активность. Для этого проводят ферментативный анализ пуриннуклеозидфосфорилазы (PNP), в котором определяют PNP активность (IC_{50}) для вещества радиохимическим измерением образования ^{14}C -гипоксантина из ^{14}C -инозина (см. Biomedicine, 33. 39, 1980), используя селезенку телят в качестве источника энзима. При 1 mM фосфата IC_{50} равно 0.090 мкМ, и при 50 mM фосфата IC_{50} равно 2.5 мкМ.

Примеры 106-110.

Получают следующие вещества настоящего изобретения: 2-амино-7-(CH_2R)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-оны, в которых R - замещенная 2-адамантильная группа:

- пример 106: R - 2- (1-метил)-адамантил;
- пример 107: R - 2- (1-хлор)-адамантил;
- пример 108: R - 2-(1-трифторметил)-адамантил;
- пример 109: R - 2- (1-метокси) -адамантил;
- пример 110: R - 2-(1-фтор)-адамантил;

вещества получают, следуя способам, приведенным в примерах 98-104, используя соответствующие 3-(2-адамантил)-пропионитрилы в качестве исходных веществ.

Примеры 111-116.

Получают следующие вещества настоящего изобретения: 2-амино-7-(CH_2R)-3H,5H-

пирроло [3,2-d] пиримидин-4-оны, в которых R - следующая адамантильная группа:

пример 111: R - 1-(2-метил)-адамантил;

пример 112: R - 1-(2-хлоро)-адамантил;

пример 113: R - 1-(2-трифторметил)-адамантил;

пример 114: R - 1-(2-метокси)-адамантил;

пример 115: R - 1-(2-фтор)-адамантил;

пример 116: R - 1-адамантил;

Вещества получают, следуя способам, приведенным в примерах 98-104, используя соответствующие 3-(1-адамантил)-пропионитрилы в качестве исходных веществ.

Пример 117.

Готовят фармацевтическую композицию для интраперитонального инъектирования для испытания вещества (IVA). Интраперитональный инъектируемый раствор, содержащий вещество (IVA), растворяют в водном носителе, который содержит 10 % DMSO.

Пример 118.

Вводят интраперитонально в Lewis Rats опытную композицию, содержащую вещество (IVA) примера 117 в дозе 30 мг вещества (IVA) инъекцией дважды в день. Используют контрольные группы, которые получают только наполнитель. Через определенное время после введения животных усыпляют и получают образцы плазмы. Плазму экстрагируют с помощью холодной 0.5N HClO₄ и нейтрализуют твердым NH₄HCO₃. После удаления перхлоратных солей экстракт подвергают ЖХВД на колонке с обратной фазой (Spherisorb ODSI). Наблюдают значительное увеличение плазменного инозина в плазме, взятой у животных, получающих вещество (IVA).

Примеры 119-129.

Вещества, полученные как в примерах 106-116, использованы для приготовления лекарственных средств в соответствии со способом приготовления примера 117, и полученные инъектируемые растворы испытывают в соответствии со способом примера 118. Наблюдают увеличение плазменного инозина в плазме, взятой у животных, получающих вещества настоящего изобретения.

Пример 130.

В этом примере получают 3-циклопентилпропионитрил.

3-Циклопентилпропионитрил хлорид (57.7 г, 0.36 моля) добавляют по каплям к большому избытку концентрированного гидроксида аммония (400 мл), охлажденного в бане лед/соль. Тяжелую суспензию белого твердого вещества перемешивают в течение ночи, собирают фильтрованием, промывают холодной водой и перекристаллизовывают из примерно 2 литров кипящей воды. Блестящие белые пластинки амида сушат в вакууме над P₂O₅; выход 31.6 г (62.3 %), т.пл. 122°C.

С защитой от атмосферной влаги раствор амида (23.5 г, 0.166 моля) в POCl₃ (150 мл) нагревают при 120°C в течение 1 часа. Масляную баню охлаждают до около 70°C и избыток POCl₃ отгоняют в вакууме, и охлажденный остаток наливают на лед (около 300 г). Смесь нейтрализуют путем осторожного добавления твердого Na₂CO₃ и экстрагируют с помощью нескольких порций Et₂O. Высушенный над Na₂SO₄ экстракт выпаривают, получая прозрачное бледно-желтое масло, которое перегоняют в вакууме, получая желаемый нитрил; выход 16.86 г (82 %), т.кип. 88.0-88.5°C/8.7 мм. MS (EI): m/z 122 (N-H)⁺; ИК (сар. пленка), 2245 см⁻¹ (CN); ¹H-ЯМР, δ 1.67 (q, 2, -CH₂CH₂CN), 2.36 (t, 2, -CH₂CN), комплексные мультиплеты, центрированные около 1.11, 1.63, 1.86 (циклопентильные протоны).

Пример 131.

3-Циклопентилпропионитрил предыдущего примера далее обрабатывают в синтезах настоящего изобретения. В атмосфере сухого N₂ смесь 3-циклопентилпропионитрила (14.8 г, 0.12 моля), гидрида натрия (5.8 г, 0.24 молей) и безводного тетрагидрофурана (300 мл) нагревают при 52°C на водяной бане в течение 15

минут, и раствор этилового эфира муравьиной кислоты (13.3 г, 0.18 молей) в ТГФ (100 мл) добавляют в течение 45 минут. Через 2 часа при 50-55°C добавляют вторую порцию NaN (1.9 г) и HCO₂Et (5.0 мл), за которой в течение 30 минут следует третья порция HCO₂Et (непрореагировавший нитрил инертен в следующей стадии и может быть регенерирован при первой стадии очистки). Крутую пасту перемешивают в течение ночи и дают возможность охладиться до комнатной температуры. Летучее вещество выпаривают при пониженном давлении и оставшуюся бледно-желтую корку растворяют в минимальном объеме холодной воды (около 150 мл) при 0°C. Раствор доводят до pH 6.0 добавлением 6N HCl и экстрагируют CHCl₃ (3 x 100 мл). Экстракт промывают водой, сушат над Na₂SO₄ и выпаривают в вакууме до густого янтарного масла. Этот сырой продукт (15.6 г) используют в следующей реакции без дальнейшей очистки.

Пример 132.

Гидрохлорид метилового эфира глицина (19.31 г, 0.154 моля) и безводный ацетат натрия (12.61 г, 0.154 моля) добавляют к раствору сырого формильного производного предыдущего примера (15.6 г) в MeOH/H₂O (4:1, 500 мл). Через 24 часа MeOH выпаривают в вакууме и смесь воды и масла экстрагируют с помощью CHCl₃. Слой CHCl₃ высушивают (Na₂SO₄) и выпаривают, получая янтарное масло, которое подают на колонку с силикагелем. Элюирование с помощью CHCl₃ дает два основных слоя: (1) 3-циклопентилпропионитрил (8.22 г, 66.7 ммоль или 55.6 % нитрила, использованного в качестве исходного вещества в предыдущей стадии), и (2) желаемый енамин (3.45 г, 29.1 % от теоретического выхода, с поправкой на количество нитрила, присутствующего в исходном веществе; MS (FAB): 223 (M+H)⁺).

Пример 133.

В атмосфере азота этиловый эфир хлормуравьиной кислоты (2.53 г, 23.3 ммоль) добавляют по каплям к раствору енамина предыдущего примера (3.45 г, 15.5 ммоль) и DBN (5.78 г, 46.6 ммоль) в сухом CH₂Cl₂ (50 мл) с внешним охлаждением на ледяной бане. После перемешивания при 0°C в течение 1 часа раствор выдерживают при комнатной температуре в течение ночи. После проверки хода реакции по ТСХ, вводят дополнительное количество ClCO₂Et (0.5 мл) и DBN (3.0 мл) для завершения реакции и раствор выдерживают в течение 24 часов. Летучее вещество испаряют в вакууме, вязкий остаток очищают на короткой колонке с силикагелем (главная цель которой - удаление менее мобильного DBN), получая N-защищенный пиррол (4.50 г, 98 %), который используют для следующей стадии без дальнейшей очистки.

Пример 134.

К раствору N-защищенного пиррола предыдущего примера (4.50 г, 15.3 ммоль) в MeOH (100 мл) добавляют твердый Na₂CO₃ (1.62 г, 15.3 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 48 часов с отделением полученного деблокированного пиррола. Смесь выпаривают досуха, и остаток тщательно растирают в порошок с H₂O (50 мл) для растворения неорганических веществ и экстрагируют CHCl₃ (3 x 100 мл). Экстракт сушат (Na₂SO₄) и выпаривают, получая вязкую смолу, которую кристаллизуют при высушивании в вакууме; выход 2.97 г (87.4 %) вещества, пригодного для использования в качестве промежуточного соединения без дальнейшей очистки. Более глубокая очистка может быть осуществлена колоночной хроматографией, с применением силикагеля/CHCl₃ или перекристаллизацией из смеси толуол/циклогексан (1:3).

Пример 135.

Бензоилизотиоцианат (2.62 г, 16.03 ммоль) добавляют по каплям к раствору деблокированного пиррола примера 134 (2.97 г, 13.36 ммоль) в сухом CH₂Cl₂ (100 мл). Через 1 час при комнатной температуре раствор выпаривают, и смолистый остаток растворяют в Et₂O (100 мл) с почти немедленным отделением кристаллического твердого вещества; выход 1.75 г. Фильтрат Et₂O нагревают до кипения и разбавляют с помощью равного объема горячего циклогексана. При медленном охлаждении раствор дает

дополнительные 1.58 г тиюреидопроизводного; общий выход 3.33 г (64.6 %). Небольшое количество тиюреидосоединения перекристаллизовывают из горячей смеси Et₂O/циклогексан (15 мл каждого); т.пл. 123-125°C. MS (FAB): 386 (M+H)⁺.

Анализ для C₂₀H₂₃N₃O₃S 0.45C₆H₁₂:

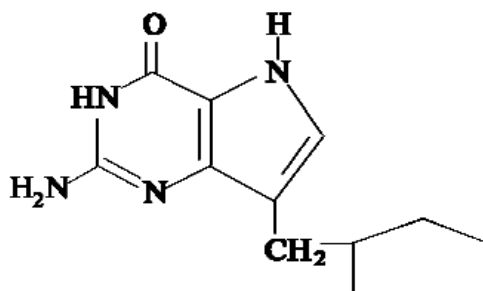
вычислено: C, 64.40; H, 6.76; N, 9.93;

найденно: C, 64.51; H, 7.10; N, 9.93.

Пример 136.

Йодистый метил (2.60 г, 18.32 ммоль) добавляют к раствору тиюреидо соединения примера 135 (3.21 г, 8.33 ммоль) и DBN (1.24 г, 9.99 ммоль) в сухом CH₂Cl₂ (80 мл) при 0°C. Раствор перемешивают при 0°C в течение 15 минут, при температуре окружающей среды в течение 1 часа, а затем испаряют в вакууме. Раствор остатка в CHCl₃ хроматографируют на колонне с силикагелем с помощью CHCl₃ в качестве растворителя для элюирования, получая гомогенные фракции метилтио соединения как промежуточного продукта; выход 2.46 г (74 %).

Пример 137.



Раствор метилтиосоединения примера 136 (2.07 г, 5.18 ммоль) в 150 мл MeOH, который был насыщен NH₃ при 0°C, нагревают при 90-95°C в течение 24 часов в футерованной стеклянными плитками бомбе из нержавеющей стали. Содержимое охлажденной бомбы выпаривают в вакууме, получая смесь вещества (TVC), бензамида и побочного продукта, который является 2-метилтиопродуктом, в отличие от 2-аминосоединения (TVC). Смесь энергично перемешивают в течение нескольких минут с приблизительно 75 мл Et₂O и нерастворимое белое вещество отфильтровывают и промывают Et₂O. Фильтрат содержал большую часть бензамида и 2-метилтиосоединения. Раствор нерастворимого в Et₂O твердого вещества (1.13 г) в MeOH выпаривают с приблизительно 10 г силикагеля. Измельченный в порошок остаток наносят равномерно на верхнюю часть колонки с силикагелем, которую затем элюируют с помощью смеси CHCl₃/MeOH/HOAc (95:5:1), получая 2-метилтиопродукт как побочный продукт (252 мг, MS (FAB): 264 (M+H)⁺) и желаемое 2-аминосоединение (IVC) (679 мг, 56.4 %). (IVC) перекристаллизовывают при экстракции в кипящем изопропилацетате в аппарате Сокслета. Белые кристаллы собирают в три порции и высушивают в вакууме над P₂O₅ при 110°C в течение 7 часов; выход 540 мг (44.9 %); т.пл. 324-326°C (разл.); MS (FAB): 233 (M+H)⁺.

Анализ для C₁₂H₁₆N₄O:

вычислено: C, 62.05; H, 6.94; N, 24.12;

найденно: C, 62.04; H, 7.11; N, 24.48.

Пример 138.

Вещество примера 137 испытывают на ферментативно-ингибирующую активность в соответствии со способом примера 9. При 1 mM фосфата IC₅₀ равно 0.029 мкМ, и при 50 mM фосфата IC₅₀ равно 1.8 мкМ.

Примеры 139-142.

Получают следующие вещества настоящего изобретения: 2-амино-7-(CH₂R)-3,4-дигидро-2H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-оны, в которых R - замещенный цикlopентил:

пример 139: R - 3-метилциклопентил;

пример 140: R - 2-хлороциклопентил;

пример 141: R - 3-трифторметилцикло-пентил;

пример 142: R - 3-метоксициклопентил;

вещества получают, следуя способам, приведенным в примерах 130-137, используя соответствующие 3-(замещенные циклопентил)-пропионитрилы в качестве исходных веществ.

Пример 143.

Готовят фармацевтическую композицию для интраперитонеального инъектирования для испытания вещества (IVC). Интраперитонеальный инъектируемый раствор, содержащий вещество (IVC), растворяют в водном носителе, который содержит 10 % DMSO.

Пример 144.

Используя способ примера 112, вводят интраперитонеально в Lewis Rats опытную композицию, содержащую вещество (IVC) примера 143 и результаты сравнивают с контрольными. Наблюдают значительное увеличение плазменного инозина в плазме, взятой у животных, получающих вещество (IVC).

Пример 145.

В этом примере получают 3-циклогексилпропионитрил. Раствор циклогексанпропионовой кислоты (50 г, 0.32 молей) и хлористого тионила (152 г, 1.28 молей) в 100 мл бензола выдерживают в течение ночи и затем выпаривают до маслообразного остатка. Остаток добавляют порциями к 28 %-ному водному раствору аммиака (270 мл) при 25°C и смесь перемешивают в течение примерно 2 часов. Полученный продукт собирают фильтрованием, промывают холодной водой и перекристаллизовывают из около 2 литров кипящей воды. Блестящие белые пластинки амида высушивают в вакууме над P_2O_5 ; выход 45.5 г.

С защитой от атмосферной влаги раствор амида (45.5 г, 0.293 моля) в $SOCl_2$ (200.3 г, 1.68 моля) кипятят с обратным холодильником в течение примерно 6 часов. Масляную баню охлаждают до около 70°C и избыток $SOCl_2$ отгоняют под вакуумом, и охлажденный остаток выливают на лед (около 300 г). Смесь нейтрализуют путем осторожного добавления твердого Na_2CO_3 и экстрагируют с помощью нескольких порций Et_2O . Высушенный (Na_2SO_4) экстракт выпаривают, получая прозрачное, бледно-желтое масло, которое перегоняют в вакууме, получая желаемый нитрил, выход 42.0 г.

Пример 146.

3-Циклогексилпропионитрил примера 145 далее используют в синтезе для получения соединений настоящего изобретения. В атмосфере сухого N_2 смесь 3-циклогексилпропионитрила (22.3 г, 0.16 моля), гидрида натрия (5.38 г, 0.224 моля) и безводного тетрагидрофурана (120 мл) нагревают при 52°C на водяной бане в течение 15 минут, и добавляют раствор этилового эфира муравьиной кислоты (55.4 г, 0.75 моля) в THF (50 мл) в течение 45 минут. Через 2 часа при 50-55°C добавляют вторую порцию NaN (2.0 г) и HCO_2Et (5.0 мл) (непрореагировавший нитрил инертен в следующей стадии и может быть регенерирован при первой стадии очистки), и реакционную смесь перемешивают в течение примерно 3 дней при 55°C и затем дают охладиться до комнатной температуры. Летучее вещество выпаривают при пониженном давлении и оставшуюся бледно-желтую корку растворяют в минимальном количестве холодной воды (около 75 мл) при 0°C. Раствор доводят до pH 6.0 добавлением 6N HCl и экстрагируют $CHCl_3$ (3 x 100 мл). Экстракт промывают водой, сушат над Na_2SO_4 и выпаривают в вакууме до густого янтарного масла. Этот сырой продукт используют в следующей реакции без дальнейшей очистки.

Пример 147.

Гидрохлорид метилового эфира глицина (30.60 г, 0.24 моля) и безводный ацетат натрия (19.99 г, 0.24 моля) добавляют к раствору сырого формильного производного предыдущего примера (25.22 г) в смеси $MeOH/H_2O$ (4:1, 500 мл). Спустя 24 часа $MeOH$ испаряют в вакууме и смесь воды и масла экстрагируют $CHCl_3$. Слой $CHCl_3$ высушивают

(Na_2SO_4) и выпаривают, получая янтарное масло, которое подают на колонку с силикагелем. Элюирование CHCl_3 дает два основных слоя: (1) 3-циклогексилпропионитрил (использованный в качестве исходного вещества в предыдущей стадии) и (2) желаемый енамин; выход 16г.

Пример 148.

В атмосфере азота этиловый эфир хлормуравьиной кислоты (1.38 г, 12.7 ммоль) добавляют по каплям к раствору енамина примера 147 (2.0 г, 8.46 ммоль) и DBN (2.1 г, 16.9 ммоль) в сухом CH_2Cl_2 (50 мл) с внешним охлаждением в ледяной бане. После перемешивания при 0°C в течение 1 часа раствор выдерживают при комнатной температуре в течение ночи. После проверки хода реакции по ТСХ вводят дополнительное количество ClCO_2Et (0.5 мл) и DBN (1.5 мл) для завершения реакции, и раствору дают постоять в течение 24 часов. Летучее вещество выпаривают в вакууме, вязкий остаток очищают на короткой колонне с силикагелем (цель которой - удаление менее мобильного DBN), получая N-защищенный пиррол, который используют для следующей стадии без дальнейшей очистки.

Пример 149.

К раствору N-защищенного пиррола примера 148 (2.6 г, 8.43 ммоль) в MeOH (100 мл) добавляют твердый Na_2CO_3 (2.23 г, 21.07 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 48 часов с отделением полученного деблокированного пиррола. Смесь выпаривают досуха, и остаток тщательно растирают в порошок с водой (50 мл) для растворения неорганических веществ и экстрагируют с помощью CHCl_3 (3 x 100 мл). Экстракт сушат (Na_2SO_4) и испаряют, получая вязкую смолу, которую очищают на колонне с силикагелем, используя CHCl_3 в качестве растворителя для элюирования; выход 1.67 г (84 %), т.пл. $73-74^\circ\text{C}$.

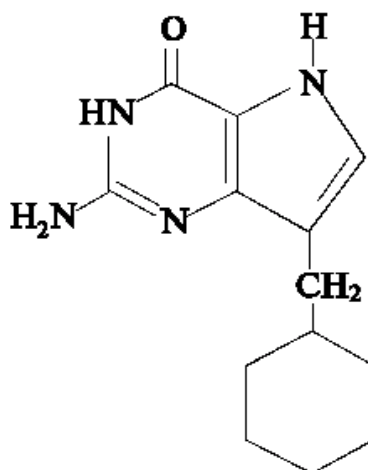
Пример 150.

Бензоилизотиоцианат (0.74 г, 4.02 ммоль) добавляют по каплям к раствору деблокированного пиррола примера 149 (0.95 г) в сухом CH_2Cl_2 (20 мл). Спустя 1 час при комнатной температуре раствор выпаривают и смолистый остаток растворяют в Et_2O (100 мл) с почти немедленным отделением кристаллического твердого вещества. Маточник Et_2O нагревают до кипения и разбавляют равным объемом горячего циклогексана. При медленном охлаждении раствор дает дополнительно тиюреидопроизводное; выход 1.41 г (88 %), т.пл. $156-157^\circ\text{C}$.

Пример 151.

Йодистый метил (1.1 г, 7.6 ммоль) добавляют к раствору тиюреидопроизводного примера 150 (0.96 г, 2.61 ммоль) и 1,5-диазабицикло [4.3.0] нон-5-ена (0.38 г, 3.0 ммоль) в сухом CH_2Cl_2 (20 мл) при 0°C . Раствор перемешивают при 0°C в течение 15 минут, при температуре окружающей среды в течение 1 часа и затем выпаривают в вакууме. Раствор остатка в CHCl_3 хроматографируют на колонке с силикагелем с CHCl_3 в качестве растворителя для элюирования, получая гомогенные фракции метилтиосоединения как промежуточного вещества; выход 0.92 г.

Пример 152.



Раствор метилтиосоединения примера 151 (0.8 г, 1.93 ммоль) в 50 мл MeOH, который был насыщен NH_3 при 0°C , нагревают при $90-95^\circ\text{C}$ в течение 24 часов в футерованной стеклянными плитками бомбе из нержавеющей стали. Содержимое охлажденной бомбы выпаривают в вакууме, получая смесь вещества (IVD), бензамида и побочного продукта, который является 2-метилтио-производным, в отличие от 2-аминосоединения (IVD). Смесь энергично перемешивают в течение нескольких минут с приблизительно 75 мл Et_2O , и нерастворимое твердое белое вещество отфильтровывают и промывают с помощью Et_2O . Фильтрат содержал большую часть бензамида и 2-метилтиосоединения. Раствор нерастворимого в Et_2O твердого вещества (0.390 г) в MeOH выпаривают с приблизительно 10 г силикагеля. Измельченный в порошок остаток наносят равномерно на верхнюю часть колонки с силикагелем, которую затем элюируют смесью $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{HOAc}$ (95:5:1), получая 2-метилтиопроизводное как побочный продукт и желаемое 2-аминосоединение (IVD). (IVD) перекристаллизовывают при экстракции в кипящем изопропилацетате в аппарате Сокслета. Белые кристаллы собирают в три порции и высушивают в вакууме над P_2O_5 при 110°C в течение 7 часов; выход 49 %, т.пл. $> 300^\circ\text{C}$.

Анализ для $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}$:

вычислено: C, 63.39; H, 7.36; N, 22.74;

найдено: C, 63.50; H, 7.74; N, 22.67.

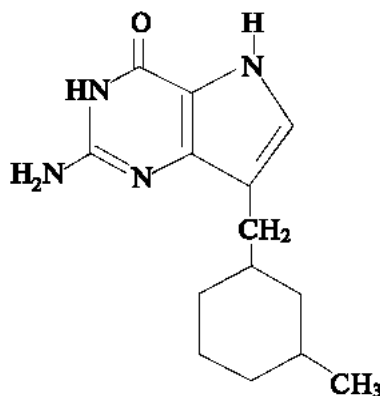
Пример 153.

Вещество примера 152 испытывают на ферментативную ингибирующую активность, как в примере 105. При 1 mM фосфата IC_{50} равно 0.037 мкМ, и при 50 mM фосфата IC_{50} равно 2.2 мкМ.

Пример 154.

Вещество примера 152 испытывают для определения его эффективности по ингибированию токсичности 2'-дезоксигуанозина (d-GuO) [см. D.A.Schewach et al, *Cancer es.* 46. 519 (1986) и J.C.Sirear et al, *Agents and tions.* 21, 253 (1987)]. Для этого выращивают CCRF-CEM клетки в RPMI-1640 среде. К суспендированным культурам этих клеток добавляют d-GuO при стационарной концентрации (5.62 мкМ) и вещество при переменной концентрации, и определяют число клеток в Coulter счетчике через 24, 48 и 72 часа после этого. Из этих данных рассчитывают IC_{50} , равную 2.0 мкМ, как концентрацию вещества, требуемую для снижения роста числа клеток между 0 и 72 часами на 50 % от клеток контрольных культур.

Пример 155.

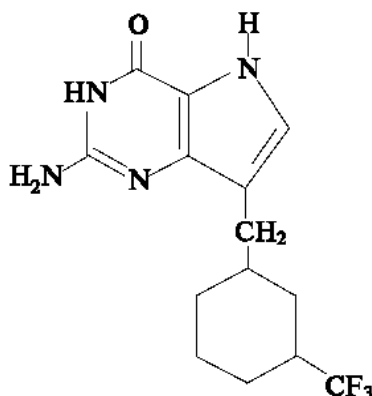


Получают 2-амино-7-(3-метилциклогексилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он. Сначала, используя способы, приведенные в примерах 146-152 выше, но с 3-(3-метилбензил)-пропионитрилом в качестве исходного вещества, получают арильное производное 2-амино-7-(3-метилбензил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-он. Раствор арильного производного (0.2 г, 0.78 ммоль) в трифторуксусной кислоте (TFA) (20 мл) гидрируют с помощью PtO₂ при давлении 60 фунтов/дюйм в течение 24 часов. Катализатор отфильтровывают через цеолитный слой и фильтрат выпаривают. Остаток растирают в порошок с помощью метанола и оставляют в холодильнике на ночь. Полученная кристаллическая трифторацетатная соль осаждается из раствора и собирается фильтрованием. TFA-соль суспендируют в 8 мл воды, доводя до pH 8 конц. NH₄OH и измельчают ультразвуком. Чистый продукт собирают, промывают водой и сушат; выход 165 мг (81 %), т.пл. 282°C. Анализ для C₁₄H₂₀N₄O:

вычислено: C, 64.60; H, 7.74; N, 21.52;

найденно: C 64.24; H, 7.96; N, 21.51 %.

Пример 156.



Способ, описанный в примере 155, повторяют для получения 2-амино-7-(3-трифторметилциклогексилметил)-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-4-она, используя 3-(3-трифторметилбензил)-пропионитрил в качестве исходного вещества; выход 69 %, т.пл. 165°C.

Анализ для C₁₄H₁₇N₄OF₃ • 0.6H₂O:

вычислено: C, 51.72; H, 5.64; N, 17.23;

найденно: C, 51.82; H, 5.71; N, 16.81%.

Пример 157.

Вещество, полученное в примере 155, испытывают на ферментативно-ингибирующую активность, как в примере 105. При 1 mM фосфата IC₅₀ равно 0.025 мкМ, и при 50 mM фосфата IC₅₀ равно 0.820 мкМ.

Пример 158.

Вещество, полученное в примере 156, испытывают на ферментативно-ингибирующую активность, как в примере 105. При 1 mM фосфата IC₅₀ равно 0.020 мкМ, и при 50 mM фосфата IC₅₀ равно 0.740 мкМ.

Пример 159.

В этом примере 3-циклогептилпропионитрил получают в соответствии со способом примера 97, используя раствор 2-бромциклогептана (25.57 г, 144.38 ммоль), Bu_3SnH (50.42 г, 173.26 ммоль), акрилонитрила (15.32 г, 288.77 ммоль) и AIBN (1.13 г) в толуоле (300 мл). Выход составляет 16 г в виде масла.

Пример 160.

3-Циклогептилпропионитрил примера 159 далее используют в синтезе для получения соединений настоящего изобретения. В атмосфере сухого N_2 смесь 3-циклогептилпропионитрила (8.5 г, 56.19 ммоль), гидрида натрия (2.6 г, 112.39 ммоль) в водяной бане в течение 15 минут, и раствор этилового эфира муравьиной кислоты (20.81 г, 280.99 ммоль) в THF (100 мл) добавляют в течение 45 минут. Спустя 2 часа при 50-55°C добавляют вторую порцию NaH (1.35 г) и HCO_2Et (10.4 г), за которой через 30 минут следует третья порция HCO_2Et (непрореагировавший нитрил инертен в следующей стадии и может быть регенерирован на первой стадии очистки). Густую пасту перемешивают в течение ночи и дают охладиться до комнатной температуры. Летучее вещество выпаривают при пониженном давлении и оставшуюся бледно-желтую корку растворяют в минимальном объеме холодной воды (около 150 мл) при 0°C. Раствор доводят до pH 6.0 добавлением 6N HCl и экстрагируют с помощью CHCl_3 (3 x 100 мл). Экстракт промывают водой, высушивают над Na_2SO_4 и выпаривают в вакууме до густого янтарного масла. Этот сырой продукт используют в следующей реакции без дальнейшей очистки.

Пример 161.

Гидрохлорид метилового эфира глицина (9.35 г, 74.47 ммоль) и безводный ацетат натрия (6.10 г, 74.47 ммоль) добавляют к сырому формильному производному примера 160 (8.9 г, 49.65 ммоль) в смеси MeOH/ H_2O (4:1, 250 мл). Спустя 24 часа MeOH выпаривают в вакууме и смесь воды и масла экстрагируют с помощью CHCl_3 . Слой CHCl_3 сушат (Na_2SO_4) и выпаривают, получая янтарное масло, которое подают на колонку с силикагелем. Элюирование CHCl_3 дает два основных слоя: (1) 3-циклогептилпропионитрил (использованный в качестве исходного вещества в предыдущей стадии) и (2) желаемый енамин, который перекристаллизовывают из смеси $\text{CHCl}_3/\text{Et}_2\text{O}$; выход 6.18 г, т.пл. 57-58°C.

Пример 162.

В атмосфере азота этиловый эфир хлормуравьиной кислоты (4.01 г, 37.03 ммоль) добавляют по каплям к раствору енамина примера 161 (6.18 г, 24.69 ммоль) и DBN (9.19 г, 74.04 ммоль) в сухом CH_2Cl_2 (100 мл) с внешним охлаждением на ледяной бане. После перемешивания при 0°C в течение 1 часа раствору дают постоять при комнатной температуре в течение ночи. После проверки хода реакции по ТСХ добавляют дополнительное количество ClCO_2Et (0.5 мл) и DBN (3.0 мл) для завершения реакции, и раствору дают постоять в течение 24 часов. Летучее вещество выпаривают в вакууме, вязкий остаток очищают на короткой колонке с силикагелем (главная цель которой - удаление менее мобильного DBN), получая N-защищенный пиррол, который используют для следующей стадии без дальнейшей очистки.

Пример 163.

К раствору N-защищенного пиррола примера 162 (7.8 г, 24.19 ммоль) в MeOH (100 мл) добавляют твердый N_2CO_3 (6.41 г, 60.48 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 48 часов с отделением полученного деблокированного пиррола. Смесь выпаривают досуха, и остаток тщательно растирают в порошок с водой (50 мл) для растворения неорганических веществ и экстрагируют с помощью CHCl_3 (3 x 100 мл). Экстракт сушат (Na_2SO_4) и выпаривают до получения вязкой смолы, которую очищают колоночной хроматографией, используя силикагель/ CHCl_3 ; выход 4 г, т.пл. 88-89°C.

Пример 164.

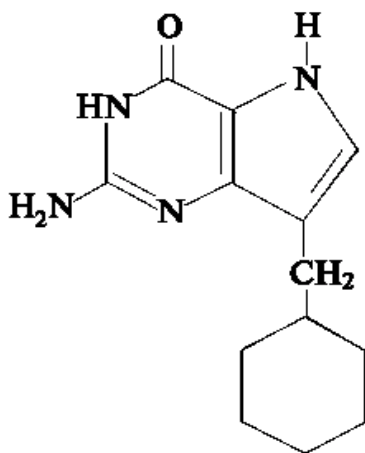
Бензоилизотиоцианат (1.5 г, 8.96 ммоль) добавляют по каплям к раствору

деблокированного пиррола примера 163 (1.99 г, 7.95 ммоль) в сухом CH_2Cl_2 (50 мл). Спустя 1 час при комнатной температуре раствор выпаривают и смолообразный остаток растворяют в Et_2O (100 мл) с почти немедленным отделением кристаллического твердого вещества. Маточник Et_2O нагревают до кипения и разбавляют равным объемом горячего циклогексана. При медленном охлаждении раствор дает дополнительное тиюреидосоединение; выход 2.89 г (88 %), т.пл. 158-159°C.

Пример 165.

Йодистый метил (1.7 г, 11.96 ммоль) добавляют к раствору тиюреидосоединения примера 164 (1.7 г, 4.1 ммоль) и DBN (0.56 г, 4.52 ммоль) в сухом CH_2Cl_2 (80 мл) при 0°C. Раствор перемешивают при 0° С в течение 15 минут, при температуре окружающей среды в течение 1 часа, и затем выпаривают в вакууме. Раствор остатка в CHCl_3 хроматографируют на колонне с силикагелем с CHCl_3 в качестве растворителя для элюирования, получая гомогенные фракции метилтиосоединения как промежуточного вещества.

Пример 166.



Раствор метилтиосоединения примера 165 (1.72 г, 4.02 ммоль) в 50 мл MeOH , который был насыщен NH_3 при 0°C, нагревают при 90-95°C в течение 24 часов в футерованной стеклянными плитками бомбе из нержавеющей стали. Содержимое охлажденной бомбы выпаривают в вакууме, получая смесь вещества (IVE), бензамида и побочного продукта, который является 2-метилтиопроизводным, в отличие от 2-аминосоединения (IVE). Смесь энергично перемешивают с приблизительно 75 мл Et_2O и нерастворимое белое твердое вещество отфильтровывают и промывают Et_2O . Фильтрат содержал большую часть бензамида и 2-метилтиосоединения. Раствор нерастворимого в Et_2O твердого вещества (0.850 г) в MeOH выпаривают с приблизительно 10 г силикагеля. Измельченный в порошок остаток наносят равномерно на верхнюю часть колонны с силикагелем, которую затем элюируют с помощью смеси $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{HOAc}$ (95:5:1), получая 2-метилтиопроизводное как побочный продукт и желаемое 2-аминосоединение (IVE). (IVE) продукт перекристаллизовывают при экстракции в кипящем изопропилацетате в аппарате Сокслета. Белые кристаллы собирают в три порции и высушивают в вакууме над P_2O_5 при 110°C в течение 7 часов; выход 54 %, т.пл. > 300°C (разл.).

Анализ для $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}$:

вычислено: C, 64.60; H, 7.74; N, 21.52;

найдено: C, 64.78; H, 8.01; N, 21.61.

Пример 167.

Вещество примера 166 испытывают на ферментативную ингибирующую активность, как в примере 105. При 1 mM фосфата IC_{50} равно 0.030 мкМ, и при 50 mM фосфата IC_{50} равно 0.840 мкМ.

Используя способ примера 97, из 1-бромнорборнана получают 3-(1-норборнанил)-пропионитрил, и из 2-бромнорборнана получают 3-(2-норборнанил)-пропионитрил (смесь

2-экз и 2-эндо). Следуя примерам 98-104, пропионитрилы превращают в вещества (IVF), (IVG) и (IVH).

Пример 169.

Используя способ примера 97, 3-(1-бицикло[3.2.1] октанил)-пропионитрил, 3-(2-бицикло [3.2.1] октанил)-пропионитрил, 3-(3-бицикло [3.2.1] октанил)-пропионитрил и 3-(8-бицикло [3.2.1] октанил)-пропионитрил получают соответственно из 1-бромбицикло [3.2.1] октана, 2-бромбицикло [3.2.1] октана, 3-бромбицикло [3.2.1] октана и 8-бромбицикло [3.2.1] октана. Следуя примерам 98-104, пропионитрилы превращают в вещество (IVI) и родственные 2-бицикло [3.2.1] октанил; 3-бицикло [3.2.1] октанил- и 8-бицикло [3.2.1] октанилпроизводные.

Пример 170.

Используя методику способа, описанного в D. Farcasiu, Synthesis, 615 (1972), 6-бицикло [3.2.1] октанкарбоксальдегид получают реакцией бицикло[3.2.1]октан-6-она с триметилсульфоксоний иодидом, с образованием промежуточного эпоксида, который затем превращают в альдегид обработкой эфиром трифторида бора. Следуя способу Netherlands Pat., 6, 610, 204, альдегид конденсируют с циануксусной кислотой при кипячении с обратным холодильником в растворе пиридин/толуол с каталитическим количеством ацетата аммония в течение 48-72 часов, получая соответствующий акрилонитрил. Акрилонитрил затем гидрируют, используя палладий-на-угле как катализатор, в метаноле, как описано Profitt et al, в *J. Org. Chem.* 40, 127, (1975), для получения 3-(6-бицикло [3.2.1] октанил)-пропионитрила. Следуя примерам 98-104, пропионитрил превращают в 6-бицикло [3.2.1] октанильное производное, аналогичное веществу (IVL).

Пример 171.

Используя способ примера 97, 3-(1-бицикло [3.3.1] нонанил)-пропионитрил и 3-(3-бицикло [3.3.1] нонанил)-пропионитрил соответственно получают из 1-бромбицикло [3.3.1] нонана и 3-бромбицикло [3.3.1] нонана. Следуя примерам 98-104, пропионитрилы превращают в вещество (IVM) и родственное 3-бицикло [3.3.1] нонанилпроизводное.

Пример 172.

Следуя способу примера 171, бицикло [3.3.1] нонан-9-он реагирует с образованием соответствующего альдегида, из которого получают соответствующий 3-замещенный пропионитрил, который затем превращают в 9-бицикло-[3.3.1] нонанильное производное, аналогичное веществу (IVM).

Пример 173.

Следуя способу примера 170, 2-бицикло [3.3.1] нонанкарбоксальдегид реагирует с образованием соответствующего 3-замещенного пропионитрила, который затем превращают в 2-бицикло [3.3.1] нонанильное производное, аналогичное веществу (IVM).

Пример 174.

Используя способ примера 97, 3-(1-норадамантил)-пропионитрил получают из 1-бромнорадамантана, и 3-(2-норадамантил)-пропионитрил получают из 2-бромнорадамантана. Следуя примерам 98-104, пропионитрил превращают в конечное вещество (IVN).

Пример 175.

Следуя способу примера 170, 3-норадамантанкарбоксальдегид реагирует с образованием соответствующего 3-замещенного пропионитрила, который затем превращают в 3-норадамантильное производное, аналогичное веществу (IVN).

Пример 176.

Следуя способу примера 170, норадамантан-7-он реагирует с образованием соответствующего альдегида, из которого получают соответствующий 3-замещенный пропионитрил, который затем превращают в 7-норадамантильное производное, аналогичное веществу (IVN).

Пример 177.

Используя способ примера 97, 3-(1-бицикло [2.2.2] октанил)-пропионитрил получают из 1-бромбицикло [2.2.2] октана и 3-(2-бицикло [2.2.2] октанил)-пропионитрил получают из 2-бромбицикло [2.2.2] октана. Следуя примерам 98-104, пропионитрилы превращают в вещество (IVK) и аналогичное 2-бицикло [2.2.2] октанильное проиводное.

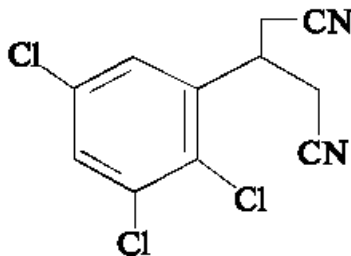
Пример 178.

Используя способ примера 97, 3-(1-норборненил)пропионитрил получают из 1-бромнорборнена. Следуя примерам 98-104, пропионитрил превращают в вещество (IVI).

Пример 179.

Следуя способу примера 170, 5-норборнен-2-карбоксальдегид (смесь 2-эндо и 2-экзо) реагирует с образованием соответствующего 3-замещенного пропионитрила, который затем превращают в вещество (IVJ).

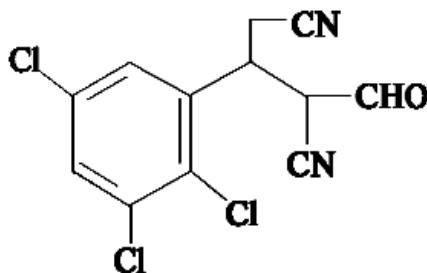
Пример 180.



Приведенное выше промежуточное соединение получают в этом примере по методике способа Schiemenz G.P., Engelhard H. (*Chem. Ber.*, 1962, 95., 195).

Смесь циануксусной кислоты (25.38 г, 298.38 ммоль), 2,3,5-трихлорбензальдегида (25.0 г, 119.35 ммоль), ацетата аммония (500 мг), толуола (120 мл) и пиридина (65 мл) нагревают при температуре кипения с обратным холодильником в течение 16 часов в колбе, снабженной ловушкой Дина-Старка и холодильником. Растворители выпаривают в вакууме, остаток экстрагируют с помощью CHCl_3 , который промывают водой, высушивают (Na_2SO_4), и выпаривают, получая сырой продукт, который очищают колоночной хроматографией с силикагелем, используя смесь гексан- EtOAc в качестве растворителя для элюирования. Выход 23.69 г (73 %), т.пл. 90-91°C.

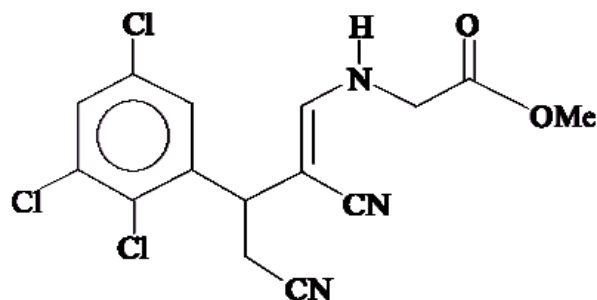
Пример 181.



В этом примере получают вышеупомянутое промежуточное соединение. К перемешиваемой смеси NaNH (1.56 г, 65.05 ммоль) и этилового эфира муравьиной кислоты (14.78 г, 199.51 ммоль) в THF (100 мл) добавляют замещенный пентандинитрил примера 180 (10.17 г, 37.17 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере азота, и полученную реакционную смесь перемешивают в течение 24 часов. Летучее вещество выпаривают в вакууме при комнатной температуре.

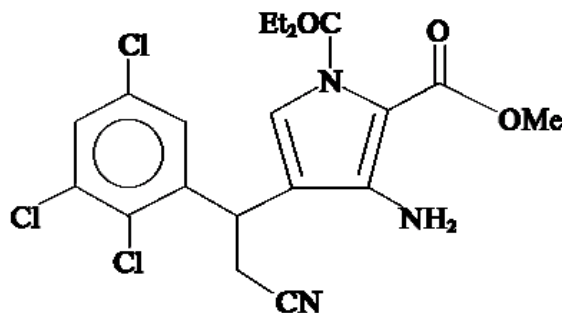
Воду (50 мл) добавляют к остатку при 0-5°C и раствор доводят до pH 5-6 20 %-ной конц. HCl (o/o). Тяжелое масло экстрагируют этилацетатом, промывают водой (1 x 100 мл) и высушивают (MgSO_4). Слой этилацетата выпаривают, получая красно-коричневое масло (11.0 г), которое используют в следующей стадии без дальнейшей очистки.

Пример 182.



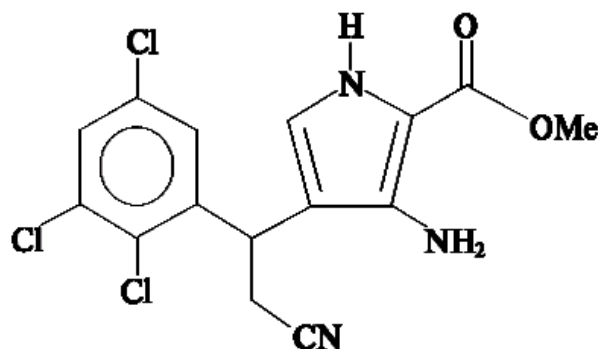
В этом примере получают вышеприведенное промежуточное вещество. Гидрохлорид метилового эфира глицина (8.17 г, 65.06 ммоль) и ацетат натрия (5.33 г, 65.06 ммоль) добавляют к раствору сырого формильного соединения примера 181 (11.0 г) в смеси MeOH (80 мл) и воды (20 мл), и полученный раствор перемешивают при комнатной температуре в течение 22 часов. После испарения растворителя при комнатной температуре остаток экстрагируют этилацетатом. Промытый (H₂O) и высушенный (MgSO₄) органический слой выпаривают, получая масло. Испарительная колоночная хроматография (силикагель), использующая CHCl₃ в качестве растворителя для элюирования, дает чистый желаемый енамин в виде смеси цис-транс изомеров, которые перекристаллизовывают из MeOH; выход 10.41 г (75 %), т.пл. 142-143°C.

Пример 183.



В этом примере получают вышеприведенное промежуточное вещество. Раствор енамина примера 182 (10.0 г, 26.84 ммоль) в сухом CH₂Cl₂ (100 мл) охлаждают до 0°C и обрабатывают 1,5-диазабицикло [4.3.0] нон-5-еном (10.53 г, 84.79 ммоль) в атмосфере азота, за которым следует этиловый эфир хлор-муравьиной кислоты (6.90 г, 63.57 ммоль). Раствор перемешивают при 0°C в течение 1 часа и затем при комнатной температуре в течение 48 часов. Летучие вещества испаряют в вакууме, получая вязкую темную смолу, которую очищают испарительной колоночной хроматографией над силикагелем, используя CHCl₃ в качестве растворителя для элюирования. Все фракции, содержащие желаемый N-защищенный пиррол, объединяют и выпаривают, получая пенистое, легкое, бледно-желтое вещество, которое перемешивают в MeOH (100 мл), получая кристаллическое вещество, которое перекристаллизовывают из CHCl₃-MeOH; выход 8.92 г (74.7 %), т.пл. 160-161°C.

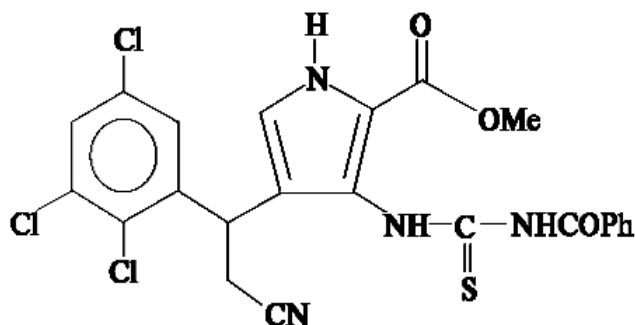
Пример 184.



В этом примере получают вышеприведенное промежуточное вещество. Суспензию N-защищенного пиррола примера 183 (8.6 г, 19.34 ммоль) в MeOH (300 мл) обрабатывают

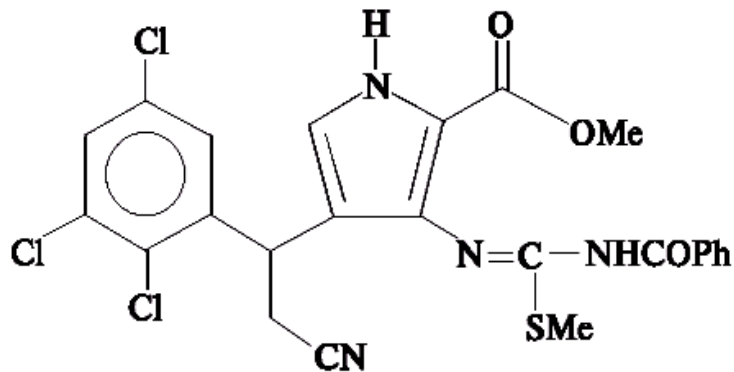
Na_2CO_3 (5.12 г, 48.34 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 17 часов с отделением деблокированного пиррола в течение первого часа. Твердый карбонат натрия удаляют фильтрованием и хорошо промывают MeOH . Фильтрат уменьшают до объема 25 мл и выдерживают в холодильнике в течение 1 часа, получая 5.23 г кристаллического продукта. Дальнейшая концентрация маточного раствора дает дополнительные 0.14 г чистого продукта; общий выход 6.45 г (89.5 %), т.пл. 178-181°C.

Пример 185.



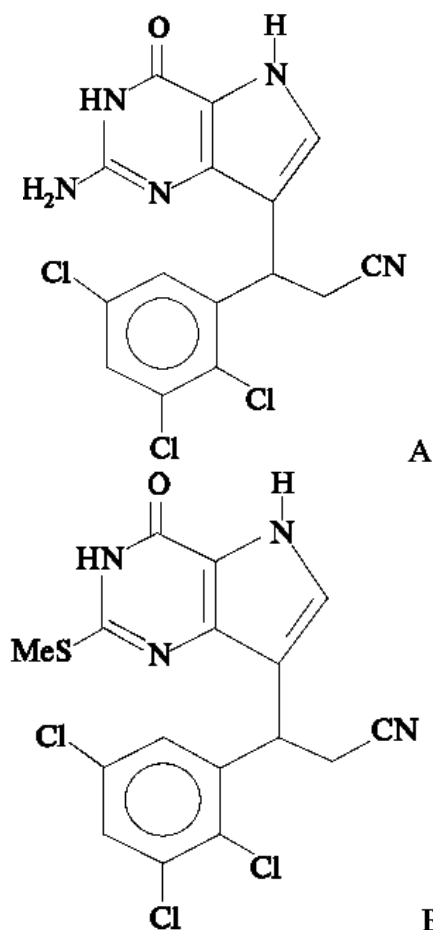
В этом примере получают вышеприведенное промежуточное вещество. К суспензии пиррола примера 184 (5.83 г, 15.64 ммоль) в дихлорметане (100 мл) добавляют бензоилизотиоцианат (2.88 г, 17.64 ммоль) при комнатной температуре под азотом. Реакционную смесь перемешивают в течение 30 минут с отделением желаемого тиоуреидосоединения. Добавляют дополнительное количество бензоилизотиоцианата (0.5 мл) и снова перемешивают в течение 30 минут. Растворитель выпаривают досуха, и легкий желтый остаток растирают в порошок с метанолом. Белое кристаллическое вещество выделяют фильтрованием и перекристаллизовывают из смеси хлороформ-эфир, получая требуемое тиоуреидопроизводное в виде аналитически чистого образца; выход 7.71 г (92 %), т.пл. 210-211°C.

Пример 186.



В этом примере получают вышеприведенное промежуточное вещество. Раствор тиоуреидопроизводного примера 185 (6.75 г, 12.6 ммоль) и 1,5-диазабицикло [4.3.0] нон-5-ена (1.76 г, 14.20 ммоль) в сухом CH_2Cl_2 (200 мл) охлаждают до 0°C и обрабатывают йодистым метилом (5.20 г, 36.65 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 0°C в течение 10 минут и затем в течение 1 часа при комнатной температуре. Растворитель выпаривают при комнатной температуре, и остаток экстрагируют CHCl_3 , промывают водой (2 x 50 мл), сушат (Na_2SO_4) и выпаривают, получая стекловидную пену (6.95 г), которую используют в следующей стадии без очистки.

Пример 187.



В этом примере получают вышеприведенные вещества А и В. Вещество А - это вещество настоящего изобретения, и вещество В - это промежуточное соединение. Раствор метилтиопроизводного промежуточного вещества примера 186 (6.90 г, 12.54 ммоль) в MeOH (200 мл) насыщают при 0°C аммиаком и нагревают при 100°C в течение 20 часов в футерованной стеклянными плитками бомбе из нержавеющей стали. Реакционную смесь доводят до комнатной температуры, и растворитель выпаривают при комнатной температуре. Очистка сырой смеси испарительной колоночной хроматографией над силикагелем, используя CHCl₃ в качестве растворителя для элюирования, дает 8В (1.1 г, 21 %), т.пл. 290-291°C, затем CHCl₃-MeOH (95:5) дает чистый 8А (2.76 г, 57.5 %), т.пл. 284-285°C.

MS (EI) 381 (M⁺), 346 (381-Cl)⁺, 341 (381-CH₂CN)⁺; ИК (KBr) 3323, 3180, 3162, 2255, 1685, 1630, 1604, 1558, 1525, 1414, 1393; ¹H-ЯМР (DMSO-d₆) δ 3.27-3.50 (m, 2H, CH₂CN), 4.86 (t, 1H, CH-CH₂CN), 5.90 (s, 2H, NH₂ 7.15 (d, J=2 Hz, 1H, пиррол.кольцо CH), 7.57 (d, J=1.5 Hz, ароматич. CH), 7.79 (d, J=1.7 Hz, 1H, ароматич. CH), 10.50 (s, 1H, NH-CO), 11.58 (s, 1H, пиррол, кольцо NH).

Анализ: вычислено для C₁₅H₁₀Cl₃N₅O:

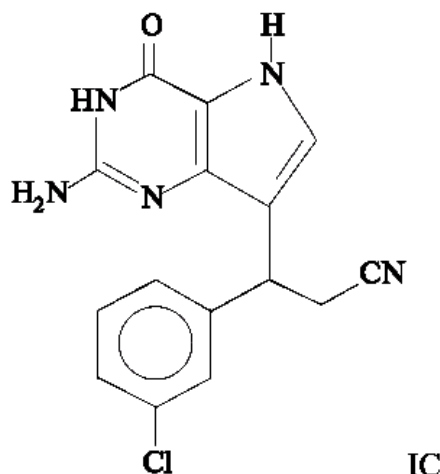
C, 47.08; H, 2.63; N, 18.30;

найдено: C, 46.92; H, 2.94; N, 17.05.

Пример 188.

Вещество настоящего изобретения примера 187 испытывают на ферментативную ингибирующую активность. Проводят ферментативный анализ пуриннуклеозидфосфорилазы (PNP), в котором определяют PNP активность (IC₅₀) для вещества (8А) посредством радиохимического измерения образования [¹⁴C]-гипоксантина из [¹⁴C]-инозина (см. Biomedicine, 1980, 33, 39), используя селезенку теленка в качестве источника энзима. При 1 mM фосфата IC₅₀ составляет 0.64 мкМ, и при 50 mM фосфата IC₅₀ составляет 10 мкМ.

Пример 189.



Следуя способу, приведенному в примерах 180-187, 3-(3-хлорфенил)-3-(2-амино-4-оксо - 3H,5H- пирроло [3,2-*d*] пиримидин -7-ил) пропаннитрил получают, используя 3-(3-хлорфенил)-пентандинитрил в качестве исходного вещества; выход 54.5 %, т.пл. 157-158°C.

MS(FAB), m/z 314 ($M+H$)⁺, 273 (313-CH₂CN)⁺; ИК (KBr) 3313, 3166, 3148, 2920, 2240, 1682, 1625, 1596, 1573, 1525; ¹H-ЯМР (DMSO-*d*) δ 3.24-3.48 (m, 2H, CH₂CN), 4.41 (t, 1H, CH-CH₂CN), 5.88 (s, 2H, NH₂), 7.13 (d, *J*=3.5 Hz, 1H, пиррольное кольцо CH), 7.20-7.50 (m, 4H, ароматич. CH), 10.44 (s, 1H, NHCO), 11.45 (d, 1H, пиррол.кольцо NH).

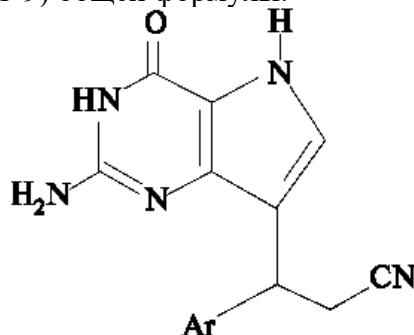
Анализ: вычислено для C₁₅H₁₂ClN₅O • 0.2MeOH:

C, 57.02; H, 4.03; N, 21.87;

найдено: C, 57.03; H, 3.95; N, 21.88.

Пример 190.

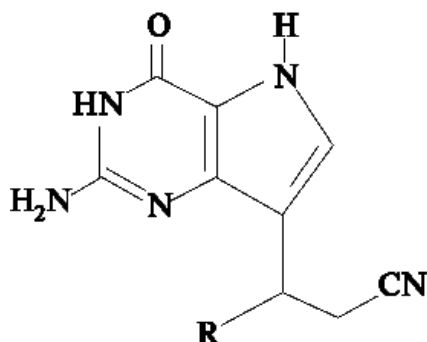
Следуя способу, приведенному в примерах 180-187, могут быть получены следующие группы веществ (1-9) общей формулы.



3-Арил-3-(2-амино-4-оксо-3H, 5H-пирроло [3,2-*d*]-пиримидин-7-ил) пропаннитрил. Где Ar имеет одно из следующих значений: (1) фенил, 2,3-дихлорфенил, 3-метилфенил и 3-метоксифенил; (2) тиенил (2- и 3-); (3) фуранил (2- и 3-); (4) пиридинил (2-, 3- и 4-); (5) пирролил (2- и 3-); (6) тиазолил (2-, 4- и 5-); (7) 2-пиразинил; (8) пиридазинил (3- и 4-); и (9) пиразолил.

Пример 191.

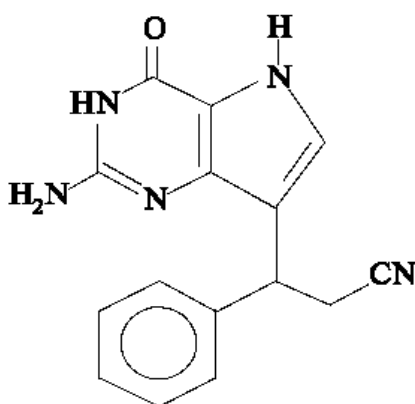
Следуя способу, приведенному в примерах 180-187, могут быть получены следующие вещества 10-14 и 21, исходя из соответственно замещенного пентандинитрила. Вещества 15-20 и 22 получают из соответствующих ненасыщенных Ar аналогов в примере 190. В этом способе нитрильная группа в ненасыщенном аналоге превращается в амидную группу гидролизом катализируемым кислотой или основанием, затем ненасыщенную Ar группу переводят в насыщенную R₂ группу с помощью каталитического гидрирования, за которым следует вновь превращение амида в нитрил с помощью известных способов дегидратации.



3-(Замещенный)-3-(2-амино-4-оксо-3H,5H-пирроло [3,2-d]-пиримидин-7-ил)пропан-нитрил,

где R² означает: (10) 1-адамантил; (11) 2-адамантил; (12) циклогексил; (13) циклогептил; (14) циклопентил; (15) тетрагидрофуранил; (16) тетрагидротиенил; (17) тетрагидропиранил; (18) пиразолидинил; (19) тиазолидинил; (20) пиперазинил; (21) морфолинил; и (22) гексагидропиридазинил.

Пример 192.



В этом примере получают вышеприведенное вещество 3-(2-амино-4-оксо-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-7-ил)-3-фенилпропаннитрил. Раствор вещества А, полученного в примере 187 (2.0 г, 5.22 ммоль), в горячем этаноле (250 мл) и диметилформамиде (DMF) (150 мл) гидрируют над 30 % Pd/C катализатором (1.0 г) в присутствии триэтиламина (2.64 г, 5.0 эквивалентов) при атмосферном давлении. Спустя 5 часов реакция завершается, и катализатор отфильтровывают под давлением N₂. Твердое вещество, полученное после испарения фильтрата, растирают в порошок и разрушают ультразвуком с H₂O и высушивают; выход 1.28 г (88 %), т.пл. 168-170°C. MS (FAB), m/z 280 (M+H)⁺, 239 (280-CH₂CN)⁺; ¹H-ЯМР (DMSO-d₆) δ 3.20-3.46 (m, 2H, CH₂CN), 4.37 (t, 1H, CHCH₂CN), 5.86 (s, 2H, NH₂), 7.05 (d, J=1.5 Hz, 1H, пиррол.кольцо CH), 7.21 (t, 1H, ароматич. CH), 7.30 (t, 2H, ароматич. CH), 7.39 (d, J=7.5 Hz, 2H, ароматич. CH), 10.41 (s, 1H, NHCO), 11.40 (s, 1H, пиррол NH).

Анализ: вычислено для C₁₅H₁₃N₅O:

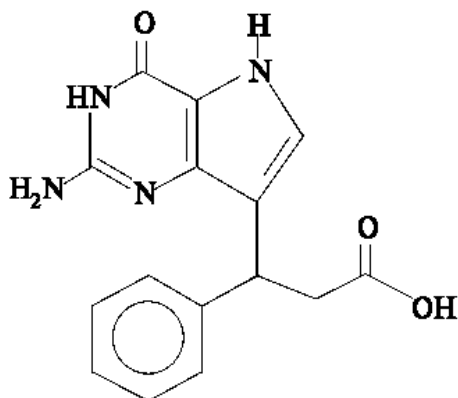
C, 64.50; H, 4.69; N, 25.07;

найдено: C, 64.68; H, 4.57; N, 25.19.

Пример 193.

Вещество, полученное в примере 192, испытывают на ферментативную ингибирующую активность, как в примере 188. При 1 mM фосфата IC₅₀ равно 0.023 мкМ, а при 50 mM фосфата IC₅₀ равно 4.7 мкМ.

Пример 194.



В этом примере получают вышеприведенное вещество 3-(2-амино-4-оксо-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-7-ил)-3-фенилпропановую кислоту. Раствор вещества, полученного в примере 192 (0.200 г, 0.72 ммоль) в 6N HCl (3.0 мл) нагревают при температуре кипения с обратным холодильником в течение 18 часов. Растворитель выпаривают в вакууме и остаток растирают в порошок с H₂O (6 мл), доводят до pH 10 конц.гидроксидом аммония. Нерастворимое вещество собирают фильтрованием, и фильтрат повторно доводят до pH 6.8. Белое вещество, которое осаждается, собирают, промывают водой и высушивают; выход 0.19 г (89 %), т.пл. 290°C (разл.).

MS (FAB), m/z 299 (M+H)⁺; ИК (KBr) 3187, 3181, 1688, 1636, 1557, 1524, 1495, 1398, 1376; UV 0.1 N HCl 234 (17.15), 273 (15.05); pH 7 231 (20.05), 272 (10.72); 0.1 N NaOH 227 (22.3), 264 (7.29), 288 (6.66); ¹H-ЯМР (DMSO-d₆) δ 2.86-3.0 (dd, 1H, -CHN-), 3.02-3.14 (dd, 1H, -CHN-), 4.47 (t, 1H, CH-CH₂CN), 5.85 (s, 2H, NH₂), 6.95 (d, J=3 Hz, 1H, пиррольное кольцо CH), 7.14 (t, 1H, ароматич. CH), 7.24 (t, 2H, ароматич. CH), 7.33 (d, J=7.0 Hz, 2H, ароматич. CH), 10.38 (плечо, 1H, NHCO), 11.25 (плечо, 1H, пиррол.кольцо NH), 11.1-12.1 (очень широкий, виден в интеграле, 1H, COOH).

Анализ: вычислено для C₁₅H₁₄N₄O₃ • 0.3 H₂O:

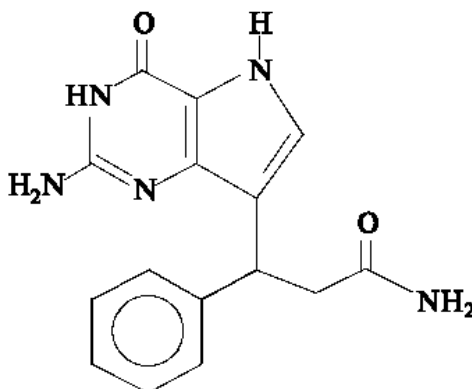
C, 59.38; H, 4.85; N, 18.45;

найдено: C, 59.42; H, 5.04; N, 18.56.

Пример 195.

Вещество, полученное в примере 194, испытывают на ферментативную ингибирующую активность, как в примере 188. При 1 mM фосфата IC₅₀ равно 0.012 мкМ, а при 50 mM фосфата IC₅₀ равно 0.19 мкМ.

Пример 196.



В этом примере получают вышеприведенное вещество 3-(2-амино-4-оксо-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиримидин-7-ил)-3-фенилпропанамид. Раствор вещества, полученного в примере 192 (0.200 г, 0.72 ммоль), в концентрированной H₂SO₄ (0.5 мл) перемешивают при комнатной температуре в течение 20 часов и затем выливают на дробленый лед (5.0 г) и доводят до pH 6.8 посредством конц. NH₄OH. Осажденное твердое вещество собирают, промывают водой и высушивают; выход 0.180 г, т.пл. 199-201°C (разл.).

MS(FAB), m/z 298 (M+H)⁺; ИК (KBr) 3324, 3259, 3185, 3178, 1670, 1626, 1561, 1524, 1411; ¹H-ЯМР (DMSO-d₆) δ 2.60 (dd, 1H, -CHN-), 2.86 (dd, 1H, -CHN-), 4.52 (t, 1H, CH-

CH₂), 5.98 (плечо, 2H, NH₂), 6.67 (s, 2H, CONH₂), 6.99 (d, J=2.5 Hz, 1H, пиррол.кольцо CH), 7.06-7.31 (m, 5H, ароматич. CH), 10.60 (очень широкий, 1H, NHCO), 11.37 (плечо, 1H, пиррол.кольцо NH).

Анализ: (C₁₀H₁₅N₅O₂ • 0.8 H₂O).

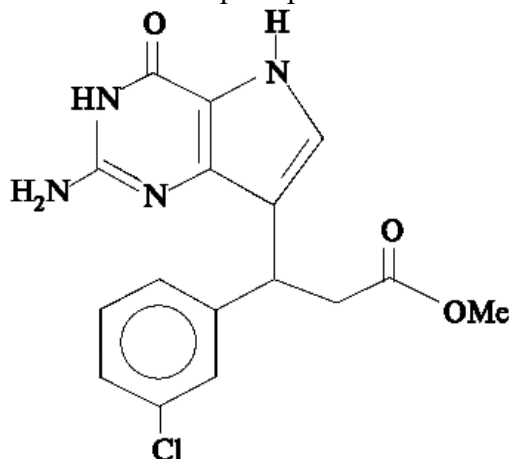
Анализ: вычислено для C₁₅H₁₅N₅O₂ • 0.8 H₂O:

C, 57.80; H, 5.36; N, 22.46;

найдено: C, 57.89; H, 5.18; N, 22.36.

Пример 197.

Вещество, полученное в примере 196, испытывают на ферментативную ингибирующую активность, как в примере 188. При 1 mM фосфата IC₅₀ равно 0.20 мкМ, а при 50 mM фосфата IC₅₀ равно 6.6 мкМ. Пример 198.



В этом примере получают вышеприведенное вещество 3-(2-амино-4-оксо-3H,5H-пирроло [3,2 -d] пиримидин-7-ил)-3-(3-хлорфенил) пропановую кислоту, метиловый эфир. Хлористый тионил (0.2 г, 0.17 ммоль) добавляют к перемешиваемому метанолу (4.0 мл) при 0°C. Вещество, полученное в примере 194 (0.2 г, 0.67 ммоль) добавляют и смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 18 часов. Растворитель удаляют на водном аспираторе (30°C) и вакуумном насосе (лиофилизация), получая полутвердую массу, которую очищают на колонне с силикагелем, используя CHCl₃-MeOH в качестве растворителя для элюирования; выход 0.1 г.

т.пл. 302-303°C (разл.) MS (FAB), m/z 347 (M+H), 273 (346-CH₂CO₂CH₃)⁺; UV 0.1 N HCl 220 (sh), 232 (sh), 273 (15.1), pH 7 буффер 232 (18.1), 270 (7.4), 0.1 N NaOH 262 (6.5), 288 (5.9); ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 3.15 (dd, J, 2H, CH₂CO₂CH₃), 3.48 (s, 3H, CH₂CH₃), 4.48 (t, 1H, -CHCH₂-), 5.83 (s, 2, NH₂), 7.06 (d, J, 1H, пиррол, кольцо CH), 7.19, 7.26, 7.39, (комплекс m, 4H, хлорфенил CH), 10.36 (s, 1H, 3-NH), 11.30 (d, J, 1H, 5NH). Анализ: вычислено для C₁₆H₁₅ClN₄O₃ • 0.3CH₃OH:

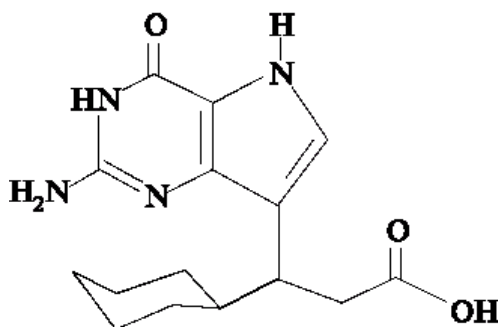
C, 54.93; H, 4.58; N, 15.72.

Найдено: C, 54.99; H, 4.78; N, 15.85.

Пример 199.

Вещество, полученное в примере 198, испытывают на ферментативную ингибирующую активность. Обнаружена значительная активность (IC₅₀ - 55 nM).

Пример 200.



В этом примере получают 3-(2-амино-4-оксо-3,4,5-пирроло [3,2-d] пиримидин-7-ил)-3-циклогексанпропановую кислоту. Раствор вещества, полученного в примере 194 (83 мг, 0.28 ммоль) в трифторуксусной кислоте (TFA) (15 мл) гидрируют с помощью PtO_2 (83 мг) при давлении 60 фунтов/дюйм² в течение часов. Катализатор отфильтровывают через слой цеолита и фильтрат выпаривают при 25°C. Остаток суспендируют в воде (8 мл) и доводят до pH 8.5 конц. NH_4OH и фильтруют через Whatman фильтровальную бумагу для удаления примесей коричневого цвета. Бесцветный фильтрат доводят до pH 6.8 и осажденное вещество фильтруют, промывают водой и высушивают; выход 65 мг (77 %), т.пл. > 300°C.

MS(FAB), m/z 305 ($\text{M}+\text{H}^+$); ИК (KBr) 3330, 3194, 2926, 2852, 1683, 1639, 1557, 1522, 1401, 1377; ¹H-ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): 0.85, 1.06, 1.60 (m, 1H, циклогексил H), 2.56 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$), 3.05 (m, 1H, $\text{CH}-\text{CH}_2$), 5.79 (s, 2H, NH_2), 6.89 (d, $J=2.5$ Hz, 1H, пиррол.кольцо CH), 10.31 (плечо, 1H, пиррол NH), 11.16 (s, 1H, NHCO), 11.76 (плечо, 1H, пиррол NH). Анализ: вычислено для $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O} \cdot 1.75 \text{H}_2\text{O}$:

C, 53.64; H, 7.05; N, 16.68;

найденно: C, 54.03; H, 6.71; N, 16.30.

Пример 201.

Вещество, полученное в примере 200, испытывают на ферментативную ингибирующую активность, как в примере 188. При 1 mM фосфата IC_{50} равно 0.097 мкМ, а при 50 mM фосфата IC_{50} равно 1.0 мкМ.

Пример 202.

Получают вещество настоящего изобретения, в котором $\text{R}_2-\text{CH}_2\text{OPO}(\text{OH})_2$ Нитрильную группу вещества примера 192 превращают в соответствующий амид посредством обработки серной кислотой. Используя реакцию дегидратации по Гофману, амид превращают в соответствующий амин, который затем переводят в соответствующую пиридиниевую соль, используя пиррилиевую соль. Превращение соли в соответствующую соль галоидоводородной кислоты достигают, используя бромид натрия, которую затем превращают в эфир фосфиновой кислоты, используя триэтилфосфит. Гидролиз эфира с использованием триметилсилилбромида дает соответствующую фосфиновую кислоту.

Пример 203.

В этом примере получают вещество настоящего изобретения посредством изменения числа углеродных атомов. Нитрильную группу вещества примера 192 переводят в соответствующий альдегид, который затем превращают в соответствующий спирт. Используя трехбромистый фосфор, спирт превращают в соответствующий алкилбромид, который затем превращают в ацетонитрил, используя цианид калия.

Пример 204.

В этом примере получают вещество настоящего изобретения, в котором $\text{R}_2 = \text{CH}_2\text{OP}(\text{O})(\text{OH})_2$. Спирт, полученный в качестве промежуточного соединения в предыдущем примере, превращают в соответствующий диэтилфосфонометилловый эфир, используя диэтилхорметилфосфонат. Удаление этильной группы эфира выполняют, используя триметилсилилбромид, с получением фосфиновой кислоты.

Пример 205.

В этом примере получают вещество настоящего изобретения, в котором $\text{R}_2 = \text{CH}_2\text{NHSO}_2\text{NH}_2$. Нитрильную группу вещества примера 192 восстанавливают до амина, используя стандартное каталитическое гидрирование с помощью палладия в кислой среде (обычно 0.01N до 1N HCl), который затем превращают в сульфамид, используя сульфамойлхлорид.

Пример 206.

В этом примере получают вещество настоящего изобретения, в котором $\text{R}_2 = \text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{COOH}$, путем реакции промежуточного метиламиносоединения, полученного в предыдущем примере, с хлоруксусной кислотой.

Пример 207.

В этом примере получают вещество настоящего изобретения, в котором R_2 - $\text{CH}_2\text{NHPO}(\text{OH})_2$ реакцией промежуточного производного метиламина, полученного в примере 206, с диэтилхорметилфосфонатом и обработкой полученного продукта с триметилсилилбромидом.

Пример 208.

В этом примере получают соединение настоящего изобретения, в котором R_3 - OSO_2NH_2 реакцией промежуточного спирта, полученного в примере 203, с сульфамойлхлоридом.

Пример 209.

В этом примере получают соединение настоящего изобретения, в котором R^1 -H, R^2 -фенил, R^3 - CH_2CN . Используют методику способа, описанного в Mu I11 Lim, et al., J. Org. Chem., vol.44, №22, 3826 (1979). Вещество примера 184 и диметилацеталь диметилформамида взаимодействуют при комнатной температуре в течение 2 дней и затем выпаривают досуха в вакууме. Остаток кристаллизуется, давая чистое производное N-(диметиламино)метилена, которое циклизуют в присутствии насыщенного метанольного раствора аммиака, получая желаемый конечный продукт.

Пример 210.

В этом примере получают вещество настоящего изобретения, в котором R^1 - OCH_3 , R^2 - фенил, R^3 - CH_2CN . Используя вещество В примера 187, S-метильную группу окисляют до метилсульфона, который затем превращают в конечное метоксисоединение обработкой метоксидом натрия в метаноле.

Пример 211.

В этом примере получают соединение настоящего изобретения, в котором R_2 - тетра-зол. Вещество примера 192 обрабатывают азидом лития в присутствии хлорида аммония в качестве катализатора в диметилформамиде (DMF) при 100°C , получая желаемый тетразол.

Пример 212.

В этом примере получают соединение настоящего изобретения, в котором R_2 - триазол. Вещество примера 198 обрабатывают гидратом гидразина, получая соответствующий гидразид, который затем обрабатывают иминоэфиром, получая желаемый триазол.

Пример 213.

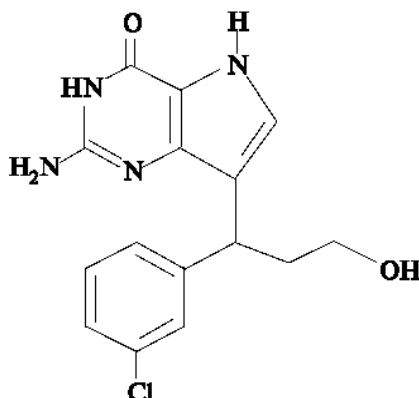
Вещество, полученное в примере 189, испытывают на ферментативную ингибирующую активность, как в примере 188. При 1 mM фосфата IC_{50} равно 0.012 мкМ, а при 50 mM фосфата IC_{50} равно 2.0 мкМ.

Пример 214.

В этом примере получают вещество настоящего изобретения, в котором R_3 в приведенной общей формуле - $\text{CNH}(\text{NH}_2)$. Вещество А из примера 187 взаимодействует с метоксидом натрия в метаноле при комнатной температуре в течение примерно 2 дней, образуя промежуточное вещество метилимидат. Промежуточное вещество затем реагирует с аммиаком в метаноле, образуя соответствующий имидин.

Пример 215.

2-амино-7-(3-хлорфенил-3-гидроксипропил)-3Н,5Н-пирроло [3.2-d] пиримидин-4-он



Размешанную суспензию метилового сложного эфира примера 198 (6.00 г, 17.3 ммоль) и сухого $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (100 мг) в гексаметилдисилазане (400 мл) кипятят с обратным холодильником в течение 8 часов, одновременно обеспечивая защиту от атмосферной влаги. Прозрачный раствор уменьшают в объеме до приблизительно половины его первоначального объема путем дистиллирования при атмосферном давлении, а оставшиеся гексаметилдисилазаны выпаривают в вакууме, получая триметилсилилпроизводное в виде вязкой смолы, которую затем высушивают над P_2O_5 . Сырой продукт затем используют в последующей реакции без дальнейшей очистки: MS (FAB), m/z 491 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Раствор LiAlH_4 в тетрагидрофуране (26 мл 1M, 26 ммоль) добавляют по каплям в раствор триметилсилилированного сложного эфира (предположительно 17.3 ммоль) в сухом тетрагидрофуране (200 мл). После размешивания в течение 1 часа, избыток гидрида разрушают путем добавления EtOAc (100 мл), и все растворители выпаривают в вакууме. В размешанную суспензию остатка в холодной H_2O (200 мл) добавляют разведенную HCl 1 до тех пор, пока pH не достигнет 1 и по истечении 15 минут pH доводят до 7 с помощью раствора NaOH . Твердое вещество собирают фильтрованием, промывают холодной H_2O , слегка высушивают в вакууме и затем порошокуют путем размешивания со смесью 1:1 (100 мл) циклогексана и Et_2O . Твердое вещество отфильтровывают и частично высушивают в воронке под потоком N_2 . Раствор твердого вещества в горячем MeOH выпаривают досуха с силикагелем (отверстия 230-400 меш, 50 г) и смесь осторожно наносят на верх колонны с силикагелем и затем элюируют с помощью смеси $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ в соотношении 17:3 и 4:1, получая желаемый спирт (4.65 г, 84 %). С помощью двух перекристаллизаций из $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$ в соотношении 2:1 получают белые кристаллы, которые затем высушивают в вакууме над P_2O_5 в течение 30 часов при температуре 110°C ; выход 3.36 г (61 %).

MS(FAB) m/z 319 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; 321 (Cl изотопный пик 319)⁺, 301 (318-OH)⁺, 151 ($\text{B} + 2\text{H}$)⁺; UV 0.1 NHCl 233 (17.9), 274 (15.7), pH 7 буфер 230 (22.3), 272 (10.6), 0.1 N NaOH 266 (7.3), 288 (6.7); ^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$) δ 2.07, 2.21 (2 секстета 1H каждый, - $\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3.29 (m, 1H, - CH_2OH), 4.17 (t, 1H, - $\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 4.45 (t, 1H, - CH_2OH), 5.79 (s, 2H, NH_2), 7.09 (d, J, 1H, пиррол.кольцо CH), 7.18, 7.27, 7.34 (комплекс m, 4H, хлорфенил CH), 10.36 (s, 1H, 3-NH), 11.29 (d, J, 1H, 5-NH).

Анализ: вычислено для $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{ClN}_4\text{O}_2$:

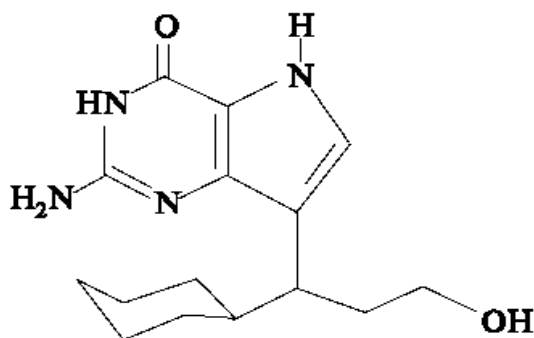
C, 56.52; H, 4.74; N, 17.58;

найдено: C, 56.51; H, 4.84; N, 17.49.

Пример 216.

2-амино-7-(1-циклогексил-3-гидроксипропил)-3H,5H-пирроло[3,2-d] пиридин-4-

ОН



Раствор спирта из примера 215 (100 мг, 0.314 ммоль) в CF_3COOH (20 мл) гидрогенизируют путем размешивания с платиновым катализатором (100 мг PtO_2) в аппарате Парра при первоначальном давлении в 60 фунтов/дюйм². Катализатор удаляют путем фильтрации через тонкий слой цеолита под N_2 . Фильтрат выпаривают, и остаток дважды растворяют в MeOH (5.0 мл), а раствор выпаривают. Мутному раствору остатка в H_2O /конц. NH_4OH (20 мл, 1:1) дают постоять в течение 4 часов при комнатной температуре, прежде чем подвергнуть его фильтрованию и выпариванию досуха. Раствор остатка в H_2O (30 мл), содержащий 2 капли 1N NaOH нейтрализуют 1N HCl и охлаждают до 5°C . Осадившееся белое твердое вещество собирают фильтрацией, промывают холодной водой и высушивают в вакууме над P_2O_5 при температуре 110°C в течение 6 часов; выход 63 мг (67 %), т.пл. $181\text{--}186^\circ\text{C}$.

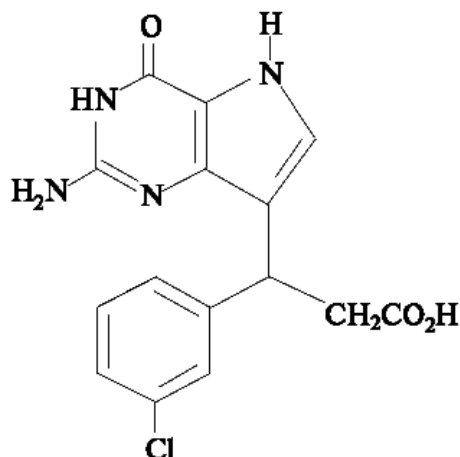
MS(FAB), m/z 291 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; UV 0.1 N HCl 236 (16.2), 275 (14.9), pH 7 буффер 231 (18.8), 274 (12.1), 0.1 N NaOH 230 (19.6), 268 (7.8), 288 (плечо); ^1H -ЯМР (DMSO-d_6) δ 0.85, 1.08, 1.59 (комплексные мультиплеты, 11H, циклогексил CH), 1.78 (m, 2H, $-\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 2.62 (m, 1H, $-\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3.14, 3.17, 3.24 (комплексные мультиплеты, 2H, $-\text{CH}_2\text{OH}$), 4.25 (уш. 1H, $-\text{CH}_2\text{OH}$), 5.82 (s, 2H, $-\text{NH}_2$), 6.86 (d, J, 1H, H-6), 10.35 (уш. 1H, 3-NH), 11.17 (d, J, 1H, 5-NH). Анализ: вычислено для $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$:

C, 60.18; H, 7.74; N, 18.71;

найдено: C, 60.09; H, 7.68; N, 18.73.

Пример 217.

2-амино-7-[2-карбокси-1-(3-хлорфенил)этил]-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиридин-4-он



2-Амино-7-[2-циано-1-(3-хлорфенил)этил]-3H,5H-пирроло [3,2-d] пиридин-4-он (20 г, 63.75 ммоль) гидролизуют до получения соответствующей кислоты с помощью способа, описанного в примере 194.

Выход: 18 г (84.9 %), т.пл. $295\text{--}296^\circ\text{C}$. MS(FAB), m/z 333 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; ИК(KBr) 3182, 3170, 1686, 1639, 1596, 1572, 1525, 1477, 1402, 1377; UV 0.1 N HCl 235 (17.2), 273 (15.42); pH 7 233 (20.2), 272 (1058), 0.1 N NaOH 231 (20.9), 263 (7.2), 288 (6.67);

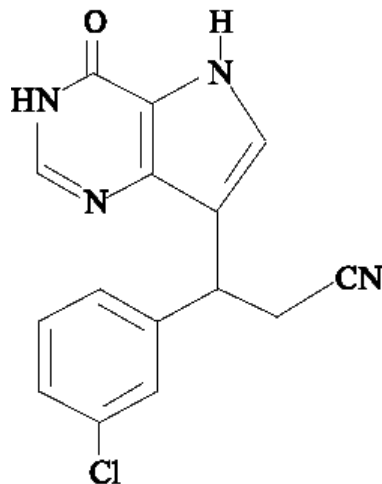
^1H -ЯМР (DMSO-d_6) δ 2.96 (m, 2H, CH_2CN), 4.48 (t, 1H, $\text{CH-CH}_2\text{CN}$), 6.06 (уш. 2H, NH_2), 7.11 (d, J=2.6 Hz, 1H, пиррол, кольцо CH), 7.21 (d, J=8 Hz, 1H, ароматический CH), 7.25-7.46 (m, 3H, ароматический CH), 10.3-11.0 (очень широкий, виден в интеграле, 1H,

NH или COOH), 10.42 (уш. 1H, пиррол, кольцо NH), 11.7-12.3 (очень широкий, виден в интеграле, 1H, NH или COOH).

Анализ: вычислено для $C_{15}H_{14}N_4O_3 \cdot 0.3 H_2O$: C, 59.38; H, 4.85; N 18.41; найдено: C, 59.42; H, 5.04; N, 18.56.

Пример 218.

7-[2-циано-1-(3-хлорфенил)этил] - 3Н,5Н-пирроло [3,2-*d*] [2-циано-1-(3-пиримидин-4-он



К раствору 3-(2-метилтио-4-оксо-3Н,5Н-пирроло [3,2-*d*] пиримидин-7-ил)-3-(3-хлорфенил) пропаннитрила (1.0 г) в этаноле (100 мл) добавляют 30 % Pd/C и образовавшуюся суспензию кипятят с обратным холодильником в течение нескольких минут. Затем при постоянном помешивании добавляют гидрат гидразина (300 мл) и реакционную смесь кипятят с обратным холодильником в течение 2 дней. Затем добавляют дополнительные порции гидрата гидразина (300 мл) и Pd/C (0.5 г) и реакционную смесь кипятят с обратным холодильником еще 4 дня. Катализатор удаляют фильтрацией и фильтрат уменьшают в объеме до 75 мл, фильтруют и выпаривают, получая желаемый продукт в виде белого твердого вещества; выход 0.82 г (94.7 %); т.пл. 230°C.

MS(FAB), 299 ($M+1$)⁺; ИК (KBr) 3166, 3155, 3150, 3142, 3133, 3093, 2248, 1673, 1595, 1414; UV (0.1N HCl), 237 (27.8);

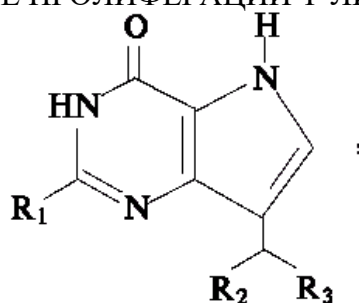
pH 7; 262 (9.9), 233 (31.1); 0.1N NaOH, 268 (8.9); ¹H-ЯМР (DMSO-*d*₆) δ 3.3-3.52 (m, CH₂CN), 4.6 (t, 1H, CHCH₂-CN), 7.24-7.56 (т, ароматический CH и H-6), 7.84 (s, H-2), 11.95 (s, NHCO), 12.11 (s, пиррол NH). Анализ:

вычислено для $C_{15}H_{11}ClN_4O$: C, 60.31; H, 3.71; N, 18.75;

найдено: C, 60.19; H, 3.92; N, 18.41.

IC₅₀ для PNP = 10 nM.

Таблица 1

ИНГИБИРОВАНИЕ ПРОЛИФЕРАЦИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ^a

Пример	R ₃	R ₂	IC ₅₀ мкМ ^b
67	H	4-пиридил	0.40
41	H	2-тетрагидрофуранил	0.25
8A	H	3-пиридил	0.80
137	H	циклопентил	1.0
152	H	циклогексил	2.0
189	CH ₂ CN	3-хлорфенил	3.0
194	CH ₂ CO ₂ H	фенил	<1.0
217	CH ₂ CO ₂ H	3-хлорфенил	0.25

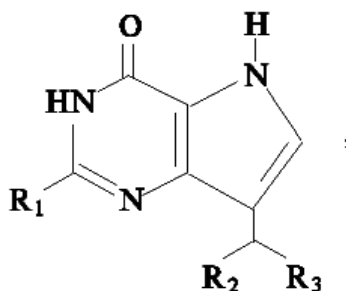
^aCCRF-CEM лейкемические Т-лимфоциты.

^bКонцентрация, необходимая для ингибирования пролиферации 50 % клеток по сравнению с необработанными клетками контрольных опытов.

Вышеуказанные соединения не были способны ингибировать пролиферацию В-лимфоцитов в концентрации 100 мкМ, тем самым, демонстрируя присущую им селективность по отношению к Т-лимфоцитам.

Формула изобретения

1. Производные 2-амино-7-(CH₂R₂R₃)-3Н,5Н-пирроло {3,2-*d*} пиримидин-4-она формулы



где R₁ означает Н или NH₂; R₂ означает насыщенный пятичленный гетероцикл, содержащий в качестве гетероатома серу или кислород, или шестичленный гетероцикл, содержащий в качестве гетероатома N, и которые могут быть необязательно замещены (C₁-C₄) алкокси, трифторметилом или галогеном; (C₆-C₁₀) циклоалкил, не замещенный или га-лоидзамещенный фенил; R₃-H, (CH₂)_nCN, (CH₂)_nCO₂H, (CH₂)_nCONH₂, CO₂CH₃, (CH₂)_nCO₂CH₃ или (CH₂)_nOH, n = 1 - 4, или R₂ и R₃ вместе с СН группой, к которой они присоединены, образуют циклогексил- или циклогексенильную группу.

2. Соединение по п. 1, где CH₂R₂R₃ образуют вместе циклогексил - или циклогексенильную группу.

3. Соединение по п. 1, где R₁ означает NH₂.

4. Соединение по п. 1, где означает фенил.

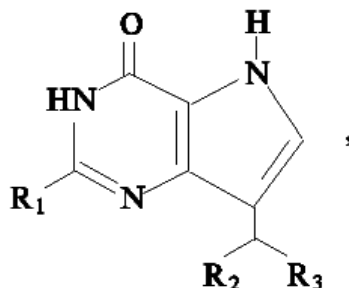
5. Соединение по п. 1, где R₃ означает CH₂CN, CH₂COOH или CH₂CONH₂.

6. Соединение по п. 1, где R₂ означает возможно замещенные C₁-C₄ галкокси,

галогеном или трифторметилом 3-пиперидинил, 2-тетрагидрофуранил, 2-тетрагидротиенил, 3-, 4-пиридинил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, 2-адамантил, фенил, 3-хлорфенил, 2,3,5-трихлорфенил.

7. Способ селективного ингибирования пролиферации Т-лимфоцитов млекопитающего и не оказывающий воздействия на В-лимфоциты, отличающийся тем, что млекопитающему вводят соединения по любому из пп. 1 - 6 в эффективном количестве.

8. Способ получения производных 2-амино-7-(CHR₂R₃)-3H,5H-пирроло{3,2-d}пиримидин-4-она



где R₁ - NH₂; R₂ - фенил, не замещенный или замещенный галогеном, или циклогексил; R₃ -CH₂CN, отличающийся тем, что осуществляют следующие последовательные стадии:

а) реакцию соответствующего R₂ - замещенного циклического альдегида с циануксусной кислотой в присутствии ацетата аммония с получением 3(R₂) - замещенного пентандинитрила;

б) реакцию полученного 3(R₂) - замещенного пентандинитрила с алкиловым эфиром муравьиной кислоты в присутствии основания с получением 3(R₂)-2-формилпентандинитрила;

в) последний взаимодействует с гидрохлоридом метилового эфира глицина в присутствии ацетата натрия или аммония с получением метил-N-{(R₂)-2,4-дициано-2-бутенил}-глицина;

г) полученный при этом метил-N-{(3R₂)-2,4-дициано-2-бутенил}глицин взаимодействует с алкиловым эфиром хлоруксусной кислоты в присутствии 1,5-диазабицикло {4.3.0}-нон-5-ена или 1,8-диазабицикло {5.4.0}-ундек-7-ена с получением метил-3-амино-4-(2-циано-1 (R₂)-этил)-1-этил-1H-пиррол-1,2-дикарбоксилата;

д) полученный метил-3-амино-4-(2-циано-1(R₂)-этил)-1-этил-1H-пиррол-1,2-дикарбоксилат обрабатывают основанием с получением метил-3-амино-4-(2-циано-1(R₂)-этил)-1H-пирроло-2-карбоксилата;

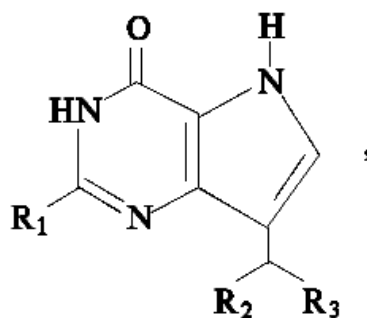
е) последний подвергают взаимодействию с бензоилизотиоцианатом с получением N-бензоил-N'-[4-(2-циано-1(R₂)-этил)-2 метоксикарбонил-1H-пиррол-3-ил] тиомочевины;

ж) полученную N-бензоил-N'-[4-(2-циано-1(R₂)-этил)-2-метоксикарбонил-1H-пиррол-3-ил]тиомочевину алкилируют галоидным алкилом с получением N-бензоил-N'-[4-(2-циано-1 (R₂)-этил)-2-метоксикарбонил-1H-пиррол-3-ил]-8-метилтиомочевины;

з) затем N-бензоил-N'-[4-(2-циано-1(R₂)-этил)-2-метоксикарбонил-1H-пиррол-3-ил]-8-метилтиомочевину обрабатывают с метанольным или этанольным раствором аммиака с получением смеси 3(R₂)-3-[2-амино-4-оксо-3H,5H-пирроло[3,2-d]пиримидин-7-ил]пропаннитрила и 3(R₂)-3-[2-метилмеркапто-4-оксо-3H,5H-пирроло[3,2-d]пиримидин-7-ил]пропаннитрила.

9. Способ по п.8, где R₂ означает фенил.

10. Способ получения производных 2-амино-7-(CHR₂R₃)-3H,5H-пирроло{3,2-d}пиримидин-4-она формулы 1



где R_1 - H; R_2 - фенил, незамещенный или замещенный галоидом, или циклогексил; R_3 - CH_2CN , отличающийся тем, что осуществляют следующие последовательные стадии:

а) реакцию соответствующего циклического альдегида с циануксусной кислотой в присутствии ацетата аммония с получением 3(R_2)-замещенного пентандинитрила;

б) реакцию полученного 3(R_2) пентандинитрила с алкиловым эфиром муравьиной кислоты в присутствии основания с получением 3(R_2)-2 формилпентандинитрила;

в) последний подвергают взаимодействию с гидрохлоридом метилового эфира глицина в присутствии ацетата натрия или аммония с получением метил-N-{3(R_2)-2,4-дициано-2-бутенил} глицина;

г) полученный при этом метил-N-{3(R_2)-2,4-дициано-2-бутенил} глицин подвергают взаимодействию с алкиловым эфиром хлоруксусной кислоты в присутствии 1,5-диазабицикло {4.3.0}-нон-5-ена или 1,8-диазабицикло {5.4.0}-ундек-7-ена с получением метил-3-амино-4-(2-циано-1(R_2)-этил)-1-этил-1Н-пиррол-1,2-дикарбоксилата;

д) метил-3-амино-4-(2-циано-1(R_2)-этил)-1-этил-1Н-пиррол-1,2-дикарбоксилат обрабатывают основанием с получением метил-3-амино-4-(2-циано-1(R_2)-этил)-1Н-пиррол-2-карбоксилата;

е) затем метил-3-амино-4-(2-циано-1(R_2)-этил)-1Н-пирроло-2-карбоксилат подвергают взаимодействию с диметилацеталем диметилформамида с получением метил-4-(2-циано-1(R_2)-этил)-3-[N-(диметиламинометил)амино]-1Н-пирроло-2-карбоксилата;

ж) метил-4-(2-циано-1(R_2)-этил)-3-[N-(диметиламинометил)амино]-1Н-пирроло-2-карбоксилат обрабатывают метанольным раствором аммиака с получением 3(R_2)-3-[4-оксо-3Н,5Н-пирроло [3,2-d] пиримидин-7-ил] пропаннитрила.

Составитель описания
Ответственный за выпуск

Масалимов Ф.Я.
Ногай С.А.

Кыргызпатент, 720021, г. Бишкек, ул. Московская, 62, тел.: (312) 68 08 19, 68 16 41, факс: (312) 68 17 03