

(19)



(10) **LT 3184 B**

(12)

PATENTO APRAŠYMAS

(11) Patent numeris: **3184**

(51) Int.Cl.⁵: **C07D 273/00,
C07D 413/12,
A61K 31/41**

(21) Paraiškos numeris: **IP298**

(22) Paraiškos padavimo data: **1993 01 27**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1994 08 25**

(45) Patent paskelbimo data: **1995 03 27**

(72) Išradėjas:

**Gunnar Leo Kapur, DK
Herbert Fritz Preikschat, DK
Tim Niss Corell, DK
Bodil Gyllembourg Lissau, DK
Finn Priess Clausen, DK
Soeren Bols Petersen, DK
Boerge Ingvar Frisch Alhede, DK**

(73) Patent savininkas:

**A/S GEA FARMACEUTISK FABRIK, Holger Danskes Vej 89, DK-2000 Copenhagen F,
DK**

(74) Patentinis patikėtinis:

**Marius Jakulis-Jason, 3, A.A.A.Baltic Service Company, Rūdninkų g. 18/2-12, 2001
Vilnius, LT**

(54) Pavadinimas:

**3-Pakeisti 1,2,3,4-oksatriazol-5-imino junginiai, jų gavimo būdas bei šių junginių
turintys farmaciniai preparatai**

(57) Referatas:

Šis išradimas siejamas su iki šiol nežinomais 3-pakeistais 1,2,3,4-oksatriazol-5-imino junginiais, kurie, kaip buvo parodyta, yra biologiškai aktyvūs ir todėl tinka širdies indų susirgimams (trombozėms), krūtinės anginai bei astmai gydyti, ir su būdu jiems gauti bei paruošti šių junginių turintiems farmaciniams preparatams.

Šis išradimas siejamas su iki šiol nežinomais 3-pakeistais 1,2,3,4-oksatriazol-5-imino junginiais, kurie yra biologiškai aktyvūs ir todėl tinka širdies indų susirgimams (trombozėms ir astmai), gydyti, ir su būdu jiems gauti bei paruošti šiuos junginius turinčius farmacinius preparatus.

N.G. Finnegan ir kt., J. Org. Chem., 30, p. 567-575 (1965) aprašo 3-cikloheksil-1,2,3,4-oksatriazol-5-imino hidrochloridą, tačiau neužsimenama apie joki šio junginio biologinį aktyvumą.

K. Masuda ir kt., Chem. Pharm. Bull., 19 (3), p. 559-563 (1971) aprašo 3-aril-1,2,3,4-oksatriazol-5-imino junginius ir jų acilo darinius, kuriuose acilo grupė gali būti monopakeista metilu arba halogenu. Nors šie junginiai buvo sintezuoti, tikintis atrasti naujus hipotenzinius agentus, neaprašomas joks šių junginių biologinis aktyvumas.

C. Christophersen ir kt., Acta Chemica Scandinavica, 25, p. 625-630 (1971) aprašo 3-pakeistus 1,2,3,4-oksatriazol-5-imino junginius, kuriuose 3-pakaitu gali būti propilas arba fenilas arba cikloheksilas. Tačiau šių junginių biologinis aktyvumas neaprašytas.

Hanley ir kt., J.C.S. Perkin Trans I, 736-740 (1979) aprašo 3-aril-1,2,3,4-oksatriazol-5-imino junginius, kuriuose arilo grupė gali būti monopakeista metilu arba halogenu. Tačiau šių junginių biologinis aktyvumas neaprašytas.

Japonijos patentuose Nr. 20904/70 ir Nr. 21102/70 aprašomos 3-pakeisto 1,2,3,4-oksatriazol-5-imino druskos ir jų acilo dariniai, kuriuose 3-pakaitas gali būti arilas, pasirinktinai pakeistas chloridu arba metilu.

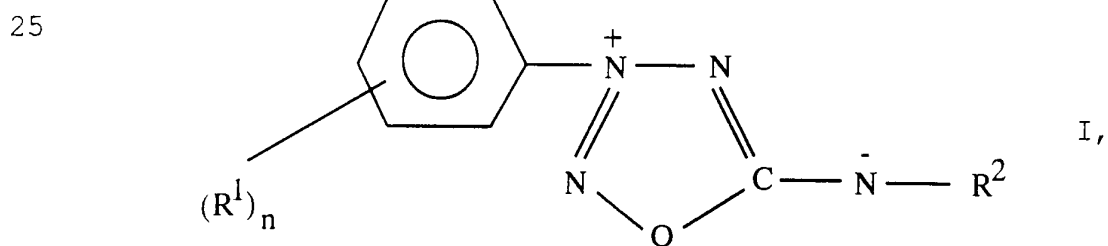
Nurodoma, kad šie junginiai pasižymi vazodepresiniu aktyvumu.

Didžiojoje Britanijoje paskelbtoje paraiškoje Nr. 2 015 878 aprašyti 3-fenil-1,2,3,4-oksatriazol-5-imino junginiai, kurie, kaip nustatyta, pasižymi pesticidiniu ir/arba tovicidiniu ir/arba herbicidiniu aktyvumu.

JAV patento Nr. 4,239,355 aprašyme charakterizuoti anhidro-5-imino-1,2,3,4-oksatriazolonio hidroksidai, kurių struktūra panaši į šiame išradime aprašytų junginių struktūrą. Tačiau šiame patento aprašyme tik paminima, kad gauti junginiai gali tikti vėžiui gydyti.

Be to junginiai, kurių struktūra panaši į šio išradimo junginių struktūrą, žinomi iš J.C.S. Perkin Trans I, 747-751 (1979) publikacijos. Tačiau čia nieko nekalbama apie šių junginių biologinį aktyvumą.

Šis išradimas siejamas su iki šiol nežinomais 3-pakeistais 1,2,3,4-oksatriazol-5-imino junginiais, aprašomais bendra formule I, ir jų druskomis su rūgštimis



30 kurioje R^1 yra tokios pačios arba skirtingos alkilo arba alkoksi grupės, turinčios nuo 1 iki 3 anglies atomų, halogeno, trifluormetilo, nitro, ciano, fenilo arba alkilsulfonilo grupės, n yra skaičius nuo 1 iki 5, o R^2 yra vandenilis arba grupė, aprašoma formule II

35



kurioje X yra $-C(O)-$, $-C(O)O-$, $C(O)NH-$, $S(O)_2$ arba tiesioginis ryšys, Y yra alkileno grupė, turinti nuo 1 iki 4 anglies atomų, arba tiesioginis ryšys, Q yra alkilo, cikloalkilo, alkoksi arba fenilo, piridilo, furanilo, tienilo arba pirazinilo grupė, kuri gali būti pasirinktinai pakeista Z, kur Z - alkilo arba alkoksi grupės, turinčios nuo 1 iki 3 anglies atomų, halogeną, hidroksi, aciloksi, trifluormetilo, nitro, ciano ar alkilsulfonilo grupes, o m - skaičius, nuo 1 iki 3. Be to, kai X yra $-C(O)-$ arba $-C(O)NH-$, Y yra tiesioginis ryšys, o Q yra pakeistas fenilas, Z gali reikšti struktūrą I, kurioje R^2 turi tą pačią reikšmę X, Y ir Q atžvilgiu su sąlyga, kad R^2 nėra vandenilis, alkilo, benzoilo, trifluoracetilo arba pasirinktinai pakeista fenilo grupė, kai R^1 yra metilas arba chloras ir $n=1$, ir R^2 nėra vandenilis arba pasirinktinai pakeista fenilo grupė, kai R^1 yra nitro arba alkoksi grupės, fluoras arba bromas ir $n=1$.

Šie junginiai skiriasi nuo iki šiol žinomų junginių chemine struktūra, nes jie turi kitą pakeistą grupę oksatriazolo žiedo 3 pozicijoje ir/arba 5 pozicijoje. Jie skiriasi nuo junginių, aprašytų anksčiau minėtuose patentuose biologiniu aktyvumu, nes jie inhibuoja trombocitų agregaciją ir atpalaiduoja trachėją.

Taigi šis išradimas taip pat siejamas su farmaciniu preparatu, kuriame aktyvus komponentas yra formule I aprašytas junginys, derinamas su farmaciniu požiūriu priimtiniu nešikliu arba skiedikliu.

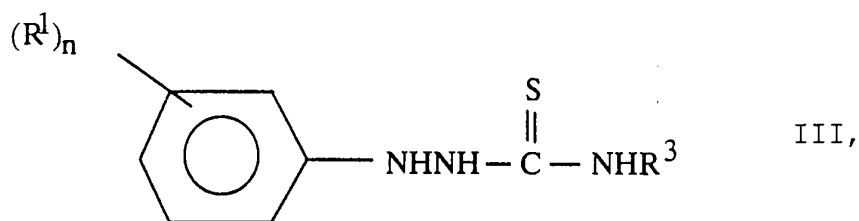
Pirmenybė pagal išradimą teikiama junginiams, aprašomiems bendra formule I, kuriuose n yra nuo 2 iki 4.

Bendroje formulėje II Q pirmiausiai reiškia alkilo ir alkoksi grupes, turinčias nuo 1 iki 6 anglies atomų.

Išradime aprašyti junginiai gali sudaryti druskas su organinėmis arba neorganinėmis rūgštimis. Šiam tikslui tinkamos rūgštys yra, pavyzdžiui, vandenilio chloridas, vandenilio bromidas, fosforo rūgštis, azoto rūgštis, sieros rūgštis, oksalo rūgštis, pieno rūgštis, vyno rūgštis, acto rūgštis, salicilo rūgštis, benzoinė rūgštis, skruzdžių rūgštis, propiono rūgštis, pivalo rūgštis, malono rūgštis, gintaro rūgštis, pimelo rūgštis, fumaro rūgštis, maleino rūgštis, obuolių rūgštis, sulfamino rūgštis, fenilpropiono rūgštis, glukono rūgštis, askorbino rūgštis, izonikotino rūgštis, metansulfoninė rūgštis, p-toluensulfoninė rūgštis, citrinos rūgštis arba adipino rūgštis.

Be to šis išradimas siejamas su 3-pakeistų 1,2,3,4-oksatriazol-5-imino junginių, turinčių bendrą formulę I, ir šių junginių druskų su rūgštimis gamybos procesu, kuri charakterizuoja

a) 1-ariltiosemikarbazido darinio, turinčio bendrą formulę III,



kurioje R^1 turi tą pačią reikšmę, kaip ir formulėje I, o R^3 yra arba H, arba grupė, aprašoma formule IV,



kurioje X yra tiesioginis ryšys, o Y ir $Q-(Z)_m$ turi tą pačią reikšmę, kaip ir formulėje I, žiedo uždarymas, paveikus jį alkilo nitritu, turinčiu nuo 1 iki 6 anglies atomų, arba šarminio metalo nitritu rūgštinėse sąlygose maždaug $0-10^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Po to susidariusi rūgštis gali būti pasirinktinai paversta į laisvą junginį ir, pageidaujant, acilinama.

Būdas, naudojantis alkilnitritą, turintį nuo 1 iki 6 anglies atomų, yra naujas, ir jam teikiama pirmenybė gaminant junginius pagal šį išradimą, nes taip gaunama geresnė kiekybinė išeiga.

Šio išradimo aprašytame procese kaip alkilnitritą, turintį nuo 1 iki 6 anglies atomų, geriausiai naudoti etilo nitritą, o kaip šarminio metalo nitritą - natrio nitritą.

Žinoma, kad 1,4, pozicijose pakeistus tiosemikarbazidus galima ciklinti su nitritine rūgštimi (natrio nitritas ir rūgštis) ir gauti 3-pakeistus 1,2,3,4-oksatriazol-5-iminus. Nurodoma, kad reakcijos išeiga yra nuo 18 iki 57%.

Vieno 1-aril-tiosemikarbazido ekvivalento reakcijai su alkilnitritu, turinčiu nuo 1 iki 6 anglies atomų, geriausiai imti nuo 2 iki 2,5 ekvivalento alkilnitrito tam tinkamame tirpiklyje, tokiam kaip alkilo alkoholyje, turinčiame nuo 1 iki 6 anglies atomų. Gaunama 3-aril-pakeista 1,2,3,4-oksatriazol-5-imino druska su gana gera išeiga. Nufiltravus iškritusią sierą ir išgarinus tirpiklį, produktas, jei reikia, perkristalinamas iš, tarkim, alkilo alkoholio, turinčio nuo 1 iki 6 anglies atomų, acetonitrilo arba nitrometano. Taip gauto gryno produkto išeiga paprastai būna nuo 60 iki 95%.

Kaip alkilo alkoholi, turinti nuo 1 iki 6 anglies atomų, geriausiai naudoti metanoli arba etanoli.

5 Acilintiems junginiams gauti pagal šį išradimą 3-aril-1,2,3,4-oksatriazol-5-imino hidrochloridas ištirpinamas dvifazėje sistemoje iš vandens ir halogeninto angliavandenilio, geriausiai metileno chlorido, ir į mišinį pridedama bazės, tarkim natrio vandenilio karbonato, kiekis, ekvivalentiškas reakcijai, ir
10 acilinimo agentas. Galutinis produktas gaunamas, išgarinus organinę fazę. Jį galima perkristalinti iš alkilo alkoholio, turinčio nuo 1 iki 6 anglies atomų, arba iš acetonitrilo. Šių junginių išeiga paprastai yra nuo 50 iki 95%. Be to acilintus junginius galima gauti
15 ir žinomu būdu, paveikus 3-aril-1,2,3,4-oksatriazol-5-imino junginius acilinimo agentu piridine.

Tinkami acilinimo agentai yra, pavyzdžiui: halogeno ir skruzdžių rūgšties esteriai, rūgštūs chloridai,
20 anhidritai, O-alkilo ir O-arilo esteriai, alkilo ir arilo izocianatai, alkilo ir arilo izotiocianatai.

3-aril-1,2,3,4-oksatriazol-5-iminų 5-iminoalkilinti dariniai pagal šį išradimą geriausiai gaunami iš 1-aril-4-pakeistų-tiosemikarbazidų šiame išradime aprašytu
25 būdu, kaip tirpiklį naudojant C_1 - C_6 -alkilo alkoholi, geriausiai metanoli arba etanoli. Šių junginių išeiga paprastai būna nuo 80 iki 90%.

30 Druskos su rūgštimis paprastai gaunamos iš junginių, aprašytų formule I, kur R^2 yra H, arilas, alkilas arba cikloalkilas. Laisvi junginiai iš druskų su rūgštimis gaunami žinomu būdu, tarkim ištirpinus arba suspendavus jas vandenyje, ir po to veikiant baze, pavyzdžiui
35 natrio hidro karbonatu, iki šarminės reakcijos (geriausiai iki pH 8-9,5).

Reikalingi pradiniai junginiai, aprašyti formule III, gali būti gaunami žinomu būdu. Pradiniai junginiai, aprašyti formule III, kur R^3 yra H, gali būti gaunami, veikiant pakeistą arilhidrazino hidrochloridą šarminiu tiocianatu arba amonio tiocianatu tinkamame tirpiklyje, pavyzdžiui alkoholyje arba vandenyje nuo 6 iki 18 valandų su grįžtamu šaldytuvu, kaip aprašė Houben-Weyl "Methoden der Organischen Chemie E4", p. 513. Pradiniai junginiai, aprašyti formule III, kur R^3 yra alkilas arba arilas, irgi gali būti gaunami žinomu būdu, veikiant arilo hidraziną alkilo arba arilo tiocianatu tinkamame tirpiklyje, pavyzdžiui eteryje, metanolyje, etanolyje, benzole ar toluole, kaip aprašė Houben-Weyl "Methoden der Organischen Chemie E4", p. 506.

PRADINIŲ MEDŽIAGŲ GAVIMAS

1-(3-chlor-2-metilfenil)tiosemikarbazido sintezė

19,3 g (0,1 molio) 3-chlor-2-metilfenilhidrazino hidrochlorido ištirpinta 200 ml absoliutaus etanolio. Tada į tirpalą pridėta 11,64 g (0,12 molio) kalio tiocianato ir mišinys kaitintas 16 valandų su grįžtamu šaldytuvu. Po to mišinys atšaldytas ir, daliai produkto iškritus į nuosėdas, išgarintas rotaciniame garintuve. Produktas perkristalintas iš 200 ml vandens ir 250 ml metanolio, nufiltruotas ir gerai perplautas vandeniu.

Išeiga: 17,8 g = 82,5%

Lydymosi temperatūra 192-193°C

Elementų analizė: $C_8H_{10}ClN_3$

Apskaičiuota, %: C 44,54, H 4,67, N 19,48, S 14,86
Nustatyta, %: C 44,22, H 4,58, N 19,60, S 14,67

500 MHz ^1H BMR (d_6 -DMSO):

5 δ 9,33 (pl s, 1H, NH), δ 7,80 (pl s, 1H, NH), δ 7,72 (pl s, 1H, NH), δ 7,52 (pl s, 1H, NH), δ 6,80 (m, 3H, ArH), δ 2,18 (s, 3H, CH_3).

1-(3-chlor-2-metilfenil)-4-(1-metilpropil) tiosemi-karbazido sintezė

10 Į 1,56 g (10 mmolių) 3-chlor-2-metilfenilhidrazino, ištirpinto 120 ml tolueno, pridėta 1,44 g (10 mmolių) antrinio butilo izotiocianato ir mišinys kaitintas 2 valandas su grįžtamu šaldytuvu, o po to išgarintas. Liekana sumaišyta su nedideliu kiekiu heksano, 15 nufiltruota ir išdžiovinta.

Išeiga: 2,3 g = 96,6%

Lydimosi temperatūra 145-146 $^{\circ}\text{C}$

20

Elementų analizė:

Apsk., %: C 53,02, H 6,67, N 15,46, S 11,79, Cl 13,04

Nust., %: C 53,22, H 6,33, N 15,52, S 11,84, Cl 13,02

25

500 MHz ^1H BMR (CDCl_3):

30 δ 7,48 (s, 1H, NH), δ 6,94 (m, 3H, ArH), δ 6,90 (pl s, 1H, NH), δ 5,92 (s, 1H, NH), δ 4,40 (m, 1H, CH), δ 2,60 (s, 3H, CH_3), δ 1,54 (m, 2H, CH_2), δ 1,18 (d, 3H, CH_3), δ 0,88 (t, 3H, CH_3).

1 pavyzdys

35

3-(3-chlor-2-metilfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-imino hidrochloridas

8,6 g (40 mmolių) 1-(3-chlor-2-metilfenil)tiosemi-
 karbazido ištirpinta 100 ml metanolio ir 5 ml 37%
 druskos rūgšties maišant kambario temperatūroje.
 Mišinys atšaldytas iki 0-5°C ledo vonioje ir tada
 5 mažais kiekiais per maždaug 5 minutes pridėta 6,3 g (7
 ml) etilo nitrito. Mišinys patamsėjo dėl išsiskiriančių
 azoto oksido garų, bet po keletos minučių vėl pasidarė
 šviesus, ir tuo pat metu iškrito sieros nuosėdos.
 Mišinys maišytas 10 min., po to pridėta dar 0,9 g (1
 10 ml) etilo nitrito. Tada reakcijos mišinys paliktas
 maišant 20 min., siera nufiltruota, o filtratas
 išgarintas rotaciniame garintuve (vonios temperatūra
 30°C). Esant reikalui, mišinys buvo dehidruojamas
 garinimo metu su toluenu-etanolio. Kristalai sumaišyti
 15 su dietilo eteriu, nufiltruoti ir perplauti mažu kiekiu
 dietilo eterio.

Išeiga: 9,2 g = 94%

20 Lydymosi temperatūra 194-195°C (skyla)

IR: 1700 cm⁻¹

Elementų analizė: C₈H₇ClN₄O, HCl, 1/4 H₂O

25

Apskaičiuota, %: C 38,19, H 3,41, N 22,28, Cl 28,18

Nustatyta, %: C 38,07, H 3,19, N 22,30, Cl 28,58

500 MHz ¹H BMR (D₂O):

30

δ 7,52 (m, 3H, ArH), δ 2,38 (s, 3H, CH₃)

2-28 pavyzdžiai

35 Tokiu pat būdu, kaip aprašyta 1 pavyzdyje, buvo
 sintezuoti junginiai, pateikti 1 lentelėje.

29 pavyzdys

3-(3-chlor-2-metilfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-iminas

5 1,23 g (5 milimoliai) 3-(3-chlor-2-metilfenil)-1,2,3,4-
oksatriazol-5-imino hidrochlorido, pagaminto 1 pavyz-
dyje, ištirpinta dvifazėje sistemoje, sudarytoje iš 30
ml vandens ir 10 ml dichlormetano. Mišinys ledo vonioje
10 atšaldytas iki 5°C , o po to atsargiai mažomis
porcijomis pridėta 0,84 g (10 milimolių) natrio hidro
karbonato. Pasibaigus anglies dioksido išsiskyrimui,
mišinys energingai maišytas maždaug 10 min., tada
organinė fazė atskirta ir išgarinta.

15 Išeiga: 0,89 g = 84,6%

Lydimosi temperatūra $54-56^{\circ}\text{C}$

Elementų analizė: $\text{C}_8\text{H}_7\text{ClN}_4\text{O}$:

20

Apskaičiuota, %: C 45,62, H 3,35, N 26,60, Cl 16,83

Nustatyta, %: C 45,95, H 3,35, N 26,30, Cl 17,27

Pavyzdys	(R ¹) _n	Išeiğa	Lydimosi temp., °C	IR (KBr) (cm ⁻¹)	UV vanduo/etanolis ^b (nm)
15	4-CH ₃ , 3-Cl	70,7%	174-176	1700 (C-NH-, HCl); 1450, 1350 (CH ₃)	292 ^a
16	2-CH ₃ , 3-F	64,1%	187-188	1730, 1700 (C-NH-, HCl)	290 ^a
17	3-CF ₃ , 5-CF ₃	67,8%	187-188	1710 (C-NH-, HCl); 1330, 1310, 1285 (CF ₃)	
18	3-CF ₃ , 4-Cl	89,2%	200-201	1740, 1700 (C-NH-, HCl); 1320, 1300 (CF ₃)	
19	5-CF ₃ , 2-Cl	82,9%	195-197	1740, 1700 (C-NH-, HCl); 1320, 1300 (CF ₃)	278 ^a
20	5-CH ₃ O, 5-Cl	55,6%	181-182	1710 (C-NH-, HCl); 1010 (OCH ₃)	
21	2-Cl, 3-Cl	47,6%	163-164	1700 (C-NH-, HCl)	290 ^a
22	2-Cl, 4-Cl	70,8%	178-180	1740, 1700 (C-NH-, HCl)	296 ^a
23	2-Cl, 6-Cl	77,3%	122-125	1710 (C-NH-, HCl)	288 ^b
24	3-Cl, 4-Cl	78,7%	183-184	1710 (C-NH-, HCl)	291 ^a
25	3-Cl, 4-F	93,5%	192-194	1690 (C-NH-, HCl)	
26	4-Cl, 2-F	67,5%	174-175	1710, 1690 (C-NH-, HCl)	288 ^a
27	2-F, 3-F, 4-F	93,5%	174-175	1740, 1600 (C-NH-, HCl)	
28	2,3,4,5,6-F	40,1%	142-143	1710 (C-NH-, HCl)	

30 pavyzdys

3-(3-trifluormetilfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-(N-3-trifluormetilbenzilkarbonil)iminas

5

2,26 g (10 milimolių) 3-(3-trifluormetilfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-imino hidrochlorido, pagaminto 3 pavyzdyje, ištirpinta 45 ml vandens, tada atsargiai, mažomis porcijomis pridėta 1,68 g (20 milimolių) natrio hidro karbonato. Po to ant išsikristalinusios laisvos bazės užpilta 20 ml dichlormetano ir mišinys atšaldytas iki 5°C ledo vonioje. Tada į mišinį, energingai maišant, pridėta 2,23 g (10 milimolių) 3-trifluormetilbenzilkarboksilinės rūgšties chlorido. Mišinys maišytas 15 45 min., po to organinė fazė atskirta ir 2 kartus perplauta 30 ml vandens. Metileno chloridas išgarintas rotaciniame garintuve, gauta medžiaga rūpestingai išmaišyta su dietilo eteriu, nufiltruota ir išdžiovinta.

20

Išeiga: 2,98 g = 71,6%

Lydymosi temperatūra 106-108°C

25

IR: 1655 cm⁻¹, 1620-1590 cm⁻¹, 1350-1320 cm⁻¹.

Elementų analizė: C₁₇H₁₀F₆N₄O₂:

Apskaičiuota, %: C 49,04, H 2,42, N 13,46

30

Nustatyta, %: C 48,87, H 2,30, N 13,59

500 MHz ¹H BMR (d₆-DMSO):

δ 8,02 (m, 8H, ArH), δ 3,88 (s, 2H, CH₂)

35

31-45 pavyzdžiai

Tokiu pat būdu, kaip aprašyta 30 pavyzdyje, buvo sintezuoti junginiai, pateikti 2 lentelėje.

5

46 pavyzdys**3-(3-chlor-2-metilfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-(N-2-p-irazinoil)iminas**

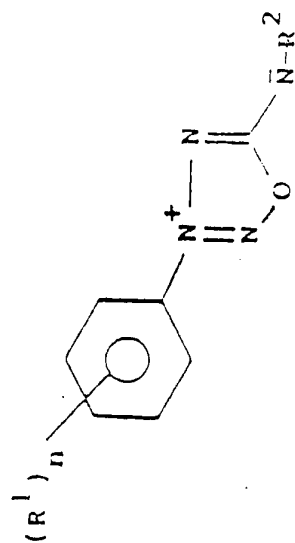
10

2,47 g (10 milimolių) 3-(3-chloro-2-metilfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-imino hidrochlorido, pagaminto 1 pavyzdyje, ištirpinta 30 ml vandens, tada maišant pridėta 2,1 g (25 milimoliai) natrio vandenilio karbonato. Pasibaigus anglies dioksido išsiskyrimui užpilta 30 ml dichlormetano, kuriame iškritusios nuosėdos ištirpo. Tada į mišinį pridėta 2,21 g (10 milimolių) pirazin-2-karboksilinės rūgšties N-hidroksisukcinimido esterio. Mišinys energingai maišytas 16 valandų, o po to atskirta metileno chlorido fazė. Ši fazė du kartus perplauta 30 ml vandens ir išgarinta. Medžiaga sumaišyta su mažu kiekiu dietilo eterio ir nufiltruota.

25 Išeiga: 2,03 g = 64,3%

Lydomosi temperatūra 111-112°C

2 lentelė



Pavyzdys	(R ¹) _n	R ²	Išgaiga	Lydymosi temp., °C	IR (KBr) (cm ⁻¹)	UV (etanolis) (nm)
31	3-CF ₃	CO ₂ C ₂ H ₅	79%	58-60 d	1710-1630 (C-N ⁻ -CO), (esteris) 1330-1300 (CF ₃) 1210 (esteris)	
32	3-CF ₃	COC ₆ H ₁₁	30%	98-101	2940, 2860 (alif.); 1670, 1580 (C-N ⁻ -CO) 1330-1300 (CF ₃)	
33	3-CF ₃	SO ₂ -C ₆ H ₄ -4-CH ₃	40%	148-149	1680-1610, 1160 (C-N ⁻ -SO ₂), 1320 (CF ₃)	
34	3-CF ₃	3-CO-C ₅ H ₄ N	40%	197-198	1650-1580 (C-N ⁻ -CO); 1350-1300 (CF ₃)	
35	4-CF ₃	CO ₂ C ₂ H ₅	54, 3%	162-165	1690-1620 (C-N ⁻ -CO), (esteris); 1310-1290, (CF ₃) 1210, 1175 (esteris)	
36	2-CH ₃ , 3-Cl	COC ₆ H ₁₁	91, 5%	128-130	2940, 2850 (alif.); 1670, 1590 (C-N ⁻ -CO)	
37	2-CH ₃ , 3-Cl	COC ₆ H ₄ -2-Cl	73, 4%	155-156	1650, 1620 (C-N ⁻ -CO)	

Pavyz- dys	(R ¹) _n	R ²	Išei- ga	Lydimosi temp., °C	IR (KBr) (cm ⁻¹)	UV (eta- nolis (nm))
38	2-CH ₃ , 3-Cl	COOC ₆ H ₄ -2- OCOCH ₃	80%	127-128	1770, 1220, 1190 (esteris); 1640 1600-1570 (C-N ⁻ -CO)	
39	2-CH ₃ , 3-Cl	2-CO-C ₄ H ₉ O	85, 6%	139-141	1640, 1590 (C-N ⁻ -CO)	272
40	2-CH ₃ , 3-Cl	2-CO-C ₄ H ₉ S	87, 8%	148-150	1660, 1600 (C-N ⁻ -CO)	272
41	4-CH ₃ , 3-Cl	CO ₂ C ₂ H ₅	65, 1%	166-168	1710, 1685, 1640 (C-N ⁻ -CO), (esteris) 1210 (esteris)	
42	3-Cl, 3-Cl	COOC ₆ H ₄ -3-NO ₂	67, 2%	172-174	1660, 1590 (C-N ⁻ -CO); 1530, 1310 (NO ₂)	
43	2-Cl, 4-Cl	3-CO-C ₅ H ₄ N	53, 6%	158-159	1660, 1580 (C-N ⁻ -CO);	
44	3-Cl, 4-F	CO ₂ C ₂ H ₅	79, 8%	176-178	2980 (alif.) 1700, 1640 (C-N ⁻ -CO), (esteris); 1210 (esteris)	
45	3-F, 3-F, 4-F	CO ₂ C ₂ H ₅	83%	160-161 d	1775, 1710 (C-N ⁻ -CO), esteris	

Elementų analizė: $C_{13}H_9ClN_5O$:

Apskaičiuota, %: C 49,30, H 2,86, N 26,54, Cl 11,19

5 Nustatyta, %: C 49,10, H 2,89, N 26,37, Cl 11,40

500 MHz 1H BMR ($CDCl_3$):

10 δ 9,26 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz, ArH), δ 8,56 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, ArH), δ 8,39 (dd, 1H, $J = 1,5$ Hz ir $J = 2,5$ Hz, ArH), δ 7,21 (m, 3H, ArH), δ 2,58 (s, 3H, CH_3).

47 pavyzdys

15 **3-(2-chlor-3-chlorfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-(N-fenilkarbamoil) iminas**

2,31 g (10 milimolių) 3-(2-chloro-3-chlorfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-imino hidrochlorido, pagaminto 21 pavyzdyje, ištirpinta 30 ml vandens, tada pridėta 0,9 g (10,7 milimolio) natrio vandenilio karbonato. Pasi-
20 baigus anglies dioksido išsiskyrimui užpilta 30 ml dichlormetano ir pridėta 1,2 g (10 milimolių) fenilizociznzo 5 mililitruose dichlormetano. Mišinys
25 energingai maišytas 30 minučių kambario temperatūroje. Produktas dalinai iškrito į nuosėdas. Tada, papildomai pridėjus 50 ml dichlormetano ir 30 ml vandens, fazės atsiskyrė. Dichlormetano fazė perplauta 50 ml vandens ir išgarinta. Medžiaga perkristalinta iš absoliutaus
30 etanolio.

Išeiga: 2,10 g = 60,9%

Lydomosi temperatūra $149-151^{\circ}C$

35

Elementų analizė: $C_{14}H_9Cl_2N_5O_2$:

Apskaičiuota, %: C 48,02, H 2,59, N 20,01, Cl 20,25

Nustatyta, %: C 48,06, H 2,67, N 19,68, Cl 20,17

500 MHz ^1H BMR (CDCl_3):

5

δ 6,69 (m, 3H, ArH), δ 7,58 (br s, 1H, NH), δ 7,19 (m, 5H, ArH).

47a pavyzdys

10

3-(3-chlor-2-metilfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-(N-3,4-dimetoksifeniletilkarbamoil)iminas

15

2,47 g (10 milimolių) 3-(3-chloro-2-metilfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-imino hidroklorido, pagaminto 1 pavyzdyje, ištirpinta 30 ml vandens, tada pridėta 0,9 g (10,7 milimolio) natrio vandenilio karbonato. Pasibaigus anglies dioksido išsiskyrimui užpilta 30 ml dichlormetano ir pridėta 2,1 g (10 milimolių) homoveratrilizociznzo 5 mililitruose dichlormetano. Mišinys energingai maišytas 30 minučių kambario temperatūroje, o po to fazės atskirtos. Metileno chlorido fazė perplauta vandeniu, nufiltruota ir išgarinta. Medžiaga perplauta dietilo eteriu.

25

Išeiga: 3,60 g = 86,12%

Lydimosi temperatūra 148-151°C

30

IR: 1660 cm^{-1} ($\text{N}^+-\text{CO}-\text{NH}$); 1260, 1030 cm^{-1} (OCH_3)

Elementų analizė: $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{ClN}_5\text{O}_4$:

Apskaičiuota, %: C 54,61, H 4,82, N 16,76

35

Nustatyta, %: C 54,22, H 4,67, N 16,72

48 pavyzdys

3-(4-chlor-2-metilfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-(N-4-piridinoil) iminas

5 0,90 g (5 milimoliai) izonikotino rūgšties chlorido pridėta į ledų šaldomą 1,24 g (5 milimoliai) 3-(4-chlor-2-metilfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-imino hidrochlorido, emulsiją 15 ml piridino, pagamintą 13 pavyzdyje.

10

Mišinys maišytas kambario temperatūroje 1 valandą, po to pridėta 20 ml vandens (išsiskiria šiluma). Mišinys atšaldytas ledų, ir medžiaga nufiltruota. Po to medžiaga gerai perplauta vandeniu ir eteriu.

15

Išeiga: 1,35 g = 85,52%

Lydimosi temperatūra 180-184°C

20

Elementų analizė: $C_{14}H_{10}ClN_5O_2$:

Apskaičiuota, %: C 53,36, H 3,20, N 22,13, Cl 11,23

Nustatyta, %: C 53,26, H 3,19, N 22,18, Cl

25

500 MHz 1H BMR (d_6 -DMSO):

δ 8,77 (dd, 2H, PyrH, $J = 6$ Hz, $J = 1,5$ Hz), δ 7,99 (dd, 2H, PyrH, $H = 6$ Hz, $J = 1,5$ Hz), δ 7,77 (d, 1H, ArH, $J = 9$ Hz), δ 7,81 (d, 1H, ArH, $J = 2$ Hz), δ 7,71 (dd, 1H, ArH, $J = 9$ Hz, $J = 2$ Hz)

30

49-59 pavyzdžiai

Tokiu pat būdu, kaip aprašyta 48 pavyzdyje, buvo sintezuoti junginiai, pateikti 3 lentelėje.

35

60 pavyzdys

3-(3-chlor-2-metilfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-(N-1-metilpropil)imino hidrochloridas

5 1,5 g (20 milimolių) etilo nitrito pridėta lašais per 5 minutes į ledų šaldomą 2,16 g (8 milimoliai) 1-(3-chlor-2-metilfenil)-4-(1-metilpropil)tiosemikarbazido ir 2 ml 37% druskos rūgšties tirpalo 80 ml etanolio mišinį. Tuoju po to siera pradėjo kristi į nuosėdas.
10 Tada mišinys maišytas 1 valandą, siera nufiltruota ir mišinys išgarintas. Po to pridėta eterio (apie 50 ml), ir medžiaga po truputį pradėjo kristalintis. Kristalai nufiltruoti ir išdžiovinti.

15 Išeiga: 2,00 g = 93,73%

Lydimosi temperatūra 151-153°C

Elementų analizė: $C_{12}H_{15}ClN_4O$, HCl, 1/4 H_2O :

20

Apskaičiuota, %: C 47,54, H 5,32, N 18,48, Cl 23,48

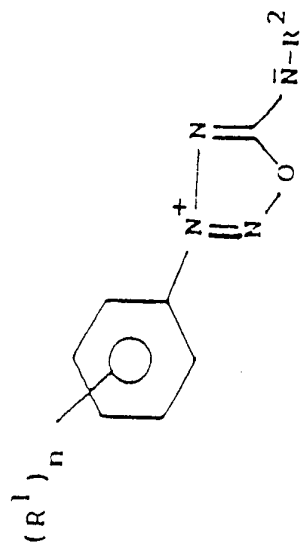
Nustatyta, %: C 46,91, H 5,34, N 18,17, Cl 23,45

500 MHz 1H BMR (d_6 -DMSO):

25

δ 7,84 (m, 3H, ArH), δ 3,77 (m, 1H, CH), δ 1,69 (m, 2H, CH_2), δ 1,33 (d, 3H, CH_3), δ 0,96 (t, 3H, CH_3).

3 lentelė



Pavyzdys	(R ¹) _n	R ²	Išeiiga	Lydimosi temp., °C	IR (KBr) (cm ⁻¹)	UV (eta-nolis (m))
49	3-CF ₃	CO ₂ CH ₂ C ₆ H ₅	30%	136-137	1710, 1210 (esteris) 1630 (C-N ⁻ -CO); 1340-1310 (CF ₃)	
50	3-CF ₃	4-CO-C ₅ H ₄ N	48%	166-167	1670-1580 (C-N ⁻ -CO) 1350-1300 (CF ₃)	
51	2-CH ₃ , 3-Cl	SO ₂ CH ₃	86%	165-167	1640, 1310, 1150 (C-N ⁻ -SO ₂)	
52	2-CH ₃ , 3-Cl	SO ₂ C ₆ H ₄ -CH ₃	86, 1%	172-173	1670, 1630, 1320, 1170 (C-N ⁻ -SO ₂)	
53	2-CH ₃ , 3-Cl	COC ₆ H ₄ -4-OCH ₃	98, 3%	122-123	1660, 1600, (C-N ⁻ -CO), 1250, 1010 (OCH ₃)	273
54	2-CH ₃ , 3-Cl	3-CO-C ₅ H ₄ N	69%	82-84	1660, 1580, (C-N ⁻ -CO)	
55	2-CH ₃ , 3-Cl	3-CO-C ₅ H ₃ N-5-Br	92%	149-150	1670-1580, (C-N ⁻ -CO)	

Pavyzdys	(R ¹) _n	R ²	Išeiğa	Lydimosi temp., °C	IR (KBr) (cm ⁻¹)	UV (etanolis) (nm)
56	2-CH ₃ , 3-Cl	4-CO-C ₅ H ₄ N	69, 7%	122-123	1660-1590, (C-N ⁻ -CO)	
57	4-CH ₃ , 3-Cl	3-CO-C ₅ H ₄ N	36, 3%	142-144	1650, 1610, 1585 (C-N ⁻ -CO)	279
58	2-CH ₃ O, 5-Cl	4-CO-C ₅ H ₄ N	50, 2%	157-158	1655, 1590, (C-N ⁻ -CO), 1010 (OCH ₃)	269
59	2-CH ₃ O, 5-Cl	2-CO-CH ₂ C ₄ H ₃ S	46, 9%	89-91 d	1675, 1630 (C-N ⁻ -CO)	

62-63 pavyzdžiai

Tokiu pat būdu, kaip aprašyta 60 pavyzdyje, buvo sintezuoti junginiai, pateikti 4 lentelėje.

5

64 pavyzdys**3-(3-chlor-2-metilfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-(N-3-metoksipropil)imino hidrochloridas**

10

1,15 g (4 milimoliai) 3-(3-chlor-2-metilfenil)-4-(3-metoksipropil)tiosemikarbazido suspenduota 40 ml 96% etanolio ir 1 ml koncentruotos druskos rūgšties. Mišinys atšaldytas ledu ir į jį pridėta lašais 0,55 g (8 milimoliai) natrio nitrito, ištirpinto 2 ml vandens. Suspensija ištirpo ir po kiek laiko prasidėjo sieros kritimas į nuosėdas. Tada mišinys vėl maišytas 1 valandą, o po to nufiltruotas. Mišinys išgarintas maksimalioje 30°C temperatūroje, o po to paeiliui pridėta 10 ml etanolio ir 50 ml eterio. Iškritusi į nuosėdas medžiaga nufiltruota ir išdžiovinta.

15

20

Išeiga: 1,0 g = 78%

25

Lydimosi temperatūra 133,1-133,3°C

IR (KBr) (cm⁻¹): 3000-2700 (alifatinis); 1710 (C-N⁻-C, HCl); 1085 (OCH₃).

30

64 pavyzdys**3-(3-chlor-2-metilfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-(N-3-metoksipropil)imino hidrochloridas**

35

1,15 g (4 milimoliai) 1-(3-chlor-2-metilfenil)-4-(3-metoksipropil)tiosemikarbazido suspenduota 40 mililitrų 96% etanolio ir 1 ml koncentruotos druskos rūgšties.

Mišinys atšaldytas ledo vonioje ir į jį lašais pridėta 0,55 g (8 milimoliai) natrio nitrito tirpalo 2 mililitruose vandens. Suspensija ištirpo, o po to pradėjo kristi sieros nuosėdos. Tada mišinys maišytas 1 valandą, o po to nufiltruotas. Mišinys išgarintas maksimalioje 30°C temperatūroje, o tada vienas po kito pridėta 10 ml etanolio ir 50 ml eterio. Medžiaga iškrito į nuosėdas. Gautas produktas nufiltruotas ir išdžiovintas.

10

Išeiga: 1,0 g = 78%

Lydimosi temperatūra 133,1-133,3°C

IR (KBr) (cm^{-1}): 3000-2700 (alifatinis); 1710 (C-N-C, HCl); 1085 (OCH_3).

15

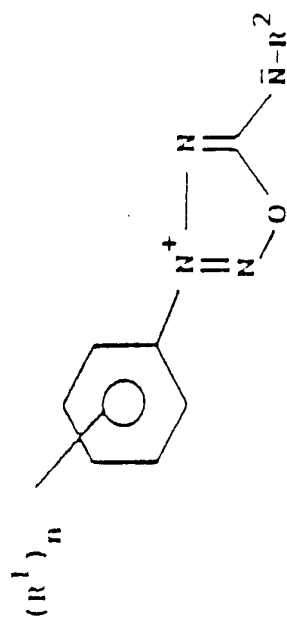
65 pavyzdys

3-(4-metilsulfonilfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-imino hidrochloridas

20

4,66 g (25 milimolių) 4-metilsulfonilfenil-hidrazino tirpalas 100 ml sauso tetrahidrofurano pridėtas 0°C temperatūroje į 1,32 g (12,5 milimolio) cianogeno bromido tirpalą 10 ml eterio. Šaltas mišinys maišytas 1 valandą, tada nufiltruotas ir perplautas sausu eteriu. Filtratas atšaldytas iki temperatūros nuo -20 iki -40°C, o po to 45 minutes pūstas azoto oksidas.

25



Pavyzdys	(R¹) _n	R²	Išeiga	Lydimosi temp., °C	IR (KBr) (cm⁻¹)
62	CH₃, 3-Cl	C₆H₄-4-CH₃, HCl	84,3%	150-160	1680 (C-N⁺-C, HCl); 1460, 1380 (alif.)
63	CH₃, 3-Cl	C₆H₁₁, HCl	57%	164-166	3000-2700 (alif.); 1695 (C-N⁺-C, HCl)

Tada į mišinį pridėta etanolio-druskos rūgšties perteklius, ir mišinys maišytas 5°C temperatūroje 4 valandas. Susidarę kristalai nufiltruoti ir perkristalinti iš etanolio.

5

Išeiga: 1,20 g = 35%

Lydymosi temperatūra 193-195°C

10 IR ir UV analizės rezultatai tokie patys, kaip ir 10 pavyzdyje gauto junginio.

66 pavyzdys

15 **1,2-bis(3-(3-chlor-2-metilfenil)-1,2,3,4-oksatriazolil-5-karbamoil)benzolas**

4,94 g (20 milimolių) 3-(3-chlor-2-metilfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-imino hidroklorido, pagaminto 1 pavyzdyje, ištirpinta 60 mililitrų vandens, tada maišant pridėta 3,78 g (45 milimoliai) natrio vandenilio karbonato. Pasibaigus anglies dioksido išsiskyrimui, pridėta 60 ml dichlormetano. Iškritusi į nuosėdas medžiaga ištirpo. Tada į mišinį pridėta 2,13 g (10 milimolių) ftalilchlorido. Mišinys maišytas 45 min. kambario temperatūroje, o po to metileno chlorido fazė atskirta. Ji du kartus perplauta 60 ml vandens ir išgarinta. Medžiaga išmaišyta su mažu kiekiu dimetilo eterio ir nufiltruota.

25
30

Išeiga: 3,53 g = 64,1%

Lydymosi temperatūra 176-178°C

35 IR: 1685 cm⁻¹ platus. (C-N-CO)

Elementų analizė: C₂₄H₁₆Cl₂N₂O₄:

Apskaičiuota, %: C 52,28, H 2,93, N 20,32, Cl 12,86

Nustatyta, %: C 51,87, H 3,17, N 20,02, Cl 12,55

5 **67 pavyzdys**

1,4-bis(3-(3-chlor-2-metilfenil)-1,2,3,4-oksatriazolil-5-karbamoilamino)benzolas

10 3,40 g (13,4 milimolių) 3-(3-chloro-2-metilfenil)-
1,2,3,4-oksatriazol-5-imino hidrochlorido, pagaminto 1
pavyzdyje, ištirpinta 50 mililitrų vandens, tada
maišant pridėta 2,25 g (26,8 milimolio) natrio
vandenilio karbonato. Pasibaigus anglies dioksido
15 išsiskyrimui, pridėta 50 ml dichlormetano. Iškritusi į
nuosėdas medžiaga ištirpo. Tada į mišinį pridėta 1,1 g
(6,9 milimolio) 1,4-fenilendiizocianato 20 ml metileno
chlorido. Mišinys maišytas 60 min. kambario
temperatūroje, o po to metileno chlorido fazė atskirta.
20 Ši fazė du kartus perplauta 50 ml vandens ir išgarinta.
Medžiaga išmaišyta su mažu kiekiu dimetilo eterio ir
nufiltruota.

Išeiga: 3,02 g = 78,5%

25

Lydimosi temperatūra 200-201°C

IR: 1660 cm⁻¹, (N-CO-NH)

30

Elementų analizė: C₂₄H₁₈Cl₂N₁₀O₄:

Apskaičiuota, %: C 49,53, H 3,12, N 24,10, Cl 12,20

Nustatyta, %: 49,52, H 3,10, N 23,33, Cl 12,50

35

68 pavyzdys

1-(3-chlor-2-metilfenil)-1,2,3,4-oksatriazolil-5-(N-1-adamantil)imino hidrochloridas

5,1 g (14,6 milimolio) 1-(3-chloro-2-metilfenil)-4-(1-admantil)-tiosemikarbazido ištirpinta 1,5 l metanolio ir 1,5 l koncentruotos druskos rūgšties. Mišinys atšaldytas ledu ir į jį pridėta 1,26 ml (30 milimolių) etilo nitrito. Po to mišinys vėl maišytas 2 val. kambario temperatūroje. Tada drumstas tirpalas nufiltruotas ir išgarintas. Medžiaga išsikristalino, pabuvusi keletą valandų dietilo eterio su mažo etanolio priedu. Medžiaga nufiltruota ir perplauta eteriu.

Išeiga: 2,9 g = 52,1%

Lydymosi temperatūra 204,3-204,8°C

Elementų analizė: $C_{18}H_{21}ClN_4O_5 \cdot HCl$

Apskaičiuota, %: C 56,79, H 5,82, N 14,69

Nustatyta, %: C 55,18, H 5,80, N 14,17

IR: 2910 cm^{-1} , 2860 cm^{-1} (alifatinis); 1695 cm^{-1} (C-N-C, HCl)

69 pavyzdys

1-(3-chlor-2-metilfenil)-1,2,3,4-oksatriazolil-5-(N-3-hidroksifenilkarbamoil)iminas

2,47 g (10 milimolių) 3-(3-chloro-2-metilfenil)-1,2,3,4-oksatriazol-5-imino hidrochlorido, pagaminto 1 pavyzdyje, ištirpinta 30 mililitrų vandens, tada maišant pridėta 0,9 g (10,7 milimolio) natrio vandenilio karbonato. Pasibaigus anglies dioksido išsiskyrimui, intensyviai maišant pridėtas 3-hidroksi-

fenilizocianatas 30 ml toluolo. Mišinys toliau maišytas 30 min., ir tuo metu iškrito į nuosėdas geltona medžiaga. Medžiaga nufiltruota, du kartus perplauta etanoliu ir vieną kartą dietilo eteriu.

5

Išeiga: 1,1, g = 31,8%

Lydimosi temperatūra 164-165°C

10 Elementų analizė: $C_{15}H_{12}ClN_5O_3$:

Apskaičiuota, %: C 52,11, H 3,50, N 20,26

Nustatyta, %: C 51,37, H 3,42, N 19,36

15 IR: 1630 cm^{-1} (N-CO-NH), 1620 cm^{-1} , 1210 cm^{-1} (Ar-OH)

FARMAKOLOGINIAI BANDYMAI

1. Trombocitų agregacijos inhibavimas

20

Pagal šią išradimą gauti junginiai buvo išbandyti, kaip jie inhibuoja trombocitų (kraujo plokštelių) krešėjimą (agregaciją), kuris yra pirmoji kraujo krešulių (trombų) susidarymo fazė. Tokia inhibicija gali sukliudyti trombų susidarymą bei stabdyti naujų trombų atsiradimą, diagnozavus trombozę.

25

Inhibavimo aktyvumą galima pademonstruoti taip vadinamu agregometriniu bandymu, kurį pirmą kartą aprašė Born (Nature (Lond.) 194, 927-929, 1962). Naudojamas citratu stabilizuotas (galutinė koncentracija 0,38% natrio citrato) venos kraujas, paimtas iš sveiko donoro, kuris ne mažiau kaip 8 paskutines dienas nenaudojo vaistų. Po menko centrifūgavimo ($160 \times g$ 10 minučių) gaunamas PRP (kraujo plazma, turtinga trombocitais), kuri ištraukiama pipete. PPP (kraujo plazma, neturtinga trombocitais) gaunama po intensyvaus likusio kraujo

30

35

centrifūgavimo (3000 x g 10 minučių). Laidumas šviesai matuojamas agregometru (CHRONOLOG). PRP beveik nepraleidžia šviesos, o PPP praleidžia praktiškai visą šviesą. Magnetinė maišykle maišoma 37°C temperatūros PRP dedama į agregometrą. Pridėjus agregaciją skatinančios medžiagos, PRP palaipsniui pradeda krešėti, ir tuo metu didėja jos laidumas šviesai. Pasibaigus krešėjimui (visiška agregacija), laidumas šviesai pasidaro toks pat, kaip ir PPP. Kaip agregaciją skatinanti medžiaga naudojamas adenozino difosfatas (ADP), nes ši medžiaga yra esminis biocheminio trombocitų agregacijos mechanizmo komponentas. Bandoma medžiaga 3 minutes inkubuojama agregometre 37°C temperatūroje magnetinė maišykle maišomoje PRP. Tada pridedama nustatyta dozė adenozino difosfato (ADP) (nuo 2 iki 4 μM), pozityviai sukelianti agregaciją. Kad būtų galima nustatyti agregacijos inhibavimo priklausomybę nuo medžiagos kiekio, bandymai atliekami su ne mažiau kaip trimis bandomos medžiagos koncentracijomis. Tiesinės regresinės analizės metodu (ant abscisės atidedamas kaip konstanta koncentracijos (μM) logaritmas, o ant ordinatės - inhibavimo procentas kaip kintamoji) kiekvienai bandomai medžiagai apskaičiuojama taip vadinama IC_{50} reikšmė (koncentracija, inhibuojanti agregaciją 50 %, palyginus su kontroline agregacija). Palyginimui buvo naudojamos tokios žinomos inhibuojančios medžiagos: nitroglicerinas (GTN), natrio nitroprusidas (NNP) ir SIN-1 (aktyvus molsidomino metabolitas).

Bandymų su aštuoniais pagal šį išradimą gautais junginiais ir trimis palyginimo medžiagomis pateikti 5 lentelėje.

5 lentelėje pateikti duomenys rodo, kad pagal šį išradimą gauti junginiai veikia gerokai geriau, negu

geriausiai veikiančios palyginimo medžiagos. Nitroglicerinas šiame bandyme buvo neaktyvus.

5 **2. Kraujo trombocitų plasminogeno aktyvatoriaus inhibitoriaus (PAI) inhibavimas - (fibrinolitinis aktyvumas)**

10 Pagal šią išradimą gauti junginiai buvo išbandyti, kaip jie inhibuoja plasminogeno aktyvatoriaus inhibitorių (PAI). Susiformavęs trombas yra sudarytas iš agreguotų trombocitų, surištų fibrinu. Organizmas turi fibrinolitinę sistemą, kuri palaiko normalias fiziologines sąlygas. Audinių plasminogeno aktyvatorius (t-PA) aktyvuoja endogeninį plasminogeną į plazminą (fibrinolizina, kuris yra proteolitinis enzimas, skaldantis 15 fibriną). Trombocituose yra enzimo PAI-1, inhibuojančio plasminogeno aktyvaciją į plazminą, taigi ir fibrino skaldymą.

20 Bendra fibrinolitinės sistemos stimuliacija gali sukelti rimtą hemostatinį pašalinį poveikį (kraujo plūdį). Specifinis PAI-1 inhibavimas skatina fibrinolizės aktyvumo padidėjimą tose vietose, kur yra daug trombocitų, o būtent taip yra trombuose. Tuo būdu gaunamas trombolitinis efektas.

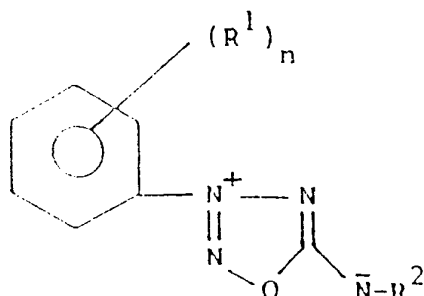
25 PAI-1 inhibavimo demonstracijos metodą aprašė Lidbury ir kt. (Brit. J Pharmacol 101, 527-530, 1990). Žmogaus PRP, paruošta menko centrifūgavimo būdu, kaip aprašyta anksčiau, tačiau žemoje temperatūroje (4°C). Inkubavus 30 PRP (1 ml plastmasiniame mėgintuvėlyje) 37°C temperatūroje ir lengvai purtant, PAI-1 tampa aktyvus. Šis PAI-1 aktyvumas matuojamas spektrofotometriškai dviejų stadijų metodu su komercine aparatūra (Švedijos firmos BIOPOOL "SpectrolyseTM/fibrin" komplektas).

5 lentelė.

Kraujo trombocitų agregacijos inhibavimas

5

10



	(R¹) _n	R²	IC ₅₀ , μM
GTN			100
NNP			2,7
SIN-1			3,9
Pvz. Nr.			
7	3-ciano	H, HCl	0,10
1	2-metil, 3-chlor	H, HCl	0,32
13	2-metil, 4-chlor	H, HCl	0,20
18	3-trifluormetil, 4-chlor	H, HCl	0,54
20	2-metoksi, 5-chlor	H, HCl	0,18
34	3-trifluormetil	nikotinoil	0,19
50	3-trifluormetil	izonikotinoil	0,09
38	2-metil, 3-chlor	acetilsalicil	0,20

PAI-1 aktyvumas kontroliniame PRP bandinyje ir PRP bandiniuose, inkubuotose su 6 pagal šią išradimą gautais junginiais bei palyginama medžiaga natrio nitroprusidu (NNP) (po 50 μM kiekvieno, 60 minučių) pateiktas 6 lentelėje. Šioje lentelėje pateiktos ir PAI-1 inhibavimo dalys (procentais), palyginus su inhibavimu kontroliniuose bandiniuose.

20

6 lentelėje pateikti duomenys rodo, kad visi pagal šią išradimą gauti junginiai yra aktyvūs PAI-1 išsiskyrimo iš trombocitų inhibitoriai. Jų galia yra panaši į natrio nitroprusido (NNP) galia.

3. Trombocitų guanilato ciklazės stimuliacija

Pagal šį išradimą gauti junginiai buvo išbandyti, kaip jie stimuliuoja guanilato ciklazę. NO (azoto monoksido) aktyvumas įvairiose ląstelėse (pavyzdžiui, trombocituose ir polimorfiniuose nukleariniuose leukocituose) pasireiškia per tirpaus enzimo guanilato ciklazės stimuliaciją. Stimuliacijos metu susidaro ciklinis guanozino monofosfatas (c-GMP). Visi pagal šį išradimą gauti junginiai yra NO donorai. Ciklinio guanozino monofosfato koncentracijos padidėjimas trombocituose sumažina jų agregacijos ir prikibimo prie kraujo indų sienelių gebą.

6 lentelė.

PAI-1 aktyvumo inhibavimas

Medžiaga (50 μ M)	PAI-1 aktyvumas (U/105 trombocitų)	Inhibavimo %
Kontrolė	3,24	
Natrio nitroprusidas (NNP)	1,99	39
Pavyzdžio Nr.		
8	1,83	44
24	2,14	34
20	2,09	35
12	2,04	37
18	1,93	40
1/29 (bazė)	1,97	39

20

Guanilato ciklazės stimuliacijos demonstravimo metodą aprašė Axelsson ir Andersson (European J. Pharmacol. 88, 71-79, 1983). Žmogaus trombocitai homogenizuojami ir centrifuguojami ledu šaldomoje terpėje. Guanilato ciklazės aktyvumas viršutiniame sluoksnyje, inkubavus

25

ji su bandoma medžiaga ir be jos 15 min. 37°C temperatūroje, nustatomas radioimuninio bandymo (RIA) metodu. Matavimo principas yra tai, kad pastovus guanozino trifosfato (GTP) kiekis, pridėtas kaip
 5 guanilato ciklazė, paverčiamas cikliniu guanozino monofosfatu (c-GMP) ir nustatomas radioimuniniu bandymu.

Išbandyta 11 pagal šią išradimą gautų junginių bei
 10 natrio nitroprusidas (NNP) ir SIN-1 (koncentracijos 0,01 μM, 0,1 μM, 1,0 μM ir 10 μM). Nustatyta visų medžiagų sąlygojama guanilato ciklazės aktyvumo stimuliacijos priklausomybė nuo dozės.

15 7 lentelėje parodyta 0,01 μM ir 10 μM koncentracijų sukeliamą stimuliaciją. Net ir labai mažos pagal šią išradimą gautų junginių koncentracijos stimuliuoja guanilato ciklazės aktyvumą. Tokios pat mažos natrio nitroprusido (NNP) ir SIN-1 koncentracijos aktyvumo
 20 nestimuliuoja.

4. Trachėjos atpalaidavimo (relaksacijos) efektas

Pagal šią išradimą gauti junginiai buvo išbandyti, kaip
 25 jie atpalaiduoja susitraukusią trachėją. Kvėpavimo kanalų susitraukimas kartu su gleivėtos membranos patinimu yra lemiamas faktorius astmos atveju. Susitraukusių kvėpavimo kanalų atsipalaidavimas arba išsiplėtimas pataiso astmatinę būklę.

30 Susitraukusios trachėjos atpalaidavimo demonstracijos metodą aprašė Emmerson ir MacKay (J. Pharm. Pharmacol. 31, 798, 1979). Naudojama izoliuota jūrų kiaulytės trachėja. Paruošus apvalią muskulatūrą turinčią
 35 atraižą, organas padalijamas į dvi vienodo dydžio dalis. Abi trachėjos atraižos panardinamos į atskiras voneles ir prijungiamos prie daviklio, fiksuojančio

saviraštyje organo susitraukimą ir atsipalaidavimą. Abi trachėjos atraižos visą laiką panardintos 37°C temperatūros Krebso buferyje, per kurį burbuliuojamas karbogenas (95% O₂ ir 5% CO₂). Kai maždaug po 3 valandų nusistovi pusiausvyra, bandomas organų jautrumas (kontraktilumas), pridėjus į vonią karbamilcholino a bolus (0,3 μM). Jei susitraukimas patenkinamas, organai perkeliami į Krebso buferį su tokia pat karbamilcholino koncentracija. Dabar organai visą laiką yra karbamilcholino aplinkoje, ir juos po truputį apima nuolatinis traukulys ("astma"). Bandomos medžiagos in bolus formoje pridedamos tiesiai į vonią su organu. Pasiekus maksimalų relaksacijos efektą, medžiagos pašalinamos (nuplaunamos), ir trachėjos atraižos grįžta į nuolatinio susitraukimo būklę. Kad būtų galima parodyti organo atsipalaidavimo priklausomybę nuo koncentracijos, bandymai atliekami bent su trimis skirtingomis koncentracijomis. Kiekvienai bandomai medžiagai tiesinės regresijos būdu (ant abscisės atidedamas kaip konstanta koncentracijos (μM) logaritmas, o ant ordinatės - atpalaidavimo procentas kaip kintamoji) apskaičiuojama EC₅₀ reikšmė (koncentracija, atpalaiduojanti organą 50%, palyginus su didžiausiu atsipalaidavimu). Kaip palyginimo medžiagos naudoti natrio nitroprusidas (NNP) ir SIN-1.

7 lentelė.

Guanilato ciklazės aktyvacija trombocituose

Medžiaga	Guanilato ciklazės aktyvumas (pmoliai c-GMP/mg prot. x 15 min.)	
	0,01 μ M	10 μ M
Natrio nitroprusidas (NNP)	0	3399
SIN-1	0	59733
2 pavyzdys	411	37920
8 pavyzdys	897	64192
24 pavyzdys	2374	59716
20 pavyzdys	2225	47298
3 pavyzdys	2499	47529
23 pavyzdys	383	76915
1/29 pavyzdys (bazė)	4407	61900
54 pavyzdys	8139	18693
38 pavyzdys	1024	82100
13 pavyzdys	7642	48126
63 pavyzdys	1761	72730

5

Rezultatai su 8 junginiais, gautais pagal šį išradimą, ir dviem palyginimo medžiagomis pateikti 8 lentelėje.

10

8 lentelė.

Trachėjos atsipalaidavimas

Medžiaga	EC ₅₀ , μ M
Natrio nitroprusidas (NNP)	2,5
SIN-1	18,3
Pavyzdys:	
53	0,7
20	2,7
12	4,9
1/29 (bazė)	0,8

54	0,6
38	3,2
13	1,1
47a	5,2

8 lentelėje pateikti rezultatai rodo, kad pagal šią išradimą gautų junginių galia atpalaiduoti susitraukusią trachėjos atraižą yra tokia pat, kaip ir NNP, ir didesnė, negu SIN-1. Reikia pabrėžti, kad pagal šią išradimą gauti junginiai pasižymi daug ilgesniu veikimu, negu palyginimo medžiagos.

5. Leukocitų funkcijos inhibicija

Buvo išbandyta pagal šią išradimą gautų junginių geba padidinti ciklinio guanozino monofosfato (c-GMP) koncentraciją, inhibuoti leukotrieno B_4 (LTB_4) sintezę ir inhibuoti chemotaktinį polimorfinių nuklearinių leukocitų (PNM) judėjimą. Polimorfiniai nukleariniai leukocitai vaidina esminį vaidmenį uždegimo proceso ląsteliniam mechanizme. Tokių ligų kaip astma atveju kvėpavimo takų gleivinė membrana nuo uždegimo patinsta, ir pasireiškia pastebima polimorfinių leukocitų infiltracija. Astmą ypač efektyviai gydo tokios medžiagos, kurios ne tik atpalaiduoja kvėpavimo takų muskulatūrą, bet ir slopina uždegimo procesą ląstelių fazėje, t.y. inhibuoja leukocitų funkciją. Leukocitų funkcijos inhibicijos demonstravimo metodą aprašė Moilanen ir kt. (Abstracts, 2nd International Symposium on Endothelium Derived Vasoactive Factors, Vasoactive, Basel, 1992). Izoluoti žmogaus PMN inkubuojami 37°C temperatūroje 10 min., o po to matuojama ciklinio guanozino monofosfato (c-GMP) koncentracija. Tada, nustatčius FMLP (medžiaga, pritraukianti polimorfinius nuklearinius leukocitus, PMN) stimuliaciją Ca^{2+} -jonoforu (A23187) ir chemotaksija (kontroliuojamu judėjimu), nustatoma LTB_4 sintezė.

Buvo išbandyta trijų pagal šį išradimą gautų junginių ir palyginimo medžiagos SIN-1 geba stimuliuoti ciklinio guanozino monofosfato koncentraciją.

5

9 lentelėje parodyta c-GMP ir PMN koncentracijos padidėjimo priklausomybė nuo dozės. Pagal šį išradimą gautų junginių geba yra didesnė, negu SIN-1.

10 **9 lentelė.**

c-GMP stimuliacija polimorfiniuose branduoliniuose leukocituose

Medžiaga	Koncentracija, μM	c-GMP, fmoliai*/106 ląstelių
SIN-1	0	14
	1	32
	10	220
	100	473
24 pavyzdys	0	13
	1	391
	10	965
	100	1078
20 pavyzdys	0	13
	1	175
	10	492
	100	866
1/29 pavyzdys (bazė)	0	14
	1	209
	10	859
	100	1044

15 *f = 10⁻¹⁵

Be to pagal šį išradimą gauti junginiai inhibuoja leukotrieno B₄ sintezę polimorfiniuose branduoliniuose leukocituose ir PMN chemotaksiją į FMLP. SIN-1 irgi

galėjo inhibuoti šias leukocitų funkcijas, tačiau tik tada, kai jo koncentracijos didesnės.

Trumpas figūrų aprašymas

5

Fig. 1 parodyta, kaip du pagal šį išradimą gauti junginiai inhibuoja chemotaksiją.

10

Fig. 2 parodyta, kaip vienas pagal šį išradimą gautas junginys inhibuoja leukotrieno B_4 sintezę, palyginus su c-GMP padidėjimu polimorfiniuose branduoliniuose leukocituose (PMN).

15

Atrodo, kad galimas ryšys tarp ciklinio guanozino monofosfato (c-GMP) koncentracijos padidėjimo, LTB_4 sintezės sumažėjimo ir chemotaktinio PMN judėjimo.

TOKSIŠKUMO BANDYMAI

20

Buvo atlikti du bandymai su vyriškos lyties žiurkėmis - "maksimalios toleruojamos dozės" (MTD) nustatymas ir bandymas su daugkartinėmis peroralinėmis dozėmis. Be to buvo atliktas LD_{50} intraveninis bandymas pelėms.

25

1. Maksimalios toleruojamos dozės nustatymas

30

MTD bandymuose dešimčiai gyvulių savaitę laiko buvo duodama medžiagos dozė kartą per dieną. Tuo metu buvo registruojami klinikiniai ir hematologiniai parametrai. Jei nebuvo pastebimas joks pašalinis poveikis, kitą savaitę dozė būdavo padidinama, kol pasirodydavo šalutinis poveikis. Buvo matuojami tokie hematologiniai parametrai: raudonųjų ir baltųjų kraujo kūnelių kiekis, trombocitų kiekis, hemoglobino koncentracija, hematokritas, o taip pat ir raudonųjų kraujo kūnelių vidutinis ląstelių tūris, vidutinis ląstelių hemoglobino kiekis ir vidutinė hemoglobino

35

koncentracija ląstelėje. Baltieji kraujo kūneliai buvo skaičiuojami diferencijuotai.

Bandymo rezultatai pateikti 10 lentelėje.

5

10 lentelė

Pavyz- dys	Dozė, mg/kg	Klinikiniai stebėjimai*	Hematologiniai parametrai*	Svorio padidėjimas*
MTD tyrimas i.p.				
1	10	N.Y.	N.Y.	N.Y.
	20	poveikis CNS	padaugėjo neutrofi- linių granulocitų su toksine granuliacija	N.Y. sumažėjo
MTD tyrimas p.o.				
1	10	N.Y.	N.Y.	N.Y.
	20	N.Y.	N.Y.	N.Y.
	40	N.Y.	Sumažėjo RKK ₁ Sumažėjo HGB ₂ Padaugėjo BKK ₃	N.Y.

* įvertinta, palyginus su kontroline grupe

N.Y. - nieko ypatingo

10

¹ raudonieji kraujo kūneliai

² hemoglobino koncentracija

³ baltieji kraujo kūneliai

15

Junginys, paruoštas 1 pavyzdyje, intraperitoniškai duodamas žiurkėms, buvo toleruojamas tik su labai menku pašaliniu poveikiu iki 20 mg/kg (MTD). Žymiausias 20 mg/kg koncentracijos efektas buvo praeinantis poveikis CNS, kai gyvuliai, praėjus kelioms minutėms po medžiagos suleidimo, atrodė nervingi ir hiperaktyvūs, o baltuosiuose kraujo kūneliuose pasirodė toksinės reakcijos žymės (padidėjęs neurofilinių granulocitų kiekis ir toksinė granuliacija kai kuriose ląstelėse).

20

Atitinkama MTD reikšmė, kai medžiaga duodama perorališkai, buvo 40 mg/kg. Gavus šią dozę, po savaitės pasirodydavo anemijos ženklai ir padidėdavo baltųjų kraujo kūnelių kiekis.

5

2. Daugkartinė peroralinė dozė

Šio bandymo metu medžiagos dozė 20 mg/kg buvo duodama 5 gyvulių grupei penkias dienas per os vieną kartą per dieną. Klinikiniai stebėjimai buvo atliekami kiekvieną dieną, o anksčiau minėti hematologiniai parametrai matuojami trečiąją bandymo dieną. Rezultatai pateikti 11 lentelėje.

15

11 lentelė

Pavyzdys	Dozė, mg/kg	Klinikiniai stebėjimai*	Hematologiniai parametrai*	Svorio padidėjimas*
Davimas per os 5 dienas				
21	20	N.Y.	N.Y.	N.Y.
26	20	N.Y.	N.Y.	N.Y.
43	20	N.Y.	N.Y.	N.Y.
38	20	N.Y.	N.Y.	N.Y.
50	20	N.Y.	N.Y.	N.Y.

* įvertinta, palyginus su kontroline grupe

N.Y. - nieko ypatingo

20

Junginių, pagamintų 21, 26, 43, 38 ir 50 bandymuose, 20 mg/kg dozės, duotos žiurkėms 5 dienas, nesukėlė jokio pašalinio poveikio.

5. LD₅₀ bandymai

25

(Pagal Litchfield ir Wilcoxon, J. Pharmacol. Exp. Therap. 96, 99-113, 1949).

Intraveninė LD₅₀ reikšmė buvo nustatyta po 4 pavyzdyje pagaminto junginio skirtingų dozių vienos injekcijos.

Rezultatai pateikti 12 lentelėje.

5

12 lentelė

Pavyz- dys	LD ₅₀ , mg/kg su 95% patikimumo ribomis	
	vyriškos lyties pelės	moteriškos lyties pelės
4	89 (82-97)	81 (75-88)

4. Farmakologinės išvados

10

Išradime aprašyti junginiai turi farmakologinio aktyvumo savybių ir tinka trombozei bei astmai gydyti.

Trombozė

15

Kraujo trombocitų agregacijos inhibavimas kartu su PAI inhibavimu bei trombocituose esančio c-GMP stimuliavimu rodo, kad junginiai gali būti naudingi trombozės profilaktikai bei jau susidariusiems trombams tirpinti.

20

Astma

Kvėpavimo takų atpalaidavimas kartu su leukocitų funkcijos inhibicija rodo, kad junginiai gali būti naudingi astmai gydyti, nes pastaroji savybė slopina uždegimo sąlygojamą kvėpavimo takų gleivinės membranos tinimą.

25

Be čia minėtų farmakologinių savybių išradime aprašyti junginiai sukelia relaksacinį poveikį ir kitoms lygių raumenų, pavyzdžiui venų ir porėtų audinių, ląstelėms. Be to jie sumažina žiurkių kraujo spaudimą.

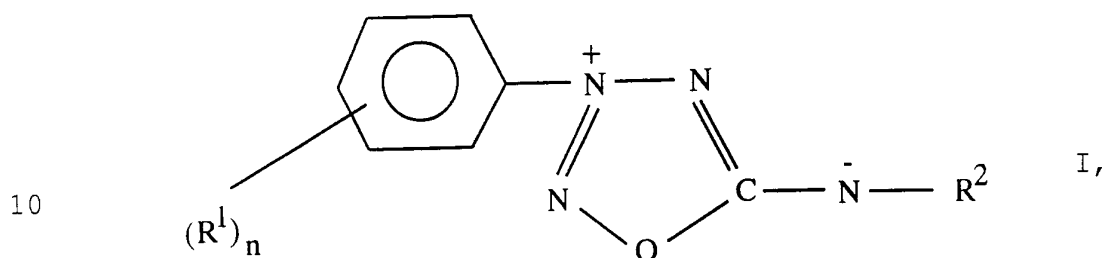
30

Išradime aprašomi tik labiausiai tikėtinos diegimo sritys. Tačiau, neišeinant iš šio išradimo ribų, galimos ir kitos diegimo modifikacijos.

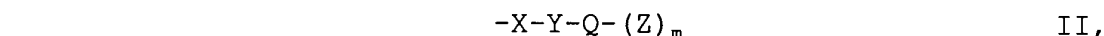
IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. 3-Pakeisti 1,2,3,4-oksatriazol-5-imino junginiai bendros formulės I ir jų druskos su rūgštimis

5



15 kurioje R^1 yra tokios pačios arba skirtingos alkilo arba alkoksi grupės, turinčios nuo 1 iki 3 anglies atomų, halogeno, trifluormetilo, nitro, ciano, fenilo arba alkilsulfonilo grupės, n yra skaičius nuo 1 iki 5, o R^2 yra vandenilis arba grupė, aprašoma formule II



kurioje X yra $-C(O)-$, $-C(O)O-$, $C(O)NH-$, $S(O)_2$ arba tiesiog ryšys, Y yra alkileno grupė, turinti nuo 1 iki 4 anglies atomų, arba tiesiog ryšys, ir

25 Q yra alkilo, cikloalkilo, alkoksi arba fenilo, piridilo, furanilo, tienilo arba pirazinilo grupė, kuri gali būti pasirinktinai pakeista Z,

30 kur Z - alkilo arba alkoksi grupės, turinčios nuo 1 iki 3 anglies atomų, halogenas, hidroksilas, aciloksi, trifluormetilas, nitro, ciano ar alkilsulfonilas, ir m yra nuo 1 iki 3,

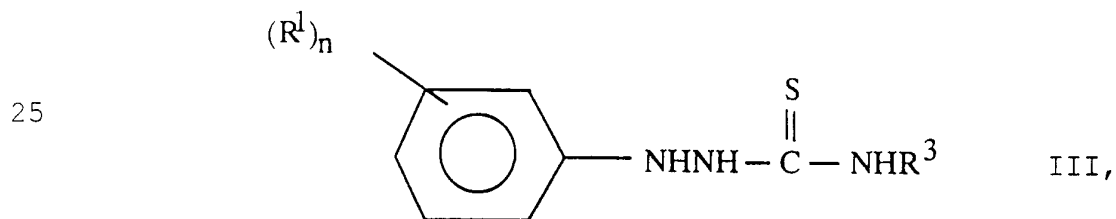
35 be to, kai X yra $-C(O)-$ arba $-C(O)NH-$, Y yra tiesiog ryšys, o Q yra pakeistas fenilas, Z gali reikšti struktūrą I, kurioje R^2 turi tą pačią reikšmę X, Y ir Q

atžvilgiu su sąlyga, kad R^2 nėra vandenilis, alkilo, benzoilo, trifluoracetilo arba pasirinktinai pakeista fenilo grupė, kai R^1 yra metilas arba chloras ir $n=1$, ir R^2 nėra vandenilis arba pasirinktinai pakeista fenilo grupė, kai R^1 yra nitro arba alkoksi grupės, fluoras arba bromas ir $n=1$.

2. 3-Pakeisti 1,2,3,4-oksatriazol-5-imino junginiai pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t y s tuo, kad bendroje formulėje I n yra nuo 2 iki 4.

3. Farmacinis preparatas, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad kaip aktyvų ingredientą turi junginį pagal 1 punktą, aprašomą bendra formule I, derinamą su farmaciniu požiūriu priimtinu nešikliu arba skiedikliu.

4. 3-Pakeistų 1,2,3,4-oksatriazol-5-imino junginių, turinčių pagal punktą 1 bendrą formulę I, ir šių junginių druskų su rūgštimis gavimo būdas, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad uždaro žiedą 1-ariltiosemikarbazido darinio, turinčio bendrą formulę III,



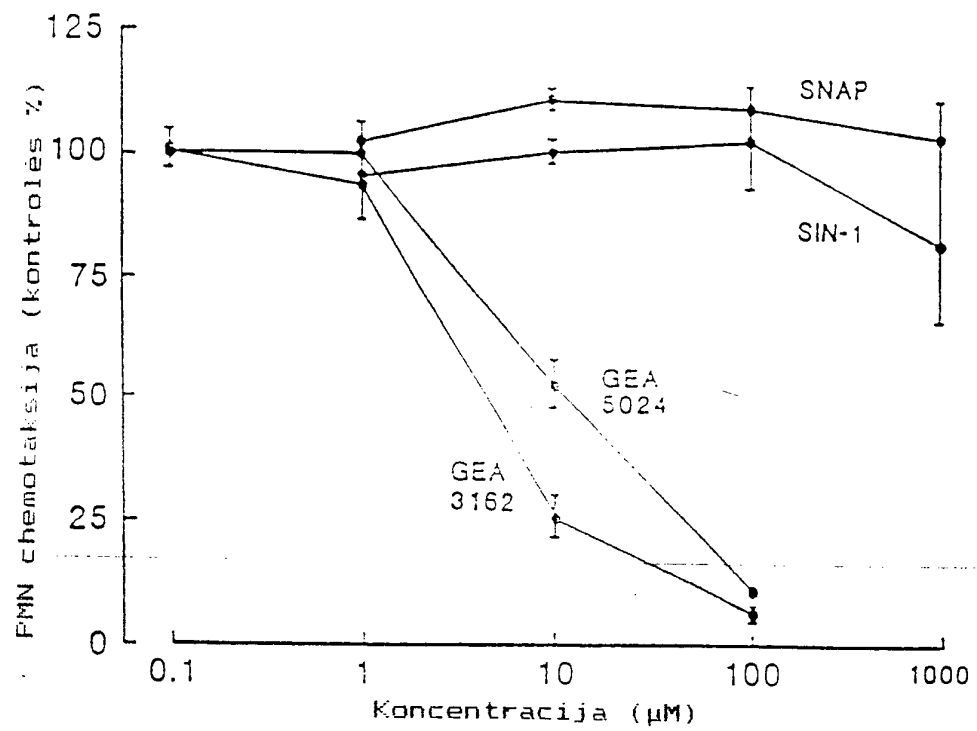
30 kurioje R^1 turi tą pačią reikšmę, kaip ir formulėje I, o R^3 yra arba H, arba grupė, aprašoma formule IV,



35 kurioje X yra tiesiog ryšys, o Y ir $Q-(Z)_m$ turi tą pačią reikšmę, kaip ir formulėje I, veikiant alkilo nitritu, turinčiu nuo 1 iki 6 anglies atomų, arba

šarminio metalo nitritu rūgštinėse sąlygose maždaug 0-10⁰C temperatūroje, o susidariusi druska gali būti paversta laisvu junginiu ir, pageidaujant, acilinama.

LT 3184 B



n = 3 (bandymai kartoti tris kartus)

SNAP - S-nitrozo-N-acetil-penicilaminas

Fig. 3

Koreliacija tarp c-GMP koncentrācijas lāstelēse ir GEA 318
sukeliamos LTB₄ sintezēs inhibīcijas

