

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **034139**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.01.09

(21) Номер заявки
201791714

(22) Дата подачи заявки
2016.01.28

(51) Int. Cl. *A61K 31/522* (2006.01)
C07D 473/06 (2006.01)
C07D 473/08 (2006.01)
A61P 13/04 (2006.01)
A61P 19/06 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)

(54) ПРОФИЛАКТИКА ИЛИ ЛЕЧЕНИЕ МОЧЕКИСЛЫХ ИЛИ ПОДАГРИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

(31) **201510048096.3; 201510079809.2;
201510080714.2; 201510216089.X**
(32) **2015.01.30; 2015.02.13; 2015.02.13;
2015.04.30**

(33) **CN**

(43) **2017.11.30**

(86) **PCT/CN2016/000061**

(87) **WO 2016/119570 2016.08.04**

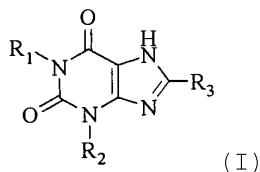
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ШАНЬТОНЬ ФАРМА КО., ЛТД. (CN)

(72) Изобретатель:
**Чжан Цянь, Хуан Чжэньхуа, Лю
Цзиньжон, Чи Шуаншуан (CN)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) **CN-A-101103030
CN-A-101479273**

(57) Изобретение относится к применению соединения формулы (I), его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата или содержащей его фармацевтической композиции для профилактики или лечения заболеваний, вызванных повышенным уровнем мочевой кислоты в организме. Кроме того, данное изобретение относится к способу профилактики или лечения заболеваний, вызванных повышенным уровнем мочевой кислоты в организме, включающему введение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или его гидрата нуждающемуся в этом млекопитающему.



034139 B1

034139 B1

Область техники

Данное изобретение относится к профилактике или лечению мочекислых или подагрических заболеваний, более конкретно к применению соединений или композиций для лечения или профилактики мочекислых или подагрических заболеваний. Данное изобретение также относится к способу лечения или профилактики мочекислых или подагрических заболеваний, а также к применению указанных соединений или композиций для снижения уровня мочевой кислоты у пациента.

Уровень техники

Высокий уровень мочевой кислоты, или гиперурикемия, представляет собой метаболическое заболевание, вызванное повышенным уровнем мочевой кислоты в крови из-за метаболического расстройства вещества, содержащегося в теле человека, называемого пурин. Мочевая кислота *in vivo* производится и выводится приблизительно в одинаковых количествах. Что касается произведенного количества, одну треть получают из пищи, а две трети самосинтезируются *in vivo*. Что касается пути выведения, одна треть выводится кишечным трактом, а две трети выводятся из почек. Уровень мочевой кислоты повышается тогда, когда любой из указанных выше путей нарушается. Повышение уровня мочевой кислоты препятствует процессу выработки мочевой кислоты в крови так, что мочевая кислота не может быть выведена. Если уровень мочевой кислоты слишком высок, могут развиваться некоторые другие заболевания, такие как подагра, нефропатия и сердечнососудистые заболевания.

Высокий уровень мочевой кислоты вызывает подагру. Подагра представляет собой разновидность артрита с периодическими эпизодами, возникающими при повышении уровня мочевой кислоты в крови из-за метаболического расстройства пурина в теле человека. Высокий уровень мочевой кислоты также вызывают подагрическую нефропатию, которая представляет собой повреждение почек, вызванное гиперурикемией из-за избыточного образования мочевой кислоты в крови без надлежащего выведения. Пациенты, страдающие тяжелой гиперурикемией, страдают почечной недостаточностью. Подагра представляет собой группу гетерогенных состояний с повреждением тканей, вызванным повышением мочевой кислоты в крови. Она вызывается метаболическим расстройством пурина *in vivo* и/или пониженным выведением мочевой кислоты и демонстрирует эпизоды гиперурикемии. Содержание мочевой кислоты в плазме здоровых людей составляет 20-60 мг/л. Когда оно превышает 80 мг/л, кристаллы урата откладываются на частях тела человека, таких как суставы, мягкие ткани и почки, и полученное осаждение кристаллов приводит к артриту, литангии и заболеваниям почек, а именно подагре. При остром приступе микрокристаллы урата откладываются на суставах, тем самым вызывая местную инфильтрацию гранулоцитов и воспалительные реакции. При повторяющихся приступах возникает деформация суставов с образованием "тофуса". Подагра широко распространена в западных странах и Японии в течение уже длительного периода времени. В последние годы подагра также приняла эпидемический размах в Китае (особенно в прибрежных областях).

Существующие исследования позволяют предположить, что острый приступ подагры представляет собой острый воспалительный процесс, вызванный кристаллами урата, который начинается с взаимодействия между кристаллами урата и резидентными моноцитами/макрофагами, и, наконец, спонтанно облегчается некоторыми базовыми механизмами через ряд воспалительных реакций. У большинства пациентов вспышка подагры связана с изменением (повышением или понижением) уровня мочевой кислоты в крови, а также не связана со стабильным уровнем мочевой кислоты в крови. Резкое изменение уровня мочевой кислоты в крови может вызвать изменения в объеме или форме кристаллов так, что кристаллы смогут двигаться в тканевых матрицах, что будет способствовать выделению кристаллов урата из частей тела, где расположен сформировавшийся тофус. Воспалительные реакции вызываются выделяемыми микрокристаллами или свежесформированными местно кристаллами. Взаимодействия между моноцитами/макрофагами и кристаллами урата являются ключевой стадией начала острого приступа подагры. Взаимодействия между кристаллами урата и резидентными макрофагами начинают воспалительные реакции и вызывают инфильтрацию нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов, усиливающую воспалительные реакции.

В острый приступ подагры вовлечено множество воспалительных факторов, которые в основном включают хемокины, такие как ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-18, ФНО- α и ИЛ-8 (CXCL-8). При определении уровней воспалительных факторов и противовоспалительных факторов в суставных жидкостях пациентов с разной стадией острой подагры было обнаружено, что на ранней и средней стадии воспаления отмечается значительное повышение уровней воспалительных факторов, таких как ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α , и уровня лейкоцитов в суставных жидкостях.

В настоящее время ИЛ-1 также известен как стимулятор лимфоцитов, который в основном вырабатывается активированным моноцитом-макрофагом. ИЛ-1 имеет две разные молекулярные формы, ИЛ-1 α и ИЛ-1 β . ИЛ-1 α и ИЛ-1 β синергетически стимулируют активацию антиген-представляющих клеток и Т-клеток и способствуют пролиферации В-клеток и секреции антител в низких местных концентрациях, обеспечивая иммунное модулирование. Предшественник ИЛ-1 β вырабатывается иммунными клетками, такими как моноциты-макрофаги и дендритные клетки, и превращается в активированный ИЛ-1 β Каспазой-1 в NALP3 инфламмасомном комплексе. Активированный ИЛ-1 β выделяется для медиации вос-

палительных реакций. ИЛ-1 β может инициировать выделение ИЛ-6 и ИЛ-8 и медиировать инфильтрацию нейтрофильных гранулоцитов. Кроме того, быстрые клинические реакции пациентов с острой подагрой на различные ингибиторы ИЛ-1 также демонстрируют клиническую роль этого фактора в подагрических воспалениях. Данные недавних исследований показали, что интерлейкин 1 β (ИЛ-1 β) играет важную роль в воспалительном процессе, вызванном отложением кристаллов урата натрия (МНУ) у пациентов с подагрой (Ann Rheum Dis 2009; 68: 1613-1617).

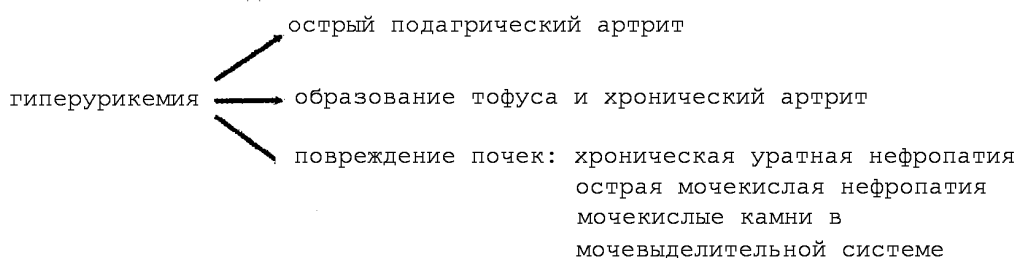
ФНО- α (фактор некроза опухоли) представляет собой полипептид-типированный цитокин, производимый моноцитами и макрофагами, и играет важную роль в воспалительных реакциях, развитии иммунных систем, программируемой смерти клеток и метаболизме жиров. ФНО- α также вовлечен в развитие заболеваний, включая астму, болезнь Крона, ревматоидный артрит, невропатическую боль, ожирение, диабет II типа, аутоиммунные заболевания и опухоли. В иммунных реакциях ФНО- α является многофункциональным регулятором и даже служит в качестве сильного пирогенного вещества для стимулирования нейтрофильных гранулоцитов, для изменения поведения клеток эндотелия сосудов и для регулирования метаболической активности некоторых тканей.

ИФН- γ (интерферон γ) представляет собой гликопротеин, вырабатываемый Т-клетками и естественными клетками-киллерами в иммунной системе, и он может активировать макрофаги для секретирования высокого уровня провоспалительных цитокинов и низкого уровня противовоспалительных цитокинов так, чтобы улучшать бактерицидную и туморицидную активность макрофагов.

Общим физическим признаком для пациентов с подагрой является то, что концентрация мочевой кислоты в крови патологически повышается. Хотя не все люди с повышенным уровнем мочевой кислоты страдают подагрой, каждый пациент с подагрой имеет повышенный уровень мочевой кислоты. Концентрация мочевой кислоты повышается по двум причинам. Первой является пониженное выведение мочевой кислоты с мочой, и второй является повышенный биосинтез мочевой кислоты из-за расстройств регулирования.

Подагра делится на первичную подагру и вторичную подагру. Первая в основном вызывается ферментной недостаточностью, часто сопровождаемой гипертонией, диабетом, гиперлипидемией, ожирением, метаболическим синдромом и ишемической болезнью сердца, и может быть передана по наследству. Последняя вызывается нефропатией, заболеванием крови, лекарствами и другими причинами.

Если подагру не предотвращать активно или не лечить должным образом, подагра будет разрушать еще больше поврежденных суставов и случаться более часто, вызывая гетерогенные заболевания на основе подагры. Кристаллы урата оседают на суставах и вызывают острый подагрический артрит. Так как множество суставов повреждаются одновременно, подагра развивается в хронический (долговременный) артрит. Повторяющиеся приступы вызывают постоянное повреждение суставов, включая долговременную боль и тугоподвижность, ограничение двигательной способности и деформацию суставов. Когда состояние прогрессирует, кристаллы откладываются в мягких тканях и затем образуют подкожные шишки, называемые "тофус". Отложение кристаллов в почках может вызвать поражение почек, приводящее к острой мочекислотной нефропатии, которая вызывает серьезное повреждение почек и образование мочекислых камней в мочевыделительной системе.



Подагрический артрит часто встречается, трудно поддается лечению и возникает снова и снова. Пациенты сильно страдают от различных осложнений. Это заболевание считается одним из десяти основных трудноизлечимых заболеваний 21 века по данным Всемирной Организации Здравоохранения.

Многие эпидемиологические исследования в настоящее время подтвердили, что высокий уровень мочевой кислоты в крови является важным фактором риска гипертонии. Повышение уровня мочевой кислоты в крови на 1 мг/дл соответствует повышению относительного риска гипертонии на 25%. Долговременная гиперурикемия может повреждать функции β -клеток поджелудочной железы и вызывать диабет, исследования показали, что имеется причинно-следственная связь между долговременной гиперурикемией и ухудшенной толерантностью к глюкозе и возникновением диабета.

Уровень мочевой кислоты является важным фактором риска смерти, вызываемой ишемической болезнью сердца. Исследования показали, что независимо от пола мочевая кислота является важным фактором риска смерти, вызываемой ишемической болезнью сердца. Повышение мочевой кислоты в крови на 1 мг/дл соответствует повышению риска смерти на 48% для мужчин и на 126% для женщин. Содержание мочевой кислоты в крови больше 6 мг/дл является независимым фактором риска возникновения ишемической болезни сердца. Содержание мочевой кислоты более 7 мг/дл является независимым факто-

ром риска возникновения удара.

Уровень мочевой кислоты и болезнь почек тесно связаны. Кроме ухудшенных почечных повреждений, возникающих при воспалении артериол почек и хроническом воспалении в междоузлиях, вызванном отложением кристаллов мочевой кислоты, многие эпидемиологические исследования и исследования на животных показали, что мочевая кислота может непосредственно вызывать повреждения микрососудов на афферентных артериолах, приводящие к хроническому заболеванию почек.

В настоящее время существует ограниченное количество противоподагрических агентов. Клиническое лечение подагры в основном включает введение колхицина, агентов, ингибирующих синтез мочевой кислоты (аллопуринол, фебуксостат), агентов, способствующих выведению мочевой кислоты (например, пробенецида, сульфинпиразона, бензбромарона, лезинурада), нестероидных противовоспалительных агентов и гормонов. Для острых приступов в основном применяют колхицин, нестероидные противовоспалительные агенты и гормоны. Когда состояние облегчается, в основном применяют агенты, ингибирующие синтез мочевой кислоты и агенты, способствующие выведению мочевой кислоты. Однако эти агенты не очень подходят для лечения из-за плохой эффективности и значительных побочных эффектов.

В 2012 г. оптимальными агентами для снижения мочевой кислоты, рекомендованными Американской коллегией ревматологов (ACR) в Guide to Gout Therapy, являлись аллопуринол и фебуксостат, где фебуксостат был рекомендован впервые в качестве оптимального агента. Пробенецид является оптимальным агентом для улучшения выведения мочевой кислоты при лечении, направленном на снижение мочевой кислоты, только если пациент не может принимать или не переносит по крайней мере один из ингибиторов ксантиноксидазы. Кроме того, инструкции ACR рекомендуют пациенту начинать принимать терапию для снижения мочевой кислоты сразу же после начала эффективной противовоспалительной терапии.

Поэтому до сих пор существует необходимость в новых агентах для лечения или профилактики мочекислых или подагрических заболеваний.

В WO 2005077950 описано соединение общей формулы (I) в соответствии с данным изобретением для лечения заболеваний, таких как дислипидемия, диабет II типа и подобных через активацию HM74A (также известного как GPR109A). Однако этот патент не описывает или не предполагает, что соединение может применяться для профилактики или лечения мочекислых или подагрических заболеваний.

В WO 2011057110 описано, что производные ксантина предотвращают или лечат заболевания, такие как церебральная ишемия и подобные через активацию HM74A.

В US 20130150383 описано применение соединений ксантина для лечения псориаза.

В US 2015080418 A1 описано применение соединений ксантина для лечения расстройств нервной ткани.

В WO 9316699 A1 описано применение соединений ксантина для лечения грибковых инфекций.

В WO 9920280 A1 описано применение соединений ксантина для лечения кожного зуда.

В EP 0389282 A2 описано действие соединений ксантина на метаболизм мозга, нейропротекцию и сосудистые аномалии.

В одном литературном источнике (Expert Opin. Ther Patents 2009, 19 (7), 957-967) описано, что производные ксантина активируют GPR109A для лечения дислипидемии, диабета II типа и некоторых других заболеваний.

В одном литературном источнике (Curr Atheroscler Rep 2013, 15:325, 1-10) описано, что GPR109A оказывает фармакологическое действие при медиации сосудистого воспаления.

В одном литературном источнике (PLoS One. 2014 Oct. 17; 9 (10): e109818) указано, что GPR109A является эффективным при лечении болезни Паркинсона.

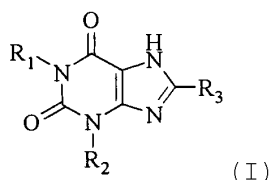
Однако ни в одном из этих источников не описана роль соединений ксантина в снижении уровня мочевой кислоты, профилактике или лечении подагры.

Для решения указанной выше проблемы авторы данного изобретения провели интенсивные исследования. В результате было неожиданно обнаружено, что класс соединений ксантина может снижать уровень мочевой кислоты и предотвращать или снижать воспаления, а также эффективно предотвращать или лечить гиперурикемию, подагру, подагрические воспаления, боль и мочекислую нефропатию.

Конкретно, данное изобретение относится к следующим техническим решениям.

Сущность изобретения

Объектом данного изобретения является применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или его гидрата для профилактики или лечения заболеваний, вызванных повышенным уровнем мочевой кислоты в организме



где R_1 выбирают из группы, включающей водород и C_{1-4} алкил, где указанный C_{1-4} алкил не замещен или замещен одним или более галогеном, циано, CF_3 или их сочетанием;

R_2 выбирают из группы, включающей C_{1-10} алкил, C_{2-6} алкенил и C_{2-6} алкинил, где указанный C_{1-10} алкил, C_{2-6} алкенил или C_{2-6} алкинил не замещен или замещен галогеном или циано или их сочетанием; и R_3 выбирают из группы, включающей галоген и циано.

В предпочтительном варианте данного изобретения в соединении формулы (I) R_1 является водородом или метилом, R_2 является этилом, пропилом, 2-метилпропилом, бутилом, 3-метилбутилом или пентилом, и R_3 является фтором или хлором.

В другом предпочтительном варианте данного изобретения соединение формулы (I) выбирают из группы, включающей

8-хлор-3-пентил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион,
 8-хлор-3-бутил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион,
 8-хлор-1-метил-3-бутил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион,
 8-хлор-1-метил-3-пентил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион,
 8-хлор-3-(3-метилбутил)-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион,
 8-хлор-3-(2-метилпропил)-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион,
 8-хлор-1-метил-3-(3-метилбутил)-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион.

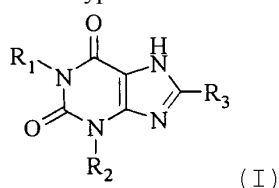
В ещё одном предпочтительном варианте данного изобретения соединение формулы (I) представляет собой 8-хлор-3-пентил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион или его гидрат.

Согласно данному изобретению заболевание, вызванное повышенным уровнем мочевой кислоты в организме, представляет собой мочекишное заболевание или подагрическое заболевание. В частности, мочекишным заболеванием или подагрическим заболеванием является гиперурикемия, подагра, подагрическое воспаление, боль или мочекишная нефропатия. Причем гиперурикемия включает первичную гиперурикемию и вторичную гиперурикемию, и подагра включает первичную подагру и вторичную подагру.

В соответствии с настоящим изобретением подагрическое воспаление включает острый подагрический артрит, подкожный тофус и хронический тофусный артрит.

В соответствии с настоящим изобретением мочекишная нефропатия включает острую мочекишную нефропатию, хроническую уратную нефропатию и мочекишный уролитиаз.

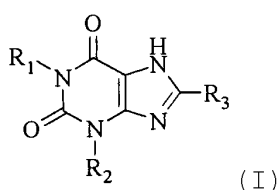
Другим объектом данного изобретения является применение фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль или его гидрат в качестве активного ингредиента и один или более фармацевтически приемлемый носитель для профилактики или лечения заболеваний, вызванных повышенным уровнем мочевой кислоты в организме



где R_1 выбирают из группы, включающей водород и C_{1-4} алкил, где указанный C_{1-4} алкил не замещен или замещен одним или более галогеном, циано, CF_3 или их сочетанием;

R_2 выбирают из группы, включающей C_{1-10} алкил, C_{2-6} алкенил и C_{2-6} алкинил, где указанный C_{1-10} алкил, C_{2-6} алкенил или C_{2-6} алкинил не замещен или замещен галогеном или циано или их сочетанием; и R_3 выбирают из группы, включающей галоген и циано.

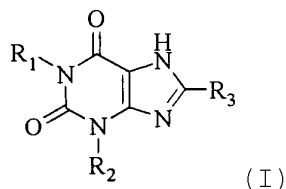
Ещё одним другим объектом данного изобретения является способ профилактики или лечения заболеваний, вызванных повышенным уровнем мочевой кислоты в организме, включающий введение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или его гидрата нуждающемуся в этом млекопитающему



где R_1 выбирают из группы, включающей водород и C_{1-4} алкил, где указанный C_{1-4} алкил не замещен или замещен одним или более галогеном, циано и CF_3 или их сочетанием;

R_2 выбирают из группы, включающей C_{1-10} алкил, C_{2-6} алкенил и C_{2-6} алкинил, где указанный C_{1-10} алкил, C_{2-6} алкенил или C_{2-6} алкинил не замещен или замещен галогеном или циано или их сочетанием; и R_3 выбирают из группы, включающей галоген и циано.

Ещё одним другим объектом данного изобретения является применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или его гидрата для снижения уровня мочевой кислоты в организме



где R_1 выбирают из группы, включающей водород и C_{1-4} алкил, где указанный C_{1-4} алкил не замещен или замещен одним или более галогеном, циано, CF_3 или их сочетанием;

R_2 выбирают из группы, включающей C_{1-10} алкил, C_{2-6} алкенил и C_{2-6} алкинил, где указанный C_{1-10} алкил, C_{2-6} алкенил или C_{2-6} алкинил не замещен или замещен галогеном или циано или их сочетанием; и R_3 выбирают из группы, включающей галоген и циано.

В предпочтительном варианте настоящего изобретения в соединении формулы (I) R_1 является водородом или метилом, R_2 является этилом, пропилем, 2-метилпропилем, бутилом, 3-метилбутилом или пентилом, и R_3 является фтором или хлором.

В другом предпочтительном варианте настоящего изобретения соединение формулы (I) выбирают из группы, включающей

8-хлор-3-пентил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион,
8-хлор-3-бутил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион,
8-хлор-1-метил-3-бутил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион,
8-хлор-1-метил-3-пентил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион,
8-хлор-3-(3-метилбутил)-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион,
8-хлор-3-(2-метилпропил)-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион,
8-хлор-1-метил-3-(3-метилбутил)-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион.

В предпочтительном варианте настоящего изобретения соединение формулы (I) представляет собой 8-хлор-3-пентил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион или его гидрат.

Представленные выше технические решения в соответствии с данным изобретением оказывают противовоспалительное действие и могут ингибировать возникновение и развитие воспалений у пациентов с высокими уровнями мочевой кислоты и облегчают воспалительные реакции у пациентов с подагрой, тофусом, подагрическим воспалением и мочекишечной нефропатией. Эти технические решения также являются эффективными для снижения уровня мочевой кислоты и, следовательно, могут далее снижать риск возникновения подагры, гипертонии, диабета, гиперлипидемии, ожирения, метаболического синдрома, ишемической болезни сердца и повреждения почек, тем самым облегчая боль у пациентов, и для лечения или профилактики мочекишечных или подагрических заболеваний.

В частности, воспалительной реакцией является состояние, возникающее при повышении уровня мочевой кислоты, в то время как соединение в соответствии с данным изобретением оказывает неожиданное действие на снижение уровня мочевой кислоты. Поэтому соединение в соответствии с данным изобретением может в значительной степени облегчать воспалительные реакции, вызванные повышением мочевой кислоты, тем самым демонстрируя противовоспалительное действие.

Подробное описание вариантов

Термины, применяемые в данном описании, имеют следующие значения.

Термин "галоген" относится к атому фтора, атому хлора, атому брома, атому йода и подобным. Атом фтора и атом хлора являются предпочтительными.

Термин " C_{1-10} алкил" относится к прямой или разветвленной алкильной группе, содержащей от 1 до 10 атомов углерода, предпочтительно C_{1-6} алкильной группе, содержащей от 1 до 6 атомов углерода. Указанным " C_{1-10} алкилом" может быть метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, н-пентил, изопентил, 2-метилбутил, неопентил, 1-этилпропил, н-гексил, изогексил, 3-метилпентил, 2-метилпентил, 1-метилпентил, 3,3-диметилбутил, 2,2-диметилбутил, 1,1-диметилбутил, 1,2-диметилбутил, 1,3-диметилбутил, 2,3-диметилбутил, 2-этилбутил, 1,2-диметилпропил, гептил, октил, нонил, децил и подобные.

Термин " C_{1-4} алкил" относится к прямой или разветвленной алкильной группе, содержащей от 1 до 4 атомов углерода, такой как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил и подобные.

Термин " C_{2-6} алкенил" относится к прямой или разветвленной алкенильной группе, содержащей от 2 до 6 атомов углерода и содержащей двойную связь, такой как винил, 1-пропенил, 2-пропенил, 1-метилвинил, 1-бутенил, 2-бутенил, 3-бутенил, 1-метил-1-пропенил, 2-метил-1-пропенил, 1-метил-2-

пропенил, 2-метил-2-пропенил, 1-пентенил, 2-пентенил, 3-пентенил, 4-пентенил, 1-метил-1-бутенил, 2-метил-1-бутенил, 3-метил-1-бутенил, 1-метил-2-бутенил, 2-метил-2-бутенил, 3-метил-2-бутенил, 1-метил-3-бутенил, 2-метил-3-бутенил, 3-метил-3-бутенил, 1,1-диметил-2-пропенил, 1,2-диметил-1-пропенил, 1,2-диметил-2-пропенил, 1-этил-1-пропенил, 1-этил-2-пропенил, 1-гексенил, 2-гексенил, 3-гексенил, 4-гексенил, 5-гексенил, 1-метил-1-пентенил, 2-метил-1-пентенил, 3-метил-1-пентенил, 4-метил-1-пентенил, 1-метил-2-пентенил, 2-метил-2-пентенил, 3-метил-2-пентенил, 4-метил-2-пентенил, 1-метил-3-пентенил, 2-метил-3-пентенил, 3-метил-3-пентенил, 4-метил-3-пентенил, 1-метил-4-пентенил, 2-метил-4-пентенил, 3-метил-4-пентенил, 4-метил-4-пентенил, 1,1-диметил-2-бутенил, 1,1-диметил-3-бутенил, 1,2-диметил-1-бутенил, 1,2-диметил-2-бутенил, 1,2-диметил-3-бутенил, 1,3-диметил-1-бутенил, 1,3-диметил-2-бутенил, 1,3-диметил-3-бутенил, 2,2-диметил-3-бутенил, 2,3-диметил-1-бутенил, 2,3-диметил-2-бутенил, 2,3-диметил-3-бутенил, 3,3-диметил-1-бутенил, 3,3-диметил-2-бутенил, 1-этил-1-бутенил, 1-этил-2-бутенил, 1-этил-3-бутенил, 2-этил-1-бутенил, 2-этил-2-бутенил, 2-этил-3-бутенил, 1,1,2-триметил-2-пропенил, 1-этил-1-метил-2-пропенил, 1-этил-2-метил-1-пропенил, 1-этил-2-метил-2-пропенил, 1,3-бутадиенил, 1,3-пентадиенил, 1,4-пентадиенил, 2,4-пентадиенил, 1,4-гексадиенил, 2,4-гексадиенил и подобные. C_{1-4} алкил с двойной связью необязательно может быть цис- или транс-изомером.

Термин " C_{2-6} алкинил" относится к прямой или разветвленной алкинильной группе, содержащей от 2 до 6 атомов углерода и содержащей тройную связь, такой как этинил, 1-пропинил, 2-пропинил, 2-бутинил, 3-бутинил, 1-метил-2-пропинил, 2-пентинил, 3-пентинил, 4-пентинил, 1-метил-2-бутинил, 1-метил-3-бутинил, 2-метил-3-бутинил, 1,1-диметил-2-пропинил, 1-этил-2-пропинил, 2-гексинил, 3-гексинил, 4-гексинил, 5-гексинил, 1-метил-2-пентинил, 4-метил-2-пентинил, 1-метил-3-пентинил, 2-метил-3-пентинил, 1-метил-4-пентинил, 2-метил-4-пентинил, 3-метил-4-пентинил, 1,1-диметил-2-бутинил, 1,1-диметил-3-бутинил, 1,2-диметил-3-бутинил, 2,2-диметил-3-бутинил, 1-этил-2-бутинил, 1-этил-3-бутинил, 2-этил-3-бутинил и 1-этил-1-метил-2-пропинил и подобные.

Термин "млекопитающее" предпочтительно относится к человеку.

Термин "лечение" относится к полному или частичному облегчению симптомов, связанных с расстройством или заболеванием, или замедлению или приостановке дальнейшего развития или прогрессирования этих симптомов.

Термин "профилактика" относится к профилактике наступления заболевания или расстройства у пациента, подверженного риску развития заболевания или расстройства.

Термин "мочекислое заболевание" относится к заболеванию, связанному с аномальным уровнем мочевой кислоты в организме, включающему, но не ограниченному ими, гиперурикемию или мочекислую нефропатию.

Термин "подагрическое заболевание" относится к заболеванию, связанному с подагрой, включающему, но не ограниченному ими, подагру, подагрические воспаления или боль.

Первичная гиперурикемия делится на гиперурикемию с молекулярными дефектами и врожденное расстройство метаболизма пурина, обе с неизвестными причинами. Врожденное расстройство метаболизма пурина делится на следующие четыре типа.

(I) В первом типе повышается активность 5-фосфорибозил-1-пирофосфатсинтазы (PRPPS), вызывая избыточный синтез 5-фосфорибозил-1-пирофосфатсинтазы и избыточное образование мочевой кислоты. Этот тип расстройства является связанным с X-хромосомой по наследству.

(II) Во втором типе наблюдается частичный дефицит гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы (HPRT), вызывающий повышенную концентрацию 5-фосфорибозил-1-пирофосфатсинтазы и избыточное образование мочевой кислоты. Этот тип расстройства также является связанным с X-хромосомой по наследству.

(III) В третьем типе наблюдается полный дефицит гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы, и слишком много мочевой кислоты образуется из-за повышенного синтеза пурина, которые найдены при синдроме Леша-Найхана. Этот тип расстройства является связанным с X-хромосомой по наследству.

(IV) В четвертом типе наблюдается дефицит глюкозы-6-фосфатазы так, что образуется избыточная мочевая кислота из-за повышенного синтеза пурина и пониженного клиренса мочевой кислоты почками, что обычно находят при нарушении отложения гликогена I типа. Тип расстройства принадлежит к ауто-сомно-рецессивному наследованию.

Вторичная гиперурикемия относится к гиперурикемии, вызванной 1) повышенным уровнем мочевой кислоты в крови, возникающем при множестве острых или хронических заболеваний, таких как заболевания крови или злокачественные образования, хроническое отравление, введение лекарственных средств или высокопуриновой диете, или 2) расстройством выведения мочевой кислоты.

Подагра представляет собой связанную с кристаллами артропатию, вызванную отложением урата натрия (МНУ), и непосредственно связана с гиперурикемией из-за расстройств метаболизма пурина и/или пониженным выведением мочевой кислоты. Подагра, в частности, относится к острому артриту и хроническому тофусному заболеванию, в основном включающему остро возникающий артрит, образование тофуса, хронический тофусный артрит, уратную нефропатию и мочекислый уролитиаз. В тяжелых случаях может возникать деформация суставов и почечная недостаточность.

Первичная подагра в основном является наследственной, но клинически только от 10 до 20% паци-

ентов имеют наследственную историю подагры. Образование избыточного количества мочевой кислоты приходится на 10% случаев первичной гиперурикемии. Основными причинами являются дефицит фермента в метаболизме пурина, недостаток гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы (HGPRT) и избыточная активность фосфатрибозпирофосфатсинтазы (PRPP). Первичное снижение выведения мочевой кислоты в почках приводит к около 90% первичной гиперурикемии. Хотя лежащий в основе механизма не ясен и им может быть полигенная наследственная болезнь, им не может быть тип органических заболеваний почек.

Вторичная подагра относится к клиническим проявлениям, вторичным к другим заболеваниям, или вызванным определенными агентами. Миелопролиферативные заболевания, такие как лейкоз, лимфома, множественная миелома, эритроцитоз, гемолитическая анемия и рак могут приводить к усиленной пролиферации клеток, вызывая повышенное превращение нуклеиновой кислоты, вызывающее повышенное образование мочевой кислоты. Радиационная терапия и химиотерапия злокачественных опухолей вызывает повреждение большого количества клеток и повышение превращения нуклеиновой кислоты, тем самым повышая образование мочевой кислоты. Заболевания почек, включая хронический гломерулонефрит, пиелонефрит, поликистоз почек и гломерулярную гипоперфузию, вызванную отравлением свинцом, гипертония на поздней стадии и подобные могут снижать выведение мочевой кислоты, что приводит к повышению концентрации мочевой кислоты в крови. Агенты, такие как триазидные диуретики, фуросемид, этамбутол, пиразинамид, аспирин в низкой дозе и никотиновая кислота и подобные, вступают в конфликт с мочевой кислотой, ингибируя выведение мочевой кислоты почечными канальцами и вызывая гиперурикемию. Кроме того, длительное введение иммунодепрессивных агентов также может привести к гиперурикемии у пациентов с трансплантированными почками, что может быть связано с ингибирующим действием иммунодепрессивных агентов на выведение мочевой кислоты почечными канальцами.

Подагрическим воспалением является очаговое повреждение и воспалительная реакция, вызванная отложением урата на суставной капсуле, синовиальной сумке, хряще, кости или других тканях. На возникновение подагрического воспаления влияют генетические факторы и семейные факторы в значительной степени, и в основном оно возникает у мужчин в возрасте за 40. Такое воспаление обычно возникает в плюсне-фаланговых суставах большого пальца стопы, а также возникает в других больших суставах, особенно суставах колена и стопы. Основным проявлением является острая боль в суставах, которая часто возникает односторонне и неожиданно. Окружающие ткани суставов становятся заметно опухшими, горячими, красными и болезненными.

Что касается острого подагрического артрита, очевидные признаки до наступления у большинства пациентов отсутствуют, и пациенты только чувствуют себя уставшими, неудобство и острую боль в суставах. Острый подагрический артрит обычно возникает ночью и пациенты часто просыпаются от боли в суставах. Боль постепенно усиливается, достигая пика в течение около 12 ч. Пациенты чувствуют себя так, как будто их разрывают, режут ножом или бьют, что непереносимо. Пораженные суставы и окружающие ткани становятся красными, опухшими, горячими и болезненными при ограниченном функционировании. Симптомы спонтанно исчезают через несколько дней или 2 недели в большинстве случаев. Первый приступ возникает в отдельном суставе, в основном в первом плюсне-фаланговом суставе. В будущих случаях это положение имеет отношение к некоторым пациентам. Поражаемые далее суставы включают суставы тыла стопы, пятки, лодыжки, колена, запястья и локтя. Суставы плеча, бедра и остистых отростков и височно-нижнечелюстной сустав вовлечены в незначительной степени. Множество суставов может быть вовлечено одновременно, проявляясь как полиартрит. Некоторые пациенты могут иметь системные симптомы, такие как лихорадка, зябкость, головная боль, учащенное сердцебиение и тошнота, сопровождаемые повышенным уровнем лейкоцитов, повышенной скоростью оседания эритроцитов, повышенным уровнем С-реактивного белка и так далее.

Что касается периодических приступов, подагрические атаки спонтанно исчезают в течение от нескольких дней до нескольких недель, обычно без значительных последствий, или только с незначительной местной пигментацией кожи, шелушением, зудом и так далее. Затем подагра переходит в стадию временного прекращения без приступов, которая может длиться в течение нескольких месяцев, нескольких лет или более десяти лет перед рецидивом. У большинства пациентов рецидив наступает в течение 1 года, приступы у них становятся все более и более частыми, поражается все большее количество суставов и длительность приступов возрастает. Вовлечение суставов обычно происходит от нижних конечностей до верхних конечностей и от дистальных мелких суставов до крупных суставов. Постепенно вовлекаются суставы пальцев, запястья и локтя. У небольшого количества пациентов могут быть поражены суставы плеча, тазовой кости, крестцово-подвздошной области, грудиноключичной области или остистых отростков, а также такие части, как синовиальная сумка, сухожилие и сухожильные влагалища, расположенные рядом с суставами, имеющими симптомы, являющиеся нетипичными. У небольшого количества пациентов период временного прекращения отсутствует и болезнь развивается в хронический артрит после первого приступа.

Что касается хронического тофуса, при приступе у пациентов с подагрой образуются очень твердые шишки, известные как "тофус", также известные как подагрические шишки. Подкожный тофус и хронический

ческий тофусный артрит являются результатом долговременной тяжелой гиперурикемии с отложением больших количеств кристаллов урата натрия в подкожных тканях, синовиальной мембране, хряще, кости и мягких тканях вокруг суставов.

Такие кристаллы урата натрия откладываются в мягких тканях, вызывая хроническое воспаление, и шишки образуются из-за гиперплазии фиброзной ткани. Тофус в большинстве случаев обнаруживается в завитке в первом плюсне-фаланговом суставе большого пальца стопы, суставах пальцев, запястья, локтя и колена и так далее. У незначительного количества пациентов тофус может возникать в носовом хряще, языке, голосовой связке, глазном веке, аорте, сердечном клапане и миокарде. Тофус может проникать в кость в скелет вокруг суставов, вызывая деформацию скелета. Альтернативно, тофус может разрушать кость. Такие подагрические шишки также могут быть найдены в синовиальной мембране, сухожильном влагалище и хряще рядом с суставами. Размеры тофуса могут быть разными, маленькими как кунжутное семя или большими как яйцо.

Тофус также может образоваться во внутренних органах, в основном в почечной паренхиме, иногда в мочеточнике и мочевом пузыре, но реже в печени, желчном пузыре, желчных протоках и поджелудочной железе и т.д. Было описано, что кристаллы урата найдены в слюне. Тофусы никогда не находили в мозге, селезенке или легких. После возникновения тофус растет в размере, постепенно от маленького к большому, и количество кристаллов урата постепенно повышается так, что растет внутреннее давление, что часто делает окружающую кожу разбухшей, натянутой, тонкой и блестящей. В сочетании с эрозией, вызванной кристаллами урата, целостность покрывающей кожи нарушается и ухудшается ее растяжимость. На коже могут образовываться язвы при натирании, давлении, обморожении или ранении. "Пас-тообразные" белые кристаллы урата вытекают из кожной язвы. В язве может образоваться полость или высыпания. Хроническая воспалительная гранулема образуется на тканях вокруг язвы из-за стимулирования кристаллами урата, где возможно может возникнуть вторичная бактериальная инфекция с образованием хронических гнойных очагов. Такие язвы трудно поддаются самозаживлению из-за плохой циркуляции крови и слабой регенерации клеток, а также инфекции и хронического гранулематоза и других причин. В тяжелых случаях может развиваться сепсис, приводящий к смерти.

Тофус является типовым признаком подагры. Образование тофуса связано с течением заболевания и уровнем мочевой кислоты в крови. Чем дольше срок заболевания, тем вероятнее образование тофуса. Чем дольше длится гиперурикемия, тем вероятнее образование тофуса. С другой стороны, большое количество и большой размер тофусов указывает на то, что гиперурикемия недостаточно контролируется, т.е. состояние становится тяжелее. Для некоторых пациентов, хотя болезнь уже длится достаточно долго, уровень мочевой кислоты в крови сохраняется на нормальном уровне в течение длительного времени после лечения, реже с образованием тофуса. Присутствие тофуса и количество и размер тофусов также являются интуитивными показателями для клинической оценки тяжести состояния и годности лечения.

Типовым местом, в котором образуется подкожный тофус, является ухо. Подкожный тофус также обычно находят в местах, таких как части вокруг суставов и локтевой отросток, ахиллесово сухожилие и надколенная чашечка, где состояния возникают периодически. Подкожный тофус представляет собой желтовато-белое новообразование различных размеров, поднимающееся под кожей при утончении кожи, где белый порошок или паста выделяется после образования кожной язвы, которая не заживает в течение длительного времени.

Подкожный тофус и хронический тофусный артрит часто существуют совместно. Отложение большого количества тофусов в суставах может вызвать разрушение костей в суставах, фиброз тканей вокруг суставов и вторичные дегенеративные состояния. Клиническими проявлениями являются постоянное опухание и боль суставов, боль при нажатии, деформация и дисфункция. Хронически симптомы относительно умеренные, но могут проявляться как острые.

Мочекислая нефропатия представляет собой повреждение почек, вызванное гиперурикемией из-за избыточного производства или пониженного выведения мочевой кислоты в крови, часто называемое подагрической нефропатией. Клинические проявления могут включать мочекислые камни, протеинурию, отек, ночную полиурию, гипертонию, повышенный уровень мочевой кислоты в крови и повреждение почечных канальцев. Этот тип заболевания широко распространен в западных странах, а в Китае много пациентов проживает на севере страны. Заболевание не попадает в очевидную сезонную картину, и, вероятно, возникает у людей, имеющих проблемы с лишним весом или злоупотребляющих белковую пищу или алкоголь. Отношение пациентов мужского пола к пациентам женского пола составляет 9:1, где 85% из них являются людьми среднего и старшего возраста. Если у пациента диагностирована болезнь в ранней стадии и он получает подходящее лечение (для контроля гиперурикемии и для защиты почечной функции), повреждение почек может быть уменьшено или предотвращено его развитие. Если лечение не проведено вовремя или должным образом, болезнь может ухудшиться и перейти в конечную стадию почечной недостаточности, при которой необходим диализ.

Что касается хронической уратной нефропатии, кристаллы урата откладываются в почечной межклеточной ткани, что приводит к хроническому тубулоинтерстициальному нефриту. Клинические проявления включают пониженную функцию концентрации мочи, тяжелую ночную полиурию, образование мочи с низким удельным весом, протеинурию, лейкоцитурию, легкую гематурию и цилиндрурию. На по-

следней стадии функция фильтрации гломерул может быть повреждена, что приводит к почечной недостаточности.

Что касается мочекислых камней в мочевыводящих путях, концентрация мочевой кислоты в моче повышается до перенасыщенного состояния. Мочевая кислота откладывается в мочевыводящей системе с образованием камней, что случается у более 20% пациентов с подагрой и, вероятно, перед возникновением подагрического артрита. Небольшие камни выглядят как песок и выводятся с мочой без очевидных симптомов. Большие камни могут блокировать мочевыводящие пути, что приводит к почечной колике, гематурии, дизурии, инфекции мочевыводящей системы, пиелэктазии и гидронефрозу и т.д.

Существует множество факторов, влияющих на образование камней в почках, включая возраст, пол, расу, генетические факторы, факторы окружающей среды, пищевые привычки и род занятий, все которые связаны с образованием камней. Аномальный метаболизм тела, мочевая обструкция, инфекция мочевыводящих путей, инородные тела и лекарственные средства являются распространенными причинами образования камней. Известно, что мочевые камни содержат 32 вида ингредиентов, где наиболее частым ингредиентом является оксалат кальция. Другие ингредиенты камней включают, например, трипельфосфат, мочевую кислоту, фосфат кальция и цистин (аминокислоту) и т.д., а также могут быть смесью указанных выше ингредиентов. Что касается мочевых камней, моча постоянно является кислотой. Мочевые камни являются твердыми, гладкими, желтыми или коричнево-красными, и метаболизм мочевой кислоты является аномальным.

При острой мочекислотной нефропатии уровни мочевой кислоты в крови резко повышаются. Большое количество кристаллов мочевой кислоты откладываются в почечных канальцах, прямом почечном канальце и так далее, что приводит к острой непроходимости мочевых путей. Клиническими проявлениями является олигурия, анурия и острая почечная недостаточность. Далее большое количество кристаллов мочевой кислоты может быть найдено в моче. Эти проявления являются вторичными условиями, в основном вызываемыми злокачественными опухолями и их радиотерапией и химиотерапией (т.е. синдром лизиса опухоли).

В случае повышения уровня мочевой кислоты в крови, отложение кристаллов в суставах могут вызвать подагрический артрит, и далее привести к деформации суставов. Отложение кристаллов в почках может вызвать подагрическую нефропатию и образование мочекислых камней, приводя к уремии. Повышение уровня мочевой кислоты в крови может стимулировать стенки артерий и вызывать атеросклероз и приводить к ишемической болезни сердца и гипертонии. Повышение мочевой кислоты в крови может повредить В-клетки поджелудочной железы, вызывая или ухудшая диабет.

Гиперурикемия является основой возникновения подагры, но недостаточна для того, чтобы вызвать подагру. Подагра возникает только когда ураты откладываются в тканях тела и вызывают повреждения. Чем выше мочевая кислота в крови, тем больше вероятность возникновения подагры в ближайшие 5 лет.

В данном изобретении в применяемом соединении формулы (I) R_1 является водородом или метилом, R_2 является этилом, пропилом, 2-метилпропилом, бутилом, 3-метилбутилом или пентилом, и R_3 является фтором или хлором.

Предпочтительные варианты соединений в соответствии с данным изобретением включают

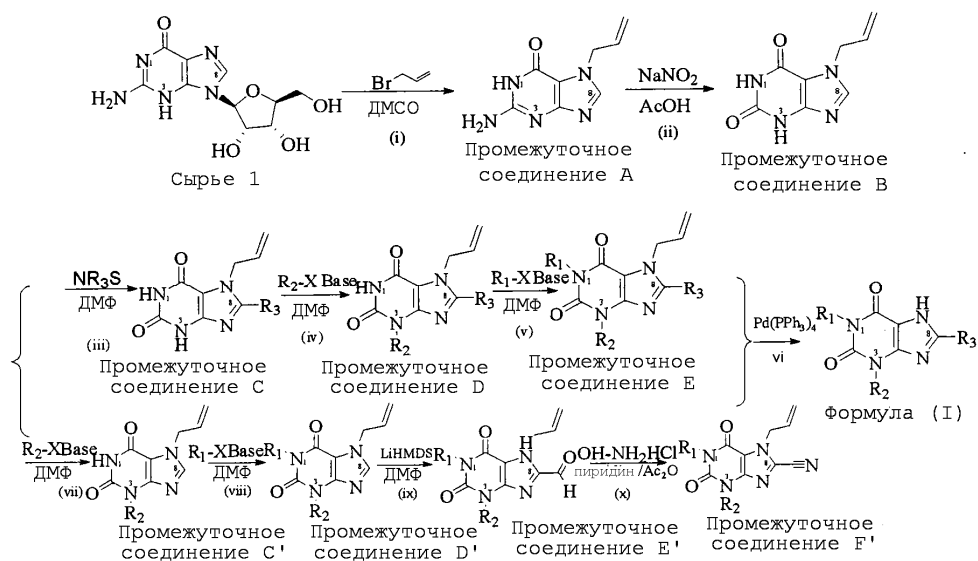
8-хлор-3-пентил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион,
8-хлор-3-бутил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион,
8-хлор-1-метил-3-бутил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион,
8-хлор-1-метил-3-пентил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион,
8-хлор-3-(3-метилбутил)-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион,
8-хлор-3-(2-метилпропил)-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион и
8-хлор-1-метил-3-(3-метилбутил)-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион.

Фармацевтически приемлемой солью соединения, представленного формулой (I), является, например, соль, полученная со щелочным металлом, щелочно-земельным металлом, аммонием, алкиламмонием и подобными, или соль, полученная с неорганической кислотой или органической кислотой. Такими солями могут быть, например, соли натрия, соли калия, соли кальция, соли аммония, соли алюминия, соли триэтиламмония, ацетаты, пропионаты, бутираты, формиаты, трифторацетаты, малеаты, тартраты, цитраты, стеараты, сукцинаты, этилсукцинаты, лактобионаты, глюконаты, глюцептаты, бензоаты, метансульфонаты, этансульфонаты, 2-гидроксиэтансульфонаты, бензолсульфонаты, п-толуолсульфонаты, лаурилсульфаты, малаты, аспартаты, глутаматы, адипаты, соли тригидроксиметиламинометана, соли, образованные с цистеином, соли, образованные с N-ацетилцистеином, гидрохлориды, гидробромиды, фосфаты, сульфаты, гидройодаты, никотинаты, оксалаты, пикраты, тиоцианаты, ундеканоаты, соли, образованные с карбоксивиниловыми полимерами, и подобные.

Гидратом соединения, представленного формулой (I), предпочтительно является моногидрат.

Соединение формулы (I), применяемое в соответствии с данным изобретением, может быть получено различными известными методами, т.е. методы особенно не ограничены. Например, соединение формулы (I) может быть получено в соответствии со следующими стадиями, как описано в следующей схеме пути реакции, но способ получения его не ограничен.

Схема реакции



где, R_1 , R_2 и R_3 такие, как определены выше, и X является галогеном.

- i) Алкилирование сырья 1 аллилбромидом;
- ii) диазотирование с применением нитрита натрия с последующим гидролизом с получением промежуточного соединения В;
- iii) галогенирование C^8 галосукцинимидом, где R_3 является -F, -Cl, -Br или -I;
- iv) алкилирование на N^3 , где R_2 является водородом или алкилом;
- v) алкилирование на N^1 , где R_1 является алкановой группой;
- vi) удаление аллила;
- vii) алкилирование на N^3 , где R_2 является алкановой группой;
- viii) алкилирование на N^1 , где R_1 является алкановой группой;
- ix) образование альдегидной группы на C^8 ;
- x) превращение альдегида в нитрил.

В частности, как показано на схеме реакции выше, если R_3 является галогеном, сырье 1 алкилируют аллилбромидом при температуре 0-50°C, предпочтительно 20-30°C, в растворителе, таком как ДМСО, ДМФ, ацетон, диоксан, ацетонитрил, тетрагидрофуран или N-метилпирролидон, предпочтительно в ДМСО, с получением промежуточного соединения А. Затем проводят диазотирование с применением нитрита натрия при температуре 0-100°C, предпочтительно 20-60°C, в системе, образованной кислотой при низкой концентрации (такой как уксусная кислота, разбавленная хлористоводородная кислота или разбавленная серная кислота) и водой, с последующим гидролизом с получением промежуточного соединения В. Промежуточное соединение В галогенируют галосукцинимидом в ДМФ, ДМСО, диоксане, ацетонитриле, тетрагидрофуране или N-метилпирролидоне, при температуре 0-100°C, предпочтительно 20-60°C, с получением промежуточного соединения С. Промежуточное соединение С алкилируют с применением галоидоуглеводорода в присутствии основания в ДМФ, ДМСО, диоксане, ацетонитриле, тетрагидрофуране или N-метилпирролидоне, при температуре 0-50°C, предпочтительно 25°C, с получением промежуточного соединения D, где стадия получения промежуточного соединения D может предшествовать стадии получения промежуточного соединения С. Если R_1 является алкилом, промежуточное соединение D алкилируют с применением галоидоуглеводорода в присутствии основания в ДМФ, ДМСО, диоксане, ацетонитриле, тетрагидрофуране или N-метилпирролидоне при температуре от 0 до 120°C, предпочтительно от 50 до 100°C, с получением промежуточного соединения E. Промежуточное соединение D (R_1 является водородом) или промежуточное соединение E (R_1 является алкилом) добавляют с морфолином или 1,3-диметилбарбитуровой кислотой под защитой инертного газа в дихлорметане, хлороформе, тетрагидрометане или ацетоне при температуре от 0 до 60°C, предпочтительно от 20 до 30°C, и аллил удаляют под катализом палладиевым катализатором или без катализатора с получением соединения, представленного формулой (I).

Если R_3 является цианогруппой, промежуточное соединение В алкилируют с применением галоидоуглеводорода в присутствии основания в ДМФ, ДМСО, диоксане, ацетонитриле, тетрагидрофуране или N-метилпирролидоне при 0-50°C, предпочтительно 25°C, с получением промежуточного соединения С'. Промежуточное соединение С' алкилируют с применением галоидоуглеводорода в присутствии основания в ДМФ, ДМСО, диоксане, ацетонитриле, тетрагидрофуране или N-метилпирролидоне при температуре от 0 до 120°C, предпочтительно от 50 до 100°C, с получением промежуточного соединения D'. Промежуточное соединение D' подвергают реакции отщепления с применением LiHMDS или NaHMDS и затем гасят ДМФ, в спирте или воде с получением промежуточного соединения E'. Промежуточное соединение

Е' превращают в промежуточное соединение F' в уксусном ангидриде, толуоле или бензоле под действием гидрохлорида гидроксиламина и пиридина. Промежуточное соединение F' объединяют с морфолином или 1,3-диметилбарбитуровой кислотой под защитой инертного газа в дихлорметане, хлороформе, тетрагидрометане или ацетоне при температуре от 0 до 60°C, предпочтительно от 20 до 30°C, и аллил удаляют под катализом палладиевым катализатором или без катализатора с получением соединения, представленного формулой (I).

Указанным выше галогенсукцинимидом может быть хлорсукцинимид, бромсукцинимид, йодсукцинимид или подобные. Указанным выше основанием может быть карбонат натрия, карбонат калия, бикарбонат натрия, карбонат цезия или подобные. Указанным выше инертным газом является азот, аргон или подобный.

Промежуточные соединения и целевые продукты, полученные в указанных выше реакциях, могут быть выделены и очищены обычными методами очистки, обычно применяемыми в органическом синтезе, такими как фильтрация, экстрагирование, промывание, сушка, концентрация, перекристаллизация, различные виды хроматографии и подобные, при необходимости. Кроме того, промежуточные соединения также могут применяться непосредственно на следующей стадии без конкретной очистки.

Полученные соединения общей формулы (I) также могут образовывать кислотнo-аддитивные соли, основнo-аддитивные соли и гидраты обычным способом.

Данное изобретение включает применение композиции, содержащей соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемую соль, или его гидрат. Композиции также содержат один или более фармацевтически приемлемых носителей. Указанные выше носители включают, например, наполнители и разбавители, включая воду, лактозу, глюкозу, фруктозу, сахарозу, сорбит, маннит, полиэтиленгликоль, пропиленгликоль, крахмал, камедь, желатин, альгинат, силикат кальция, фосфат кальция, целлюлозу, сироп, метилцеллюлозу, поливинилпирролидон, тальк, стеарат магния, стеариновую кислоту, глицерин, конопляное масло, оливковое масло, соевое масло и другие масла.

Фармацевтическая композиция, применяемая в соответствии с данным изобретением, содержащая соединение, представленное формулой (I), или его фармацевтически приемлемую соль, или его гидрат в качестве эффективного ингредиента, может вводиться перорально, например в форме таблеток, капсул, гранул, порошков, сиропов и подобных, или вводиться не пероральным способом, таким как внутривенная инъекция, внутримышечная инъекция, стерильный порошок для инъекций, концентрированный раствор для инъекций, суппозиторий, ингалят, чрескожный абсорбент, глазные капли и капли в нос. Кроме того, когда фармацевтический препарат в любой из описанных выше лекарственных форм получают обычным способом, активный ингредиент может применяться отдельно или в подходящем сочетании с другими фармацевтически приемлемыми носителями, такими как наполнители, связующие агенты, расщипители, разрыхлители, поверхностно-активные вещества, смазывающие агенты, диспергирующие агенты, буферы, консерванты, вкусовые добавки, отдушки, покрытия, разбавители и подобные.

Доза фармацевтической композиции в соответствии с данным изобретением варьируется в зависимости от массы тела, возраста, пола и симптомов пациента и может быть подходящим образом выбрана в зависимости от пути введения композиции, такого как пероральное и не пероральное введение.

Далее указанные выше описания в соответствии с данным изобретением более подробно объясняются с помощью конкретных вариантов в виде примеров. Однако они не должны рассматриваться как ограничивающие описанный выше объект в соответствии с данным изобретением следующими примерами.

Пример 1. Фармакокинетический эксперимент на яванских макаках (*Macaca fascicularis*).

Применяют следующие тестируемые образцы:

- соединение А, полученное в примере получения 2,
- соединение В, полученное в примере получения 1,
- соединение С, полученное в примере получения 3, и
- соединение D, полученное в примере получения 4.

Эксперименты на животных проводят в Peng-Li Biomedical Technology (Shanghai) Co., Ltd., и Shandong Hongli Medical Animal Experimental Research Co., Ltd.

Животных покупают в Suzhou Xishan Zhongke Experimental Animal Co., Ltd.

Трем не аборигенным яванским макакам вводят тестируемые соединения А, В и D в дозе 5 мг/кг внутривенной инъекцией и тестируемое соединение С в дозе 3 мг/кг внутривенной инъекцией, с одновременным тестированием одного соединения. Кровь берут из вены до введения и через 1 ч, 3 ч, 6 ч и 24 ч после введения и выделяют плазму. Плазму анализируют на ЖХ-МС/МС инструменте 4000 Q Trap. Концентрации тестируемых образцов были получены на Analyst 1.6,1 от AB Company. Параметры (), такие как среднее стандартное отклонение и коэффициент вариации, рассчитывают с применением Microsoft Excel, где значения, полученные на Analyst 1.6,1, не требуют расчета. Параметры ФК рассчитывают с применением программы Pharsight Phoenix 6.2 (модель NCA).

Результаты периода полувыведения ($t_{1/2z}$ (ч)) показаны в табл. 1 ниже.

Таблица 1

$t_{1/2z}$ (ч) (среднее $\pm$ CO) (n=3) соединений А, В, С и D вводят яванскому макаку внутривенно

Группа	$t_{1/2z}$ (ч)
Соединение А	14,55 $\pm$ 6,69
Соединение В	2,72 $\pm$ 0,35
Соединение С	41,49 $\pm$ 12,31
Соединение D	5,90 $\pm$ 0,42

Из результатов эксперимента можно увидеть, что значения периода полувыведения ($t_{1/2z}$ (ч)) для соединений А, В, С и D, вводимых яванским макакам внутривенно, значительно отличаются друг от друга. Время сбора образцов в эксперименте со снижением мочевой кислоты определяют в соответствии с $t_{1/2z}$ (ч).

Пример 2. Эксперимент по снижению мочевой кислоты.

Применяют следующие тестируемые образцы:

соединение А, полученное в примере получения 2,

соединение В, полученное в примере получения 1,

соединение С, полученное в примере получения 3, и

соединение D, полученное в примере получения 4.

Эксперимент проводят в Peng-Li Biomedical Technology (Shanghai) Co., Ltd.

Животных покупают в Suzhou Xishan Zhongke Experimental Animal Co., Ltd.

Эксперимент проводят по ссылке на Komoriya K., Osada Y., Hasegawa M., Horiuchi H., Kondo S., Couch R.C., Griffin T.B. Hypouricemic effect of allopurinol and the novel xanthine oxidase inhibitor TEI-6720 in chimpanzees. Eur. J. Pharmacol. 1993 Dec 21; 250(3): 455-60.

Каждое соединение тестируют на трех не аборигенных яванских макаках (№ 1, № 2 и № 3), где обезьянам вводят тестируемые образцы внутривенной инъекцией. Кровь берут из вены до введения и через 1 ч, 3 ч, 6 ч и 24 ч после введения. Кровь оставляют при комнатной температуре. Сыворотку собирают центрифугированием. Измеряют содержание мочевой кислоты в сыворотке.

Степень снижения мочевой кислоты в сыворотке = (среднее содержание мочевой кислоты до введения - среднее содержание мочевой кислоты после введения)/среднее содержание мочевой кислоты до введения $\times$ 100%.

Результаты следующие.

С учетом ($t_{1/2z}$ (ч)) соединений А, В, С и D, введенных яванским макакам внутривенно, определяют содержание мочевой кислоты в сыворотке и степень снижения мочевой кислоты в сыворотке до введения и через 3 ч и 6 ч после введения соединения А, содержание мочевой кислоты в сыворотке и степень снижения мочевой кислоты в сыворотке до введения и через 3 ч после введения соединения В, содержание мочевой кислоты в сыворотке и степень снижения мочевой кислоты в сыворотке до введения и через 24 ч после введения соединения С и содержание мочевой кислоты в сыворотке и степень снижения мочевой кислоты в сыворотке до введения и через 3 ч после введения соединения D соответственно. Конкретные результаты показаны в табл. 2-9 ниже.

Таблица 2

Результаты тестирования снижения мочевой кислоты в сыворотке соединением А				
Группа	Содержание мочевой кислоты в сыворотке (мкмоль/л)			
№ животного	№1	№2	№3	среднее
До введения	75,9	91,9	63,7	77,2
3 ч после введения	61,9	57,0	59,9	59,6
6 ч после введения	67,6	47,6	50,4	55,2

Таблица 3

Степень снижения мочевой кислоты в сыворотке соединением А				
Группа	Степень снижения мочевой кислоты в сыворотке (%)			
№ животного	№1	№2	№3	среднее
До введения	/	/	/	/
3 ч после введения	18,5	38,0	5,98	22,8
6 ч после введения	10,9	48,2	20,9	28,5

Таблица 4

Результаты тестирования снижения мочевой кислоты в сыворотке соединением В

Группа	Содержание мочевой кислоты в сыворотке (мкмоль/л)		
№ животного	№1	№2	среднее
До введения	83,8	57,6	70,7
3 ч после введения	69,1	52,3	60,7

Таблица 5

Степень снижения мочевой кислоты в сыворотке соединением В

Группа	Степень снижения мочевой кислоты в сыворотке (%)		
№ животного	№1	№2	среднее
До введения	/	/	/
3 ч после введения	17,5	9,2	14,1

Таблица 6

Результаты тестирования снижения мочевой кислоты в сыворотке соединением С

Группа	Содержание мочевой кислоты в сыворотке (мкмоль/л)			
№ животного	№1	№2	№3	среднее
До введения	57,5	64,9	58,9	60,4
24 ч после введения	45,8	38,3	50,7	44,9

Таблица 7

Степень снижения мочевой кислоты в сыворотке соединением С

Группа	Степень снижения мочевой кислоты в сыворотке (%)			
№ животного	№1	№2	№3	среднее
До введения	/	/	/	/
24 ч после введения	20,3	41,0	13,9	25,7

Таблица 8

Результаты тестирования снижения мочевой кислоты в сыворотке соединением D

Группа	Содержание мочевой кислоты в сыворотке (мкмоль/л)		
№ животного	№1	№2	среднее
До введения	57,9	54,5	56,2
3 ч после введения	49,6	47,1	48,4

Таблица 9

Степень снижения мочевой кислоты в сыворотке соединением D			
Группа	Степень снижения мочевой кислоты в сыворотке (%)		
	№1	№2	среднее
№ животного			
До введения	/	/	/
3 ч после введения	14,3	13,6	13,9

Из результатов тестирования понятно, что соединения А, В, С и D могут значительно снижать уровни мочевой кислоты в сыворотке у тестируемых обезьян по сравнению с уровнями, измеренными до введения, что указывает на то, что соединение формулы (I) эффективно для лечения и/или профилактики гиперурикемии, подагры, подагрических воспалений и мочекаменной болезни.

Пример 3. Тестирование снижения мочевой кислоты у обезьян, имеющих гиперурикемию.

Применяют следующие тестируемые образцы:

соединение А, полученное в примере получения 2.

Глюкозу 5%, растворитель, применяемый в примере, покупают в Chen Xin Pharmaceutical Co., Ltd., номер лота 1312022142.

Мочевую кислоту (МК), реагент, применяемый в примере, покупают в Sigma-Aldrich Co., Ltd., номер лота BC8832V.

Эксперимент на животных проводят в Shandong Hongli Medical Animal Experimental Research Co., Ltd.

Животных покупают в Suzhou Xishan Zhongke Experimental Animal Co., Ltd.

Эксперимент проводят по ссылке Komoriya K., Osada Y., Hasegawa M., Horiuchi H., Kondo S., Couch R.C., Griffin T.B. Hypouricemic effect of allopurinol and the novel xanthine oxidase inhibitor TEI-6720 in chimpanzees. Eur. J. Pharmacol. 1993 Dec 21; 250(3): 455-60.

В модельной группе трем не аборигенным яванским макакам (№ 1, № 2 и № 3) вводят МК подкожной инъекцией в заднюю часть шеи. Кровь берут из вены перед введением МК и через 0,5 ч, 1 ч, 2 ч, 4 ч, 6 ч и 24 ч после введения МК. Кровь оставляют при комнатной температуре. Сыворотку собирают центрифугированием. Измеряют содержание мочевой кислоты в сыворотке.

В группе введения трем не аборигенным яванским макакам (№ 1, № 2 и № 3) вводят тестируемый образец внутривенной инъекцией через 2 недели очищения. Кровь берут из вены до введения и через 2 ч после введения тестируемого образца. Затем обезьянам вводят МК подкожной инъекцией в заднюю часть шеи, и кровь берут из вены через 1 ч, 2 ч и 4 ч после введения МК. Кровь оставляют при комнатной температуре. Сыворотку собирают центрифугированием. Измеряют содержание мочевой кислоты в сыворотке.

Степень снижения мочевой кислоты в сыворотке у здоровых обезьян с введенным тестируемым образцом = (среднее содержание мочевой кислоты до введения - среднее содержание мочевой кислоты через 2 ч после введения тестируемого образца)/среднее содержание мочевой кислоты до введения × 100%.

Степень снижения мочевой кислоты в сыворотке у обезьян, имеющих гиперурикемию после введения тестируемого образца = (содержание мочевой кислоты после введения МК в модельной группе - содержание мочевой кислоты после введения МК в группе введения)/содержание мочевой кислоты в модельной группе × (100%).

Результаты тестирования следующие.

С учетом периода полувыведения ($t_{1/2z} = 0,54$ ч) мочевой кислоты (МК) у яванских макаков из модельной группы, а также тенденции изменения содержания мочевой кислоты в сыворотке определяют время сбора образцов в группе введения. То есть образцы берут до введения, через 2 ч после введения тестируемого образца и через 1 ч, 2 ч и 4 ч после введения МК для определения содержания мочевой кислоты в сыворотке. Содержание мочевой кислоты в сыворотке в модельной группе и группе введения и степень снижения мочевой кислоты в сыворотке показаны в следующих табл. 3-1, 3-2 и 3-3 соответственно.

Таблица 3-1

Результаты тестирования снижения мочевой кислоты в сыворотке в модельной группе

Группа	Содержание мочевой кислоты в сыворотке (мкмоль/л)			
	№1	№2	№3	среднее
№ животного				
До введения МК	28,2	59,0	46,1	44,4
1 ч после введения МК	116,7	132,0	120,5	123,1
2 ч после введения МК	80,8	92,3	67,9	80,3
4 ч после введения МК	79,5	53,8	64,1	65,8

Таблица 3-2

Результаты тестирования снижения мочевой кислоты в сыворотке в группе введения

Группа	Содержание мочевой кислоты в сыворотке (мкмоль /л)			
	№1	№2	№3	среднее
№ животного				
До введения	23,0	53,1	35,1	37,1
2 ч после введения				
тестируемого образца	12,3	37,0	34,6	28,0
1 ч после введения МК	75,3	97,5	53,1	75,3
2 ч после введения МК	26,6	58,0	37,0	40,5
4 ч после введения МК	28,4	12,3	43,2	28,0

Таблица 3-3

Степень снижения мочевой кислоты в сыворотке в группе введения

Группа	Степень снижения мочевой кислоты в сыворотке (%)			
	№1	№2	№3	среднее
№ животного				
До введения	/	/	/	/
2 ч после введения				
тестируемого образца	46,4	30,2	1,56	26,1
1 ч после введения МК	35,5	26,2	56,0	39,2
2 ч после введения МК	67,1	37,2	45,5	49,1
4 ч после введения МК г	64,3	77,1	32,6	58,0

Из результатов тестирования видно, что соединение А может значительно снижать содержание мочевой кислоты в сыворотке у тестируемых обезьян по сравнению с этим показателем в группе модель (самосравнение), что показывает, что соединения формулы (I) применяют для лечения и/или профилактики гиперурикемии, подагры, подагрических воспалений и мочекистой нефропатии.

Пример 4. Эксперимент с вызванным МНУ подагрическим артритом.

Применяют следующие тестируемые образцы:

соединение А, полученное в примере получения 2,
соединение В, полученное в примере получения 1, и
соединение С, полученное в примере получения 3.

Диметилсульфоксид, растворитель, применяемый в примере, покупают в Sigma-Aldrich Co., Ltd., номер лота SZBD133SV.

15-Гидроксистеарат полиэтиленгликоля (Kolliphor HS 15), растворитель, покупают в Beijing Feng-Li-Jing-Qiu Trade Co., Ltd., номер лота 19888216KO.

Глюкозу 5%, растворитель, покупают в Chen Xin Pharmaceutical Co., Ltd., номер лота 1312022142.

МК, реагент, применяемый в примере, покупают в Sigma-Aldrich Co., Ltd., номер лота BCBM8832V.

Самцов крыс Wistar покупают в Beijing Weitong Lihua Experimental Animal Technology Co., Ltd.

Эксперимент проводят по ссылке Hsin-Pai Lee, Shi-Ying Huang, Yen-You Lin. Soft Coral-Derived Lemnalol Alleviates Monosodium Urate-Induced Gouty Arthritis in Rats by Inhibiting Leukocyte Infiltration and iNOS, COX-2 and c-Fos Protein Expression. Mar. Agents 2013, 11, 99-113.

Получение кристалла МНУ.

Один грамм мочевой кислоты взвешивают, добавляют в 200 мл кипящей воды и нагревают. Затем добавляют NaOH (2 моль/л) до достижения pH 9. Раствор становится прозрачным, и его охлаждают при комнатной температуре и затем выдерживают в течение ночи. МНУ получают после фильтрации, сушат при 60°C в течение 24 ч и затем стерилизуют при высокой температуре 180°C.

Самцов крыс Wistar выращивают в течение одной недели до эксперимента и затем произвольно делят на группы. Объемы пальцев стопы крыс измеряют за один день до эксперимента. Крысам вводят растворитель подкожной инъекцией в модельной группе в дозе 5 мл/кг, другим крысам вводят тестируемые образцы подкожной инъекцией в группе введения в дозе 5 мг/кг. Крыс усыпляют сразу же после введения и вводят 0,09 мл суспензии МНУ в полость сустава в левый голеностоп. Объем левого пальца измеряют у крыс через 9 ч после введения МНУ в полость голеностопного сустава.

Результаты тестирования показаны в табл. 10 ниже.

Таблица 10

Результаты эксперимента с подагрическим артритом (5 мг/кг)		
Группа	Изменение	Ингибирование
	объема	изменения объема
	пальца (мл)	пальца (%)
Модельная группа	0,504	/
Группа с соединением А	0,416	17,5
Группа с соединением В	0,349	30,8
Группа с соединением С	0,451	10,5

Из результатов тестирования видно, что соединения А, В и С могут значительно ингибировать увеличение объемов пальцев у тестируемых крыс по сравнению с модельной группой, что показывает, что соединения формулы (I) могут быть полезными для лечения и/или профилактики гиперурикемии, подагры, подагрических воспалений и мочеислой нефропатии.

Пример 5. Эксперимент с вызванным МНУ подагрическим артритом.

Применяют следующие тестируемые образцы:

соединение А, полученное в примере получения 2,

соединение С, полученное в примере получения 3, и

соединение D, полученное в примере получения 4.

Диметилсульфоксид, растворитель, применяемый в примере, покупают в Sigma-Aldrich Co., Ltd., номер лота SZBD133SV.

15-Гидроксистеарат полиэтиленгликоля (Kolliphor HS 15), растворитель, применяемый в примере, покупают в Beijing Feng-Li-Jing-Qiu Trade Co., Ltd., номер лота 19888216KO.

Глюкозу 5%, растворитель, применяемый в примере, покупают в Chen Xin Pharmaceutical Co., Ltd., номер лота 1312022142.

МК, реагент, применяемый в примере, покупают в Sigma-Aldrich Co., Ltd., номер лота BCBM8832V.

Самцов крыс Wistar покупают в Beijing Weitong Lihua Experimental Animal Technology Co., Ltd.

Эксперимент проводят по ссылке Hsin-Pai Lee, Shi-Ying Huang, Yen-You Lin. Soft Coral-Derived Lemnalol Alleviates Monosodium Urate-Induced Gouty Arthritis in Rats by Inhibiting Leukocyte Infiltration and iNOS, COX-2 and c-Fos Protein Expression. Mar. Agents 2013, 11, 99-113.

Получение кристалла МНУ.

Один грамм мочевой кислоты взвешивают, добавляют в 200 мл кипящей воды и нагревают. Затем добавляют NaOH (2 моль/л) до достижения pH 9. Раствор становится прозрачным, и его охлаждают при комнатной температуре и затем выдерживают в течение ночи. МНУ получают после фильтрации, сушат при 60°C в течение 24 ч и затем стерилизуют при высокой температуре 180°C.

Самцов крыс Wistar выращивают в течение одной недели до эксперимента и затем произвольно делят на группы. Объемы пальцев стопы крыс измеряют за один день до эксперимента. Крысам вводят растворитель подкожной инъекцией в модельной группе в дозе 15 мл/кг, другим крысам вводят тестируемые образцы подкожной инъекцией в группе введения в дозе 15 или 10 мг/кг. Крыс усыпляют сразу же после введения и вводят 0,09 мл суспензии МНУ в полость сустава в левый голеностоп. Объем левого пальца измеряют у крыс через 9 ч после введения МНУ в полость голеностопного сустава.

Результаты тестирования показаны в табл. 11 ниже.

Таблица 11

Результаты эксперимента с подагрическим артритом		
Группа	Изменение	Ингибирование
	объема	изменения объема
	пальца (мл)	пальца (%)
Контроль	-0,031	/
Модельная группа	0,404	/
Группа с соединением А (15 мг/кг)	0,264	34,7
Группа с соединением С (10 мг/кг)	0,261	35,4
Группа с соединением D (15 мг/кг)	0,232	42,6

Из результатов тестирования видно, что соединения А, С и D могут значительно ингибировать увеличение объемов пальцев у тестируемых крыс по сравнению с модельной группой, что показывает, что

соединения формулы (I) могут быть полезными для лечения и/или профилактики гиперурикемии, подагры, подагрических воспалений и мочекислотной нефропатии.

Крыс с подагрическим артритом помещают в метаболическую клетку и центр ступни левой лапы каждой крысы раздражают электронным детектором болевого порога Von Frey. Значение максимального стресса записывают, когда каждая крыса отдергивает лапу, и значение является показателем боли для этой крысы.

Результаты тестирования показаны в табл. 12 ниже.

Таблица 12

Показатели боли	
Группа	Показатель боли (г)
Контроль	57,94
Модельная группа	35,59
Группа с соединением А (15 мг/кг)	47,51
Группа с соединением С (10 мг/кг)	43,46
Группа с соединением D (15 мг/кг)	43,10

Из результатов тестирования видно, что соединения А, С и D могут значительно повышать показатели боли у тестируемых крыс по сравнению с модельной группой, что показывает, что соединения формулы (I) могут быть полезными для лечения и/или профилактики гиперурикемии, подагры, подагрических воспалений и мочекислотной нефропатии.

Пример 6. Эксперимент с вызванным МНУ подагрическим артритом.

Применяют следующие тестируемые образцы:

соединение В, полученное в примере получения 1.

Глюкозу 5%, растворитель, применяемый в примере, покупают в Chen Xin Pharmaceutical Co., Ltd., номер лота 1312022142.

МК, реагент, применяемый в примере, покупают в Sigma-Aldrich Co., Ltd., номер лота BCBM8832V.

Самцов крыс Wistar покупают в Beijing Weitong Lihua Experimental Animal Technology Co., Ltd.

Эксперимент проводят по ссылке Hsin-Pai Lee, Shi-Ying Huang, Yen-You Lin. Soft Coral-Derived Lemnalol Alleviates Monosodium Urate-Induced Gouty Arthritis in Rats by Inhibiting Leukocyte Infiltration and iNOS, COX-2 and c-Fos Protein Expression. Mar. Agents 2013, 11, 99-113.

Получение кристалла МНУ.

Один грамм мочево́й кислоты взвешивают, добавляют в 200 мл кипящей воды и нагревают. Затем добавляют NaOH (2 моль/л) до достижения pH 9. Раствор становится прозрачным, и его охлаждают при комнатной температуре и затем выдерживают в течение ночи. МНУ получают после фильтрации, сушат при 60°C в течение 24 ч и затем стерилизуют при высокой температуре 180°C.

Самцов крыс Wistar выращивают в течение одной недели до эксперимента и затем произвольно делят на группы. Объемы пальцев стопы крыс измеряют за один день до эксперимента. Крысам вводят растворитель подкожной инъекцией в модельной группе в дозе 15 мл/кг, другим крысам вводят тестируемые образцы подкожной инъекцией в группе введения в дозе 15 мг/кг. Крыс усыпляют сразу же после введения и вводят 0,09 мл суспензии МНУ в полость сустава в левый голеностоп. Объем левого пальца измеряют у крыс через 9 ч после введения МНУ в полость голеностопного сустава.

Результаты тестирования показаны в табл. 13 ниже.

Таблица 13

Результаты эксперимента с подагрическим артритом (15 мг/кг)		
Группа	Изменение	Ингибирование
	объема	изменения объема
	пальца (мл)	пальца (%)
Контроль	0	/
Модельная группа	0,450	/
Группа с соединением В	0,229	49,1

Из результатов тестирования видно, что соединение В может значительно ингибировать увеличение объемов пальцев у тестируемых крыс по сравнению с модельной группой, что показывает, что соединения формулы (I) могут быть полезными для лечения и/или профилактики гиперурикемии, подагры, подагрических воспалений и мочекислотной нефропатии.

Крыс с подагрическим артритом помещают в метаболическую клетку и центр ступни левой лапы каждой крысы раздражают электронным детектором болевого порога Von Frey. Значение максимального стресса записывают, когда каждая крыса отдергивает лапу, и значение является показателем боли для

этой крысы.

Результаты тестирования показаны в табл. 14 ниже.

Таблица 14

Показатели боли	
Группа	Показатель боли (г)
Контроль	54,6
Модельная группа	27,5
Группа с соединением В	37,2

Из результатов тестирования видно, что соединение В может значительно повышать показатели боли у тестируемых крыс по сравнению с модельной группой, что показывает, что соединения формулы (I) могут быть полезными для лечения и/или профилактики гиперурикемии, подагры, подагрических воспалений и мочеислой нефропатии.

Пример 7. Эксперимент с вызванным ЛПС выделением ФНО- α .

Применяют следующие тестируемые образцы:

соединение С, полученное в примере получения 3, и

соединение D, полученное в примере получения 4.

Диметилсульфоксид, растворитель, применяемый в примере, покупают в Sigma-Aldrich Co., Ltd., номер лота SZBD133SV.

15-Гидроксистеарат полиэтиленгликоля (Kolliphor HS 15), растворитель, применяемый в примере, покупают в Beijing Feng-Li-Jing-Qiu Trade Co., Ltd., номер лота 19888216KO.

Глюкозу 5%, растворитель, применяемый в примере, покупают в Chen Xin Pharmaceutical Co., Ltd., номер лота 1312022142.

Липополисахарид (ЛПС), реагент, применяемый в примере, доступен от Sigma-Aldrich Co., Ltd., номер лота 114M4009V.

Физиологический раствор с фосфатным буфером (ФРФБ), реагент, применяемый в примере, доступен от Life Technologies, номер лота 15552504.

Самцов мышей BALB/C покупают в Beijing Weitong Lihua Experimental Animal Technology Co., Ltd.

Эксперимент проводят по ссылке Pascale Gaillard, Isabelle Jeanclaude-Etter, etc. Design and Synthesis of the First Generation of Novel Potent, Selective, and in Vivo Active (Benzothiazol-2-yl)acetonitrile Inhibitors of the c-Jun N-Terminal. J. Med. Chem. 2005, 48, 4596-4607.

Мышей BALB/C выращивают в клетке для животных категории SPF в течение 1 недели и затем произвольно делят на соответствующую модельную группу и группы введения в соответствии с массой тела. Крысам вводят растворитель или тестируемые образцы подкожной инъекцией в дозе 10 мг/кг. Крысам вводят ЛПС внутрибрюшинной инъекцией в дозе 15 мг/кг через 30 мин после введения растворителя или тестируемых образцов. Мышей усыпляют фенобарбиталом натрия (45 мг/кг внутрибрюшинной инъекцией) через 1 ч после введения ЛПС. Кровь берут через сердечную пункцию и содержание ФНО- α (фактор некроза опухоли) в плазме измеряют с помощью набора Mouse TNF- α Elisa Ready-set-go.

Результаты тестирования показаны в табл. 15 ниже.

Таблица 15

Результаты эксперимента с вызванным ЛПС выделением ФНО-α		
Группа	Содержание	ингибирование
	ФНО-α (пг/мл)	(%)
Модельная группа	1597	/
Группа с соединением С	1208	24,4
Группа с соединением D	1124	29,6

Из результатов тестирования видно, что соединения С и D могут значительно снижать содержание ФНО- α в плазме тестируемых мышей по сравнению с модельной группой, что показывает, что соединения формулы (I) могут применяться в лечении и/или профилактике подагрических воспалений.

Пример 8. Тестирование вызванного ConA выделения ИФН γ .

Применяют следующие тестируемые образцы:

соединение А, полученное в примере получения 2,

соединение С, полученное в примере получения 3, и

соединение D, полученное в примере получения 4.

Диметилсульфоксид, растворитель, применяемый в примере, покупают в Sigma-Aldrich Co., Ltd., номер лота SZBD133SV.

15-Гидроксистеарат полиэтиленгликоля (Kolliphor HS 15), растворитель, применяемый в примере, покупают в Beijing Feng-Li-Jing-Qiu Trade Co., Ltd., номер лота 19888216KO.

Глюкозу 5%, растворитель, применяемый в примере, покупают в Chen Xin Pharmaceutical Co., Ltd., номер лота 1312022142.

Конканавалин А (ConA), реагент, применяемый в примере, покупают в Sigma-Aldrich Co., Ltd., номер лота SLBD7276V.

Физиологический раствор, забуференный фосфатом Дульбекко (ФРЗФД), реагент, применяемый в примере, покупают в Life Technologies, номер лота 1627698.

Самцов мышей C57BL/6 покупают в Beijing Weitong Lihua Experimental Animal Technology Co., Ltd.

Эксперимент проводят по ссылке Dalya R. Soondl, Elisa Bjergo, etc. PI3K p110 δ regulates T cell cytokine production during primary and secondary immune responses in mice and humans. Blood. Author manuscript; доступна в PMC 2013 March 11; и Gabriele Sass, Sonja Heinlein, etc. CYTOKINE EXPRESSION IN THREE MOUSE MODELS OF EXPERIMENTAL HEPATITIS. CYTOKINE, Vol. 19, No. 3 (7 August), 2002: pp. 115-120.

Мышей C57BL/6 выращивают в клетке для животных категории SPF в течение 1 недели и затем произвольно делят на соответствующую модельную группу и группы введения в соответствии с массой тела. Крысам вводят ConA инъекцией в хвостовую вену в дозе 15 мг/кг через 30 мин после введения растворителя или тестируемых образцов подкожной инъекцией в дозе 20 мг/кг. Затем мышей усыпляют фенобарбиталом натрия (45 мг/кг внутривенной инъекцией) через 3 ч после введения ConA, кровь берут через сердечную пункцию. Кровь помещают в центрифужную пробирку без антикоагулянта и оставляют при комнатной температуре. Через 1 ч кровь центрифугируют. Выделяют сыворотку и хранят при -80°C. Содержание ИФН γ (γ -интерферон) в сыворотке определяют с помощью набора Mouse ИФН γ Elisa Ready-set-go.

Результаты тестирования показаны в табл. 16 ниже.

Таблица 16

Результаты тестирования вызванного ConA выделения ИФН γ		
Группа	Содержание ИФН γ	ингибирование
	(пг/мл)	(%)
Модельная группа	3281	/
Группа с соединением А	2025	38,3
Группа с соединением С	2644	19,4
Группа с соединением D	2108	35,8

Из результатов тестирования видно, что соединения А, С и D могут значительно снижать содержание ИФН γ в сыворотке тестируемых мышей по сравнению с модельной группой, что показывает, что соединения формулы (I) применяют для лечения и/или профилактики подагрических воспалений.

Пример 9. Эксперимент с аэросакулитом.

Применяют следующие тестируемые образцы:

соединение А, полученное в примере получения 2.

Avicel RC-591, растворитель, применяемый в примере, покупают в FMC BioPolymer, номер лота DN14827450.

МК, реагент, применяемый в примере, покупают в Sigma-Aldrich.

Самцов крыс SD покупают в Shanghai Slack Experimental Animal Co., Ltd.

Метод эксперимента.

Получение суспензии МНУ.

Один грамм мочево́й кислоты растворяют в 0,2 л кипящей воды, содержащей 6 мл 1N NaOH. Значение pH доводят до 7,4. Раствор охлаждают при комнатной температуре и выстаивают в течение ночи при 4°C. Затем раствор центрифугируют, выпаривают и сушат с получением кристаллов МНУ. После обработки ультразвуком под микроскопом обнаруживают игольчатые кристаллы длиной 5-25 мкм. Пять миллиграммов кристаллов помещают в стеклянную колбу и затем стерилизуют под высоким давлением. Стерильные кристаллы МНУ добавляют к 5 мл стерилизованного солевого раствора, затем вводят в альвеолярные мешочки.

Самцов крыс Wistar выращивают в течение одной недели и затем произвольно делят на 6 групп. Животных усыпляют, затем вводят 24 мл стерильного воздуха в спины. Животные получают вторую инъекцию воздуха через 4 дня. На 7 день крысам в контрольной группе и модельной группе внутривенно вводят растворитель в дозе 10 мл/кг; крысам в группе дексаметазона вводят внутривенно дексаметазон в дозе 5 мг/кг; крысам в группе колхицина внутривенно вводят колхицин в

дозе 5 мг/кг. В группах с высокой и низкой дозой соединения А крысам внутрижелудочно вводят соединение А в дозе 100 мг/кг и 30 мг/кг соответственно. Через 1 ч после введения крысам в контрольной группе вводят 5 мл солевого раствора в альвеолярные мешочки на спине, и крысам из других групп вводят 5 мл суспензии кристаллов МНУ (1 мг/мл) в альвеолярные мешочки на спине. Через 4 ч берут промывную жидкость из альвеолярных мешочков, и часть промывной жидкости используют для цитологического анализа. Оставшуюся жидкость центрифугируют при 8000 об/мин в течение 15 мин и надосадочную жидкость хранят при -80°C для определения цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, КС и ФНО α . Результаты тестирования показаны как среднее $\pm$ СОС и статистически анализированы с помощью t-критерия.

Результаты тестирования показаны в табл. 17 и 18 ниже.

Таблица 17

Группа	Количество лейкоцитов (среднее $\pm$ СОС, n=8)					
	Общее количество клеток (*10 ⁴ /альвеолярные мешочки)	Количество лейкоцитов (*10 ⁴ / альвеолярные мешочки)				
		Моноциты	Лимфоциты	Эозиноциты	Базофилы	Нейтрофилы
Контрольная группа	113,6 $\pm$ 20,9	106,2 $\pm$ 19,3	4,3 $\pm$ 1,3	0,9 $\pm$ 0,2	0 $\pm$ 0	2,1 $\pm$ 0,7
Модельная группа	307,2 $\pm$ 74,2***	173 $\pm$ 31,3	11,1 $\pm$ 3,2	7,4 $\pm$ 2,7	0 $\pm$ 0	115,7 $\pm$ 77,2**
Группа дексаметазона	197,2 $\pm$ 22,8 ^{ss}	171,0 $\pm$ 19,2	7,5 $\pm$ 1,1	4,8 $\pm$ 1,6	0 $\pm$ 0	13,8 $\pm$ 2,4 ^s
Группа колхицина	212,9 $\pm$ 28,8 ^s	171,7 $\pm$ 20,1	12,1 $\pm$ 2,5	7,8 $\pm$ 2,0	0 $\pm$ 0	21,3 $\pm$ 6,6 ^s
Группа с соединением А в дозе 30 мг/кг	206,8 $\pm$ 42,9 ^s	174,2 $\pm$ 35,4	8,1 $\pm$ 1,2	5,8 $\pm$ 1,2	0 $\pm$ 0	18,6 $\pm$ 6,4 ^s
Группа с соединением А в дозе 100 мг/кг	176,2 $\pm$ 29,6 ^{sss}	151,4 $\pm$ 24,1	8,0 $\pm$ 1,9	4,6 $\pm$ 1,4	0 $\pm$ 0	12,2 $\pm$ 3,4 ^s

Примечание: ** P<0,01, *** P<0,001 по сравнению с контрольной группой;

^s P<0,05, ^{ss} P<0,01, ^{sss} P<0,001 по сравнению с модельной группой.

Таблица 18

Группа	Цитокины (среднее $\pm$ СОС, n=8)			
	ИЛ-1 β (пг/мл)	ИЛ-6 (пг/мл)	КС (пг/мл)	ФНО- α (пг/мл)
Контрольная группа	44,1 $\pm$ 5,1	257,9 $\pm$ 37,3	3745,8 $\pm$ 281,8	12,0 $\pm$ 1,7
Модельная группа	98,1 $\pm$ 28,2*	4287,4 $\pm$ 3362,4***	15776,3 $\pm$ 6515,9***	40,5 $\pm$ 9,4***
Группа дексаметазона	27,8 $\pm$ 3,9 ^{sss}	136,4 $\pm$ 44,2 ^{sss}	1653,5 $\pm$ 364,8 ^{sss}	6,6 $\pm$ 1,2 ^{sss}
Группа колхицина	112,6 $\pm$ 16,2	1132,0 $\pm$ 281,4	9892,7 $\pm$ 2046,2	32,2 $\pm$ 5,3
Группа с соединением А в дозе 30 мг/кг	79,2 $\pm$ 15,6	1218,2 $\pm$ 498,7	8742,1 $\pm$ 1151,3	29,7 $\pm$ 5,0
Группа с соединением А в дозе 100 мг/кг	88,6 $\pm$ 13,8	476,6 $\pm$ 140,6 ^s	5757,4 $\pm$ 554,5 ^s	18,7 $\pm$ 1,6 ^{ss}

Примечание: ** P<0,05, *** P<0,001 по сравнению с контрольной группой;

^s P<0,05, ^{ss} P<0,01, ^{sss} P<0,001 по сравнению с модельной группой.

Результаты тестирования показали, что дексаметазон и колхицин могут значительно ингибировать общее количество клеток и количество нейтрофилов в промывной жидкости, вызванное МНУ. Соединение А может значительно ингибировать повышение общего количества клеток и количество нейтрофилов в промывной жидкости в пероральных дозах 30 и 100 мг/кг. Дексаметазон может значительно ингибировать повышение ИЛ-1 β , ИЛ-6, КС и ФНО α , вызванное МНУ. Соединение А может значительно ингибировать повышение ИЛ-6, КС и ФНО α в пероральной дозе 100 мг/кг. Этот тест демонстрирует, что соединение А обладает хорошим противовоспалительным действием в вызванных МНУ альвеолярных мешочках.

Пример 10. Эксперимент на URAT1 (транспортер урата 1).

Применяют следующие тестируемые образцы:
соединение А, полученное в примере получения 2,
соединение В, полученное в примере получения 1, и
соединение D, полученное в примере получения 4.

Метод эксперимента.

1. Соединения получают в маточных растворах (5 мМ) с диметилсульфоксидом (ДМСО). Этот эксперимент включает всего 8 концентраций. Конечные концентрации составляют 5000 нМ, 1250 нМ, 312,5 нМ, 78,1 нМ, 19,5 нМ, 4,9 нМ, 1,2 нМ и 0,3 нМ соответственно.

2. Получают буферы: не содержащий хлор HBSS буфер (125 мМ глюконата натрия, 4,8 мМ глюконата калия, 1,3 мМ глюконата кальция, 1,2 мМ KH_2PO_4 , 1,2 мМ MgSO_4 , 5,6 мМ глюкозы, 25 мМ 4-гидроксиэтилпиперазинэтансульфоновой кислоты (HEPES) (pH 7,4)); лизисный буфер (100 мМ NaOH).

3. Получают трансфицированные клетки, стабильно экспрессирующие транспортер человеческого урата 1 (hURAT1): помещают клетки почек эмбриона человека (HEK 293T) в планшете для культивирования клеток, содержащем полную среду, инкубируют клетки в течение 24 ч при 37°C в 5% CO_2 , промывают клетки физиологическим раствором с фосфатным буфером (ФРФБ), затем подвергают трипсиновой ферментации с получением суспензии, содержащей изолированные клетки; помещают 8×10^6 клеток в планшет для культивирования клеток, добавляют по каплям реагент TransIT-293:ДНК комплексы (1,5 мл среды Opti-MEM I Reduced-Serum Medium, 15 мкг плазмиды ДНК и 45 мкл реагента TransIT-293 и затем инкубируют при комнатной температуре в течение 30 мин) в различные части планшета для гомогенного распределения реагента TransIT-293:ДНК комплексов и инкубируют клетки в течение 48 ч при 37°C в 5% CO_2 .

4. Внедряют ^{14}C -меченную мочевую кислоту в hURAT1 трансфицированные клетки: (1) hURAT1-трансфицированные клетки помещают в Poly-D-lysine 96-луночный микропланшет при плотности клеток 6×10^4 /лунку и выдерживают в течение ночи при 37°C в 5% CO_2 ;

(2) затем клетки помещают в Poly-D-lysine 96-луночный микропланшет на 12 ч, клетки промывают 3 раза 200 мкл предварительно нагретым не содержащим хлор HBSS буфером и промывочный раствор в микропланшете удаляют; (3) 50 мкл содержащего мочевую кислоту [8- ^{14}C] (0,1 мКи/лунку) не содержащего хлор HBSS буфера добавляют в лунку и затем добавляют 5 мкл тестируемого соединения на лунку и инкубируют в течение 5 мин при 37°C; (4) инкубационный буфер удаляют и поглощение мочевой кислоты [8- ^{14}C] останавливают добавлением 100 мкл ледяного не содержащего хлор HBSS буфера; (5) планшет промывают 3 раза не содержащим хлор HBSS буфером и буфер очищают со стенок; (6) 50 мкл лизисного буфера добавляют в лунку и планшет встряхивают при 600 об/мин в течение 10 мин; (7) микропланшет помещают в центрифугу и затем центрифугируют при 1000 об/мин в течение 5 мин, 45 мкл надосадочной жидкости помещают в микропланшет Isoplate-96; 8) 150 мкл сцинтилляционного коктейля Ultima GoldTM XR добавляют в лунку и планшет встряхивают в течение 10 мин при 600 об/мин; микропланшет Isoplate-96 помещают в MicroBeta Trilux (Perkin Elmer) для измерения интенсивности излучения ^{14}C .

5. Расчет значения IC_{50} .

Степень ингибирования (%) = (интенсивность сигнала положительного контроля - интенсивность сигнала соединения)/(интенсивность сигнала положительного контроля - интенсивность сигнала отрицательного контроля) $\times 100$.

GraphPad Prism 5.0 применяют для анализа с получением значений IC_{50} .

Результаты тестирования показаны в табл. 19.

Таблица 19

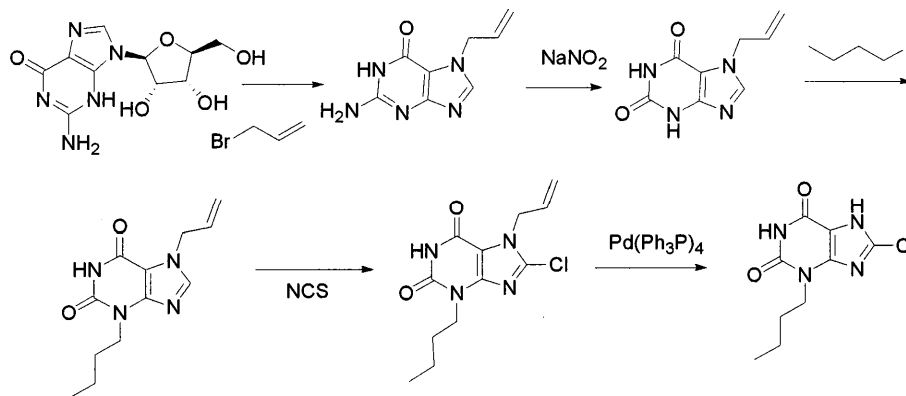
Ингибирование активности hURAT1 соединениями в соответствии с данным изобретением

Тестируемые образцы	IC_{50} (мкМ)
Соединение А	2,52
лезинурад*	>5
Соединение В	3,02
Соединение D	0,87

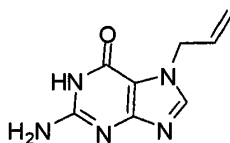
Лезинурад* соединение - новый агент, разработанный AstraZeneca, одобренный FDA в декабре 2015 г., для лечения подагры, с химическим наименованием 2-[[5-бром-4-(4-циклопропил-1-нафтил)-4Н-1,2,4-триазол-3-ил]тио]уксусная кислота.

Из табл. 19 видно, что соединение в соответствии с данным изобретением обладает хорошим ингибирующим действием на hURAT1 (человеческий транспортер урата 1).

Пример получения 1. Получение 8-хлор-3-бутил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-диона (соединение В)

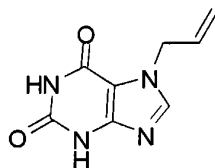


(1) Получение 7-аллил-2-амино-1Н-пурин-6-(7Н)-она



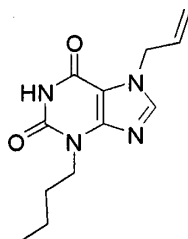
Гуанозин (2000 г, 7,07 моль) и аллилбромид (1950,5 г, 16,20 моль) растворяют в ДМСО (100 мл) и перемешивают в течение 18 ч при комнатной температуре под защитой азота. Концентрированную хлористоводородную кислоту (37%, 5 л) добавляют к раствору, затем перемешивают в течение 1 ч. В раствор добавляют 2 л метанола и затем нейтрализуют 2N раствором гидроксида натрия до тех пор, пока твердые вещества не выпадут в осадок. Твердые вещества отфильтровывают и фильтровальную лепешку сушат в печи с получением белого твердого вещества (1210 г, выход: 89,6%).

(2) Получение 7-аллил-1Н-пурин-2,6-(3Н,7Н)-диона



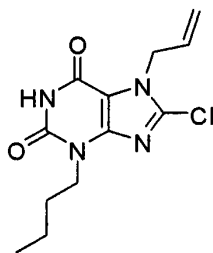
7-Аллил-2-амино-1Н-пурин-6-(7Н)-он (1200 г, 6,28 моль) растворяют в уксусной кислоте (3 л) и воде (750 мл). Водный раствор (600 мл) нитрита натрия (1732 г, 25,1 моль) добавляют по каплям в полученный выше раствор. Смесь перемешивают в течение 3 ч, в течение которых проходит реакция. Раствор концентрируют до одной трети и выдерживают для осаждения твердых веществ. Твердые вещества отфильтровывают и фильтровальную лепешку сушат с получением светло-желтого твердого вещества (875 г, выход: 72,8%).

(3) Получение 7-аллил-3-бутил-1Н-пурин-2,6-(3Н,7Н)-диона



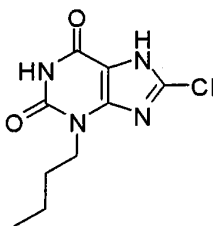
7-Аллил-1Н-пурин-2,6-(3Н,7Н)-дион (400 г, 2,08 моль), йод-н-бутан (422 г, 2,29 моль) и карбонат калия (345 г, 2,50 моль) растворяют в безводном ДМФ (1,6 л). Смесь перемешивают в течение 24 ч, в течение которых проходит реакция. Добавляют этилацетат (2 л) и разбавленную хлористоводородную кислоту (2N, 500 мл). Затем проводят экстракцию. Органическую фазу сушат роторным испарением с получением светло-желтого твердого вещества (185 г, выход: 35,9%).

(4) Получение 7-аллил-3-бутил-8-хлор-1Н-пурин-2,6-(3Н,7Н)-диона



7-Аллил-3-бутил-1H-пурин-2,6-(3H,7H)-дион (160 г, 0,645 моль) растворяют в безводном ДМФ (800 мл) и туда добавляют NCS (94,7 г, 0,71 моль). Реакционную смесь перемешивают под защитой азота в течение 24 ч и затем подвергают роторному испарению. Этилацетат (200 мл) добавляют для перекристаллизации. Кристаллы отфильтровывают и фильтровальную лепешку сушат с получением светло-желтого твердого вещества (110,2 г, выход: 60,5%).

(5) Получение 8-хлор-3-бутил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-диона

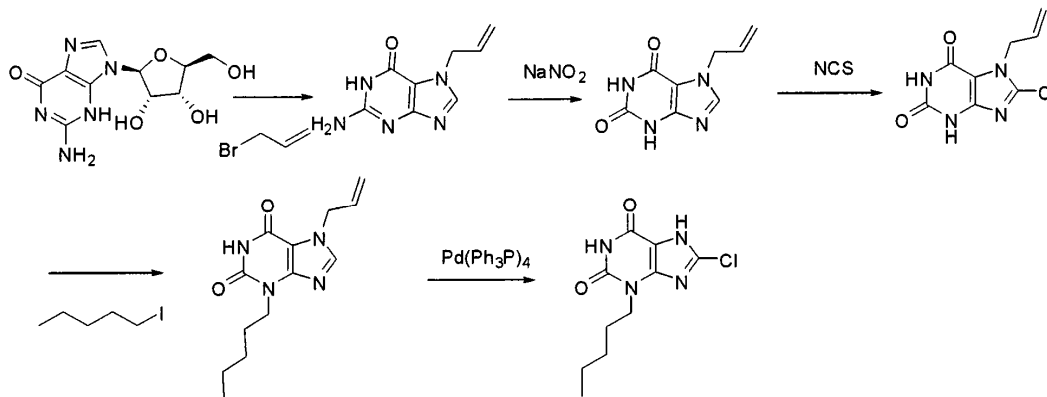


Неочищенный 7-аллил-3-бутил-8-хлор-1H-пурин-2,6-(3H,7H)-дион (565 мг, 2,0 ммоль), тетракистрифенилфосфинпалладий (104 мг, 0,09 ммоль) и морфолин (775 мг, 8,9 ммоль) растворяют в 20 мл дихлорметана. Реакцию проводят в течение 12 ч при комнатной температуре под защитой азота. Затем раствор концентрируют и подвергают хроматографии на колонке с применением колонок с силикагелем (петролейный эфир:этилацетат=1:1) с получением светло-желтого твердого вещества (80 мг, выход: 16,5%).

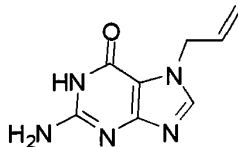
Молекулярная формула: $C_9H_{11}ClN_4O_2$; молекулярная масса: 242,1; масс-спектр (M+H): 243,0.

1H -ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц): 0,85 (т, 3H), 1,23-1,27 (м, 2H), 1,54-1,59 (м, 2H), 3,81 (т, 2H), 11,17 (с, 1H), 14,25 (шс, 1H).

Пример получения 2. Получение 8-хлор-3-пентил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-диона (соединение А)

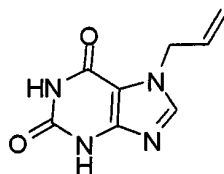


(1) Получение 7-аллил-2-амино-1H-пурин-6-(7H)-она



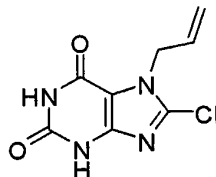
Гуанозин (200 г, 0,707 моль) и аллилбромид (19,51 г, 0,162 моль) растворяют в ДМСО (1000 мл). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре под защитой азота в течение 18 ч. Концентрированную хлористоводородную кислоту (37%, 500 мл) добавляют в раствор, затем перемешивают в течение 1 ч. Добавляют метанол (2 л) и затем 2N раствор гидроксида натрия применяют для нейтрализации до выпадения в осадок твердого вещества. Твердое вещество отфильтровывают и фильтровальную лепешку сушат в печи с получением белого твердого вещества (125 г, выход: 92,5%).

(2) Получение 7-аллил-1H-пурин-2,6-(3H,7H)-диона



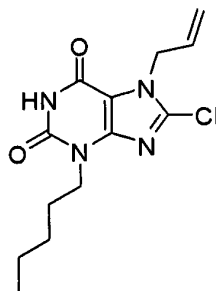
7-Аллил-2-амино-1H-пурин-6(7H)-он (120 г, 0,628 моль) растворяют в уксусной кислоте (1,5 л) и воде (150 мл). Водный раствор (300 мл) нитрита натрия (173,2 г, 2,51 моль) добавляют по каплям в указанный выше раствор. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 ч. Реакционный раствор концентрируют до одной трети и выдерживают для выпадения в осадок твердого вещества. Твердое вещество отфильтровывают и фильтровальную лепешку сушат с получением светло-желтого твердого вещества (85 г, выход: 70,5%).

(3) Получение 7-аллил-8-хлор-1H-пурин-2,6-(3H,7H)-диона



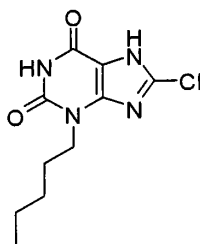
7-Аллил-1H-пурин-2,6-(3H,7H)-дион (2,10 г, 10,9 ммоль) растворяют в безводном ДМФ (12 мл) и туда добавляют N-хлорсукцинимид (1,60 г, 12,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение 6 ч под защитой азота. Реакционную смесь выливают в воду, экстрагируют этилацетатом и затем подвергают роторному испарению с получением 1,20 г неочищенного светло-желтого твердого вещества.

(4) Получение 7-аллил-3-пентил-8-хлор-1H-пурин-2,6-(3H,7H)-диона



Неочищенный 7-аллил-8-хлор-1H-пурин-2,6-(3H,7H)-дион (750 мг) и карбонат натрия (383 мг, 3,61 ммоль) растворяют в безводном ДМФ (10 мл) и туда добавляют йод-н-пентан (690 мг, 3,48 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение 24 ч. Реакционную смесь выливают в воду. Добавляют этилацетат (100 мл) и разбавленную хлористоводородную кислоту (2N, 50 мл). Затем проводят экстрагирование. Органическую фазу сушат роторным испарением с получением 500 мг неочищенного светло-желтого масла.

(5) Получение 8-хлор-3-пентил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-диона

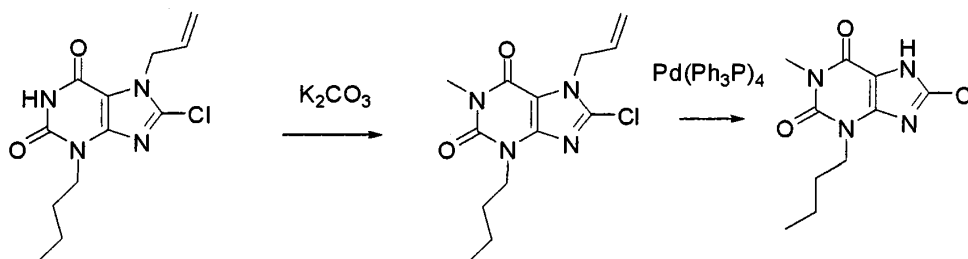


Целевое соединение (80 мг, выход: 4,6%) получают способом, описанным на стадии (5) примера 1.

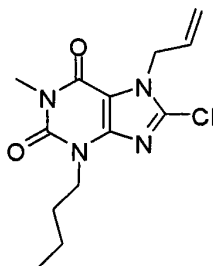
Молекулярная формула: $C_{10}H_{13}ClN_4O_2$; молекулярная масса: 256,1; масс-спектр (M+H): 257,1.

1H -ЯМР (ДМСО- d_6 , 600 МГц): 0,83 (т, 3H), 1,19-1,29 (м, 4H), 1,57-1,60 (м, 2H), 3,84 (т, 2H), 11,19 (с, 1H), 14,38 (шс, 1H).

Пример получения 3. Получение 8-хлор-1-метил-3-бутил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-диона (соединение C)

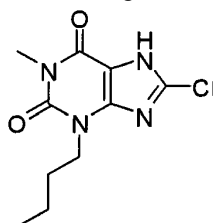


(1) Получение 8-хлор-1-метил-3-бутил-7-(2-пропен-1-ил)-1Н-пурин-2,6-(3Н,7Н)-диона



8-Хлор-3-бутил-7-(2-пропен-1-ил)-1Н-пурин-2,6-(3Н,7Н)-дион (565 мг, 2,0 ммоль) и карбонат калия (304 мг, 2,2 ммоль) добавляют в N,N-диметилформамид (15 мл), затем туда добавляют йодметан (341 мг, 2,4 ммоль). Реакцию проводят при 80°C в течение 12 ч. Полученную смесь растворяют в этилацетате и затем промывают 2N разбавленной хлористоводородной кислотой и насыщенным раствором хлорида натрия один раз в указанном порядке. Раствор сушат и концентрируют с получением 400 мг неочищенного коричневого продукта.

(2) Получение 8-хлор-1-метил-3-бутил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-диона

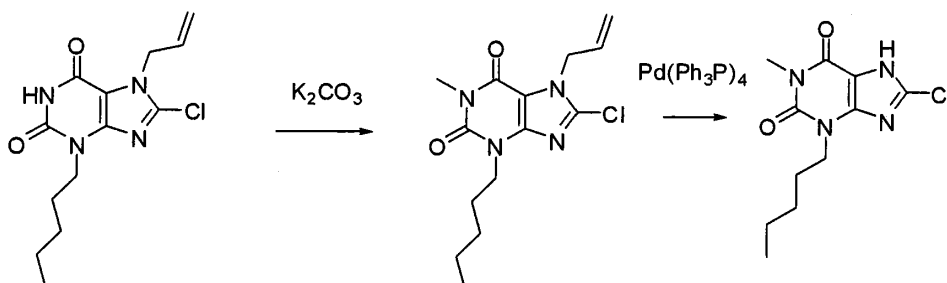


Неочищенный 8-хлор-1-метил-3-бутил-7-(2-пропен-1-ил)-1Н-пурин-2,6-(3Н,7Н)-дион (400 мг), тетраактирифенилфосфинпалладий (104 мг, 0,09 ммоль) и морфолин (775 мг, 8,9 ммоль) растворяют в 20 мл дихлорметане. Реакцию проводят в течение 12 ч при комнатной температуре под защитой азота. Затем полученную смесь концентрируют и подвергают хроматографии на колонке с применением колонок с силикагелем (петролейный эфир:этилацетат=2:1) с получением 112 мг светло-желтого твердого вещества. Выход за две стадии 23,1%.

Молекулярная формула: $C_{10}H_{13}ClN_4O_2$; молекулярная масса: 256,1; масс-спектр (M+H): 257,0.

1H -ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц) 0,88 (т, 3H), 1,27-1,32 (м, 2H), 1,60-1,65 (м, 2H), 3,23 (с, 3H), 3,92 (т, 2H), 14,45 (с, 1H).

Пример получения 4. Получение 8-хлор-1-метил-3-пентил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион (соединение D)



120 мг целевого соединения с выходом 26,3% за две стадии получают способом, описанным в примерах 1-3.

Молекулярная формула: $C_{11}H_{15}ClN_4O_2$; молекулярная масса: 270,1; масс-спектр (M+H): 271,1.

1H -ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц) 0,86 (т, 3H), 1,25-1,33 (м, 4H), 1,62-1,67 (м, 2H), 3,23 (с, 3H), 3,92 (т, 2H), 14,45 (шс, 1H).

Пример получения 5. Получение 8-хлор-3-(3-метилбутил)-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-диона (соединение E)

Целевое соединение получают способом, описанным в примерах 1-3.

¹H-ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц) 0,90 (д, 6H), 1,47-1,62 (м, 3H), 3,86 (т, 2H), 11,18 (шс, 1H), 14,38 (шс, 1H).

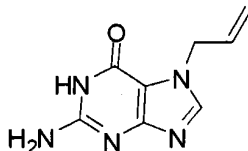
Пример получения 6. Получение 8-хлор-3-(2-циклопропилэтил)-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-диона (соединение F).

Целевое соединение получают способом, описанным в примерах 1-3.

¹H-ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц) 0,00-0,06 (м, 2H), 0,36-0,42 (м, 2H), 0,67-0,77 (м, 1H), 1,60 (кв, 2H), 4,06-4,10 (м, 2H).

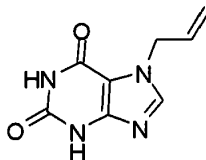
Пример получения 7. Получение моногидрата 8-хлор-3-пентил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-диона.

(1) Получение 7-аллил-2-амино-1H-пурин-6-(7H)-она



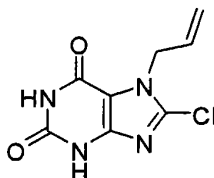
Гуанозин (4000 г, 14,1 моль) и аллилбромид (3900 г, 32,2 моль) растворяют в ДМСО (11 л). Раствор перемешивают в течение 24 ч при комнатной температуре. Концентрированную хлористоводородную кислоту (37%, 7500 мл) добавляют в раствор, затем перемешивают в течение 1 ч. В раствор добавляют метанол (20 л) и затем нейтрализуют насыщенным раствором гидроксида натрия до осаждения твердых веществ. Твердое вещество отфильтровывают и промывают водой, фильтровальную лепешку сушат в печи с получением белого твердого вещества (1585 г, выход: 58,7%).

(2) Получение 7-аллил-1H-пурин-2,6-(3H,7H)-диона



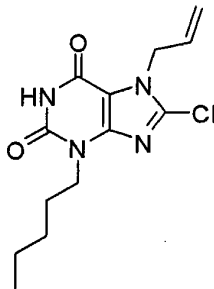
7-Аллил-2-амино-1H-пурин-6-(7H)-он (1584 г, 8,29 моль) растворяют в уксусной кислоте (8,5 л) и воде (1500 мл). Водный раствор нитрита натрия (2277 г, 33 моль) добавляют по каплям в указанную выше смесь. Реакционную смесь перемешивают в течение ночи. Твердые вещества отфильтровывают и промывают водой. Фильтровальную лепешку сушат с получением белого твердого вещества (1086 г, выход: 68,2%).

(3) Получение 7-аллил-8-хлор-1H-пурин-2,6-(3H,7H)-диона



7-Аллил-1H-пурин-2,6-(3H,7H)-дион (2166,3 г, 11,3 ммоль) растворяют в безводном ДМФ (8 л) и туда добавляют N-хлорсукцинимид (1657 г, 12,4 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение 24 ч под защитой азота. Добавляют ЭА и раствор охлаждают и подвергают фильтрованию с отсасыванием. Твердые вещества отфильтровывают, промывают ЭА и сушат с получением белого твердого вещества (1804 г, выход: 70,6%).

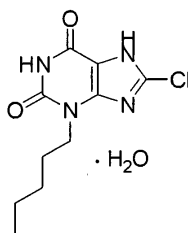
(4) Получение 7-аллил-3-пентил-8-хлор-1H-пурин-2,6-(3H,7H)-диона



7-Аллил-8-хлор-1H-пурин-2,6-(3H,7H)-дион (200 г, 0,88 моль) растворяют в безводном ДМФ (1,2 л). Добавляют карбонат натрия (116,6 г, 1,1 моль) и затем также добавляют йод-н-пентан (173 г, 0,87 моль). Реакционную смесь перемешивают в течение 4 дней. Реакционную смесь выливают в воду и твердые вещества выпадают в осадок. Проводят фильтрование с отсасыванием. Полученное твердое вещество промывают н-гексаном. Твердое вещество подвергают фильтрованию с отсасыванием снова и сушат с

получением белого твердого вещества (197 г, выход: 75,2%).

(5) Получение моногидрата 8-хлор-3-пентил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-диона



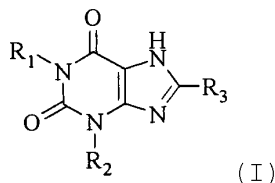
7-Аллил-3-пентил-8-хлор-1Н-пурин-2,6-(3Н,7Н)-дион (96 г, 0,32 моль), тетракистрифенилфосфин-палладий (13 г, 0,011 ммоль) и N,N-диметилбарбитуровую кислоту (253 г, 1,62 моль) растворяют в 1 л дихлорметана. Реакцию проводят в течение 12 ч при комнатной температуре под защитой азота, затем проводят фильтрование с отсасыванием. Полученное твердое вещество растворяют в водном растворе гидроксида натрия и затем промывают дихлорметаном. pH водной фазы доводят до 4 с применением разбавленной HCl. Твердые вещества выпадают в осадок. Проводят фильтрование с отсасыванием. Полученное твердое вещество сушат с получением белого твердого вещества (60 г, выход: 61,1%).

Молекулярная формула: $C_{10}H_{15}ClN_4O_3$; молекулярная масса: 274,1; масс-спектр (M+H): 257,1.

1H -ЯМР (DMSO- d_6 , 400 МГц): 0,84-0,86 (т, 3H), 1,28 (м, 4H), 1,63 (м, 2H), 3,85(т, 2H), 11,22 (с, 1H), 14,38 (шс, 1H).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или его гидрата для профилактики или лечения заболеваний, вызванных повышенным уровнем мочевой кислоты в организме



где R_1 выбирают из группы, включающей водород и C_{1-4} алкил, где указанный C_{1-4} алкил не замещен или замещен одним или более галогеном, циано, CF_3 или их сочетанием;

R_2 выбирают из группы, включающей C_{1-10} алкил, C_{2-6} алкенил и C_{2-6} алкинил, где указанный C_{1-10} алкил, C_{2-6} алкенил или C_{2-6} алкинил не замещен или замещен галогеном или циано или их сочетанием; и R_3 выбирают из группы, включающей галоген и циано.

2. Применение по п.1, где

R_1 является водородом или метилом,

R_2 является этилом, пропилом, 2-метилпропилом, бутилом, 3-метилбутилом или пентилом,

R_3 является фтором или хлором.

3. Применение по п.1, где соединение выбирают из группы, включающей

8-хлор-3-пентил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион,

8-хлор-3-бутил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион,

8-хлор-1-метил-3-бутил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион,

8-хлор-1-метил-3-пентил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион,

8-хлор-3-(3-метилбутил)-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион,

8-хлор-3-(2-метилпропил)-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион,

8-хлор-1-метил-3-(3-метилбутил)-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион.

4. Применение по п.1, где соединение представляет собой 8-хлор-3-пентил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион или его гидрат.

5. Применение по любому из пп.1-4, где заболевание, вызванное повышенным уровнем мочевой кислоты в организме, представляет собой мочекишечное заболевание или подагрическое заболевание.

6. Применение по п.5, где мочекишечным заболеванием или подагрическим заболеванием является гиперурикемия, подагра, подагрическое воспаление, боль или мочекишечная нефропатия.

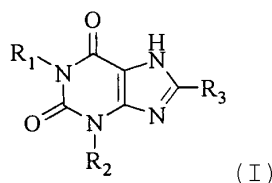
7. Применение по п.6, где гиперурикемия включает первичную гиперурикемию и вторичную гиперурикемию.

8. Применение по п.6, где подагра включает первичную подагру и вторичную подагру.

9. Применение по п.6, где подагрическое воспаление включает острый подагрический артрит, подкожный тофус и хронический тофусный артрит.

10. Применение по п.6, где мочекишечная нефропатия включает острую мочекишечную нефропатию, хроническую уратную нефропатию и мочекишечный уролитиаз.

11. Применение фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль или его гидрат в качестве активного ингредиента и один или более фармацевтически приемлемых носителей, для профилактики или лечения заболеваний, вызванных повышенным уровнем мочевой кислоты в организме

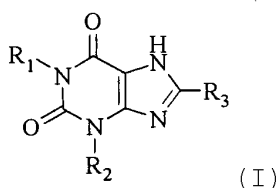


где R₁ выбирают из группы, включающей водород и C₁₋₄ алкил, где указанный C₁₋₄ алкил не замещен или замещен одним или более галогеном, циано, CF₃ или их сочетанием;

R₂ выбирают из группы, включающей C₁₋₁₀ алкил, C₂₋₆ алкенил и C₂₋₆ алкинил, где указанный C₁₋₁₀ алкил, C₂₋₆ алкенил или C₂₋₆ алкинил не замещен или замещен галогеном или циано или их сочетанием; и

R₃ выбирают из группы, включающей галоген и циано.

12. Способ профилактики или лечения заболеваний, вызванных повышенным уровнем мочевой кислоты в организме, включающий введение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или его гидрата нуждающемуся в этом млекопитающему

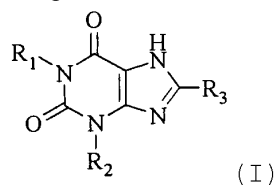


где R₁ выбирают из группы, включающей водород и C₁₋₄ алкил, где указанный C₁₋₄ алкил не замещен или замещен одним или более галогеном, циано и CF₃ или их сочетанием;

R₂ выбирают из группы, включающей C₁₋₁₀ алкил, C₂₋₆ алкенил и C₂₋₆ алкинил, где указанный C₁₋₁₀ алкил, C₂₋₆ алкенил или C₂₋₆ алкинил не замещен или замещен галогеном или циано или их сочетанием; и

R₃ выбирают из группы, включающей галоген и циано.

13. Применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или его гидрата для снижения уровня мочевой кислоты в организме



где R₁ выбирают из группы, включающей водород и C₁₋₄ алкил, где указанный C₁₋₄ алкил не замещен или замещен одним или более галогеном, циано, CF₃ или их сочетанием;

R₂ выбирают из группы, включающей C₁₋₁₀ алкил, C₂₋₆ алкенил и C₂₋₆ алкинил, где указанный C₁₋₁₀ алкил, C₂₋₆ алкенил или C₂₋₆ алкинил не замещен или замещен галогеном или циано или их сочетанием; и

R₃ выбирают из группы, включающей галоген и циано.

14. Применение по п.13, где

R₁ является водородом или метилом,

R₂ является этилом, пропилом, 2-метилпропилом, бутилом, 3-метилбутилом или пентилом и

R₃ является фтором или хлором.

15. Применение по п.13, где соединение выбирают из группы, включающей

8-хлор-3-пентил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион,

8-хлор-3-бутил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион,

8-хлор-1-метил-3-бутил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион,

8-хлор-1-метил-3-пентил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион,

8-хлор-3-(3-метилбутил)-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион,

8-хлор-3-(2-метилпропил)-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион,

8-хлор-1-метил-3-(3-метилбутил)-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион.

16. Применение по п.13, где соединение представляет собой 8-хлор-3-пентил-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион или его гидрат.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2