



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(51) МПК

C07D 473/34 (2006.01)

A61K 8/49 (2006.01)

A61K 31/52 (2006.01)

A01N 43/92 (2006.01)

A01N 43/90 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 33/14 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2004105843/04, 01.08.2002

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
01.08.2002(30) Конвенционный приоритет:
02.08.2001 (пп.1-11) CZ PV2001-2818

(43) Дата публикации заявки: 10.07.2005

(45) Опубликовано: 10.07.2007 Бюл. № 19

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: SU 571192 A3, 30.08.1970. WO 01 49688
A1, 12.07.2001. US 3213095 A, 19.10.1965. EP
0540854 B1, 12.05.1993. WO 97 16452 A1,
22.10.1996. US 3041340 A, 26.06.1962. US
3321293 A, 23.05.1967. US 2956998 A,
18.10.1960. Hajime lwfmura et al.,
"Quantitative structure-activity relationship
of cytokinin-active adenine and urea
derivatives", Phytochemistry, 1980, vol.19,
p.p.1309-1319.

(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу:
02.03.2004(86) Заявка РСТ:
CZ 02/00045 (01.08.2002)(87) Публикация РСТ:
WO 03/040144 (15.05.2003)

Адрес для переписки:
115114, Москва, Шлюзовая наб., 6, стр.4-5,
ООО "Патент-Гарант", пат.пов. Н.О.Гершановой

(72) Автор(ы):

ДОЛЕЗАЛ Карел (CZ),
ПОПА Игорь (CZ),
ХОЛУБ Ян (CZ),
ЛЕНОБЕЛ Рене (CZ),
ВЕРБРОУК Стефаан (BE),
СТРНАД Мирослав (CZ)

(73) Патентообладатель(и):

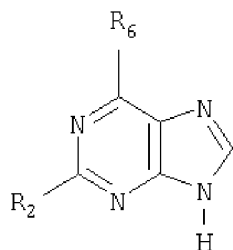
Устав Экспериментални Ботаники Академие вед
Ческе Репаблики (CZ)

(54) ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ НА ОСНОВЕ N⁶-ЗАМЕЩЕННОГО АДЕНИНА, ИХ
ПРИМЕНЕНИЕ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ МЕДИКАМЕНТОВ, КОСМЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ,
РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ И КОСМЕТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ ИЛИ
РЕГУЛЯТОРЫ РОСТА НА ИХ ОСНОВЕ

(57) Реферат:

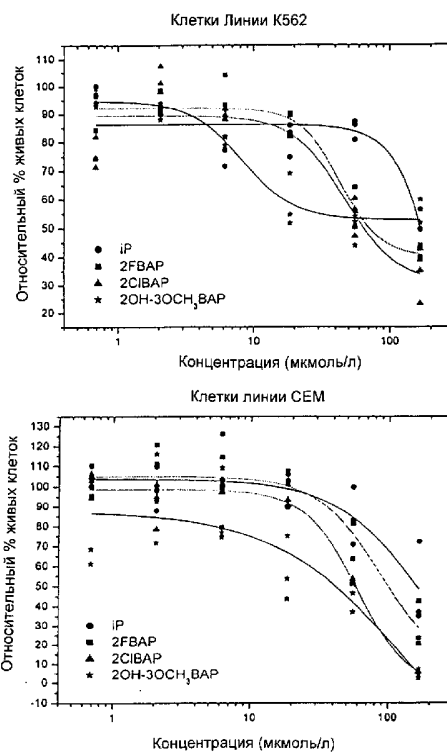
Предложены новые гетероциклические

производные на основе N⁶-замещенного аденина с
общей формулой I



I

где значения радикалов указаны в описании, и его фармацевтически приемлемые соли, обладающие противораковыми, митотическими, иммуноподавительными и противостареющими свойствами для растительных, животных и человеческих клеток, и способы их приготовления. Включены также фармацевтические составы, косметические препараты и регуляторы роста, которые содержат эти производные как активное соединение, и применение этих производных для приготовления лекарственных препаратов, косметических препаратов, в косметике и в сельском хозяйстве. 2 н. и 9 з.п. ф-лы, 9 табл., 10 ил.





FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

C07D 473/34 (2006.01)

A61K 8/49 (2006.01)

A61K 31/52 (2006.01)

A01N 43/92 (2006.01)

A01N 43/90 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 33/14 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 2004105843/04, 01.08.2002

(24) Effective date for property rights: 01.08.2002

(30) Priority:
02.08.2001 (cl.1-11) CZ PV2001-2818

(43) Application published: 10.07.2005

(45) Date of publication: 10.07.2007 Bull. 19

(85) Commencement of national phase: 02.03.2004

(86) PCT application:
CZ 02/00045 (01.08.2002)(87) PCT publication:
WO 03/040144 (15.05.2003)Mail address:
115114, Moskva, Shljuzovaja nab., 6, str.4-5,
OOO "Patent-Garant", pat.pov. N.O.Gershanovoj

(72) Inventor(s):

DOLEZAL Karel (CZ),
POPA Igor' (CZ),
KhOLUB Jan (CZ),
LENOBEL Rene (CZ),
VERBROUK Stefaan (BE),
STRNAD Miroslav (CZ)

(73) Proprietor(s):

Ustav Ekhspierimentalni Botaniki Akademii ved
Cheske Republiky (CZ)

(54) N⁶-SUBSTITUTED ADENINE-BASED HETEROCYCLIC COMPOUNDS, THEIR USE IN PRODUCTION OF MEDICAMENTS, COSMETICS, GROWTH REGULATORS, PHARMACEUTICAL AND COSMETIC COMPOSITIONS OR GROWTH REGULATORS BASED THEREON

(57) Abstract:

FIELD: synthesis of biologically active compounds.

SUBSTANCE: invention provides novel N⁶-substituted adenine-based heterocyclic compounds depicted by general formula I:
$$\text{R}_6$$

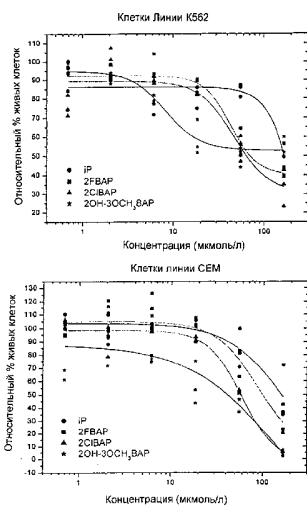
$$\text{R}_2$$

I

radicals are presented in description, and pharmaceutically acceptable salts thereof manifesting anticancer, mitotic, immunosuppressive, and antiaging activities for vegetable, animal, and human cells, and methods for preparation thereof. Included are also pharmaceutical compositions, cosmetic preparations, and growth regulators, which contain indicated derivatives as active components. Application of indicated derivatives for preparing therapeutical preparations, and cosmetic preparations are also described.

EFFECT: expanded synthetic possibilities in adenine series and increased choice of various biologically active agents.

10 cl, 10 dwg, 9 tbl, 14 ex



Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к новым гетероциклическим производным на основе N⁶-замещенного аденина, обладающего противораковыми, митотическими, иммуноподавительными и противостареющими свойствами для растительных, животных и человеческих клеток, способам их приготовления и их применению в качестве лекарственных препаратов, фармацевтических составов, которые содержат эти производные как активное соединение, и к применению этих производных для приготовления лекарственных препаратов, косметических препаратов, в биотехнологических процессах, в косметике и в сельском хозяйстве.

Предпосылки к созданию изобретения

Фитогормоны являются хорошо испытанными растительными регуляторами. Среди них важное место занимают цитокинины. Структурно все природные цитокинины принадлежат к гомогенной группе производных N⁶-замещенного аденина, играющих важную роль во многих различных процессах развития, включая деление, рост и дифференциацию клеток, а также развитие цветов и фруктов. Они могут выводить семена из состояния покоя, ингибировать апикальную доминантность и стимулировать рост боковых ростков, тормозить старение клеток, повышать стрессовую устойчивость, воздействовать на проницаемость клеточной мембраны и вызывать накопление различных метаболитов в месте их применения (Letham a Palni 1983 - Ann. Rev. Plant. Physiol. 34:163-197, 1983, Mok, D.W.S., Mok, M.C.: Cytokinins: Chemistry, Activity and Function. CRC Press, Boca Raton, London, Tokyo 1994).

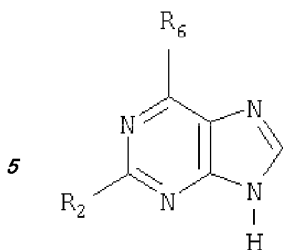
Их взаимодействие с ауксинами особенно важно при стимуляции деления клеток и регуляции дифференциации клеток в растительных тканевых культурах (Skoog, Miller 1957). Общее определение цитокининов как группы регуляторов роста растений также основывается на этом эффекте (Skoog, F., Armstrong, D.J.: Cytokinins. - Ann. Rev. Plant. Physiol. 21:359-384, 1970). 6-бензиламинопурин (БАП) вместе с кинетином обычно используется как активный цитокинин для растительных культур *in vitro*. Это соединение в течение долгого времени считалось чисто синтетическим, однако недавно было доказано его природное происхождение у растений. Обычно к цитокининам относят также соединения, имеющие ограниченную или не имеющие биологическую активность (7- и 9-глюкозиды, аминокислотные конъюгаты, некоторые гипермодифицированные цитокинины в tРНК). По этой причине соединения, структурно производные от N⁶-замещенного аденина, в таком применении также относятся к цитокининам.

Поскольку все живые организмы на Земле эволюционно развивались вместе в течение многих миллионов лет, можно допустить присутствие регуляторного взаимодействия растительных соединений, какими являются цитокинины, у животных и людей. Цитокининпроизводные соединения, вероятно, воздействуют на многие различные молекулярные механизмы в клетках животных и людей. Мы недавно обнаружили, что новые поколения противовоспалительных, противораковых, иммуноподавительных, антивирусных и других лекарственных препаратов могут быть основаны на N⁶-замещенных пуринах и их производных.

Целью настоящего изобретения является предоставление противораковых, иммуноподавительных, регулирующих рост, морфогенетически активных и противостарительных гетероциклических соединений, имеющих улучшенные показатели по селективности и эффективности, т.е. менее токсичных и при этом более эффективных, чем известные до этого аналоги.

Описание изобретения

Объектом настоящего изобретения является использование гетероциклических соединений, основанных на N⁶-замещенном аденине с общей формулой I



I

10 и его фармацевтически приемлемых солей, где
 R2 является водородом, галогеном, гидроксигруппой, алкоксигруппой или замещенной алкоксигруппой, аминогруппой, гидразогруппой, меркаптогруппой, метилмеркаптогруппой, карбоксигруппой, цианогруппой, нитрогруппой, амидогруппой, сульфогруппой, сульфамидогруппой, ациламиногруппой, ацилоксигруппой, алкиламиногруппой или замещенным алкиламиногруппой, диалкиламиногруппой, алкилмеркаптогруппой или замещенным алкилмеркаптогруппой, циклоалкил- и карбамоилгруппой.

15 R6 является R6'-X,
 где X - это -NH-;

R6' является замещенным фенилом или замещенным бензилом, где родовые группы замещения имеют значения, идентичные определениям соответствующих групп, как
 20 определено в данном обозначении, где:

«замещенный фенил» относится к фенильной группе, которая замещается от одной до пяти функциональных групп, выбираемых из группы, содержащей галоген, алкил, гидроксигруппу, аминогруппу, ациламиногруппу, карбамоиламиногруппу, гидразогруппу, меркаптогруппу, алкоксигруппу или замещенную алкоксигруппу, алкилмеркаптогруппу или замещенную алкилмеркаптогруппу, алкиламиногруппу или замещенную алкиламиногруппу, амидогруппу, карбоксигруппу, нитрогруппу или сульфогруппу, как это определено ниже;

«замещенный бензил» относится к фенилметильной группе, где фенильная группа замещается от одной до пяти функциональных групп, выбираемых из группы, содержащей галоген, аминогруппу, ациламиногруппу, карбамоиламиногруппу, гидразогруппу, ацилоксигруппу, алкил, алкоксигруппу или замещенную алкоксигруппу, алкилмеркаптогруппу или замещенную алкилмеркаптогруппу, алкиламиногруппу или замещенную алкиламиногруппу, амидогруппу, карбоксигруппу, арил, нитрогруппу, меркаптогруппу, сульфогруппу, или гидроксигруппами, как определено ниже;

где родовые группы замещения имеют значения, идентичные определениям соответствующих групп, как определено в данном обозначении, где:

35 "галоген" относится к атомам фтора, брома, хлора и йода;

"гидроксигруппа" относится к группе -OH;

"меркаптогруппа" относится к группе -SH;

"алкил" относится к разветвленной или неразветвленной цепи C₁-C₆, которая является насыщенной и выбирается из групп, таких как метил, пропил, изопропил, третбутил, и подобным примерам этого термина;

40 «алкенил» означает разветвленные или неразветвленные цепи C₁-C₆, которые содержат по крайней мере одну ненасыщенную двойную связь, которая выбирается из таких групп как аллил, винил, гексен-2-ил и подобных им;

«алкинил» означает разветвленные или неразветвленные цепи C₁-C₆, которые содержат по крайней мере одну ненасыщенную тройную связь, которая выбирается из таких групп как этинил, пропаргил и подобных им групп;

45 "замещенный алкил" относится к только что описанному алкилу, включающему от одного до пяти заместителей, таких как гидроксигруппа, меркаптогруппа, алкилмеркаптогруппа, галоген, алкоксигруппа, ацилоксигруппа, аминогруппа, ациламиногруппа, гидразогруппа, карбамоил, амидогруппа, карбоксигруппа, сульфогруппа, ацил, гуанидино и им подобные, в соответствии с чем эти группы могут присоединяться к
 50 любому атому углерода алкильной части;

"алкоксигруппа или замещенная алкоксигруппа" обозначает группу -OR, где R является алкилом, замещенным алкилом, арилалкилом, замещенным арилалкилом, циклоалкилом, замещенным циклоалкилом, циклогетероалкилом или замещенным циклогетероалкилом,

как определено здесь;

"алкилмеркапто или замещенный алкилмеркапто" обозначает группу -SR, где R является, как определено для группы, "алкокси или замещенным алкокси";

"сульфо" обозначает группу -SO₃R, где R является H, алкилом или замещенным алкилом, как определено здесь;

"сульфамидо" обозначает группу SO₂NRR', где R и R' является H, алкилом или замещенным алкилом;

"ацил" обозначает группы -C(O)R, где R является водородом, алкилом, замещенным алкилом, арилом, замещенным арилом, арилалкилом, замещенным арилалкилом,

циклоалкилом, замещенным циклоалкилом, как определено здесь;

"арилокси или замещенный арилокси" обозначает группы -OAr, где Ar является арилом, замещенным арилом, гетероарильной или замещенной гетероарильной группой, как определено здесь;

"алкиламино или замещенный алкиламино" обозначает группу -NRR', где R и R' могут быть независимо водородом, алкилом, замещенным алкилом, арилом, замещенным арилом, гетероарилом или замещенным гетероарилом, как определено здесь;

"амидо" обозначает группу -C(O)NRR', где R и R' могут быть независимо водородом, алкилом, замещенным алкилом, арилом, замещенным арилом, гетероарилом или замещенным гетероарилом, как определено здесь;

"карбоксил" обозначает группу -C(O)OR, где R является водородом, алкилом, замещенным алкилом, арилом, замещенным арилом, гетарилом или замещенным гетарилом, как определено здесь;

"ациламино" обозначает группу -NHCOR, где R может быть алкилом, замещенным алкилом, гетероциклом, арилом, замещенным арилом, гетероарилом и замещенным гетероарилом, как определено здесь;

"карбамоиламино" обозначает группу NHCOOR, где R является алкилом или арилом;

"арил" или "ар" относится к ароматической карбоциклической группе, имеющей не менее одного ароматического кольца, такого как фенил или бифенил, или сложные конденсированные кольца, в которых не менее одного кольца являются ароматическими, такими как 1,2,3,4-тетрагидронафтил, нафтил, антрил или фенантрил;

"замещенный арил" относится к арилу, как только что описанному, который является произвольно замещенным от одной до пяти функциональными группами, такими как галоген, алкил, гидроксильная, амина, ациламино, карбамоиламино, гидразино, меркапто, алкокси, алкилмеркапто, алкиламино, амидо, карбоксил, нитро, сульфо, как определено здесь;

"гетероцикл" относится к ненасыщенной или ароматической карбоциклической группе, имеющей в кольце не менее одного гетероатома, такого как N, O или S; кольцо может быть простым, таким как пиранил, пиридил или фурил, или сложным конденсированным, таким как хиназолинил, пуринил, хинолинил или бензофуранил, которые могут быть произвольно незамещенными или замещенными галогеном, амина, гидроксильная, циано, нитро, меркапто, алкокси, алкиламино, ациламино, карбамоиламино, ацилокси, диалкиламино, алкилмеркапто, карбоксил, амидо, сульфо, сульфамидо и подобными, как определено;

"гетероарил" относится к гетероциклу, в котором не менее одного гетероциклического кольца являются ароматическими;

"замещенный гетероарил" относится к гетероциклу, произвольно моно- или полизамещенному от одной до пяти функциональными группами, такими как галогеном, амина, гидроксильная, циано, нитро, меркапто, алкокси, алкиламино, ациламино, карбамоиламино, ацилокси, диалкиламино, алкилмеркапто, карбоксил, амидо, сульфо, сульфамидо и подобными, как здесь определено;

"арилалкил" относится к группе -R-Ar, где Ar является арильной группой и R является алкилом или замещенной алкильной группой, где арильные группы произвольно могут быть незамещенными или замещенными группами, такими как галоген, амина, ациламино, карбамоиламино, гидразино, ацилокси, алкил, гидроксильная, алкокси, алкилмеркапто,

алкиламино, амидо, карбоксил, гидроксид, арил, нитро, меркапто, сульфо и подобными, как определено;

"гетероалкил" относится к группе -R-Het, где Het является гетероциклической группой и R является алкильной группой, названные гетероалкильные группы произвольно
5 незамещенные или замещенные группами, такими как галоген, амина, гидроксид, циано, нитро, меркапто, алкокси, алкиламино, ациламино, карбамоиламино, ацилокси, диалкиламино, алкилмеркапто, карбоксил, амидо, сульфо, сульфамидо и подобными, как здесь определено ранее;

"гетероариалкил" относится к группе -R-Het-Ar, где Het-Ar является гетероарильной
10 группой и R является алкилом или замещенным алкилом, тогда как гетероариалкильные группы произвольно могут быть незамещенными или замещенными группами, такими как галоген, алкил, замещенный алкил, алкокси, алкилмеркапто, нитро, сульфо и подобными, как здесь определено ранее;

"циклоалкил" относится к двухвалентной циклической или полициклической алкильной
15 группе, содержащей от 3 до 15 атомов углерода;

"замещенный циклоалкил" относится к циклоалкильной группе, включающей в себя от одного до пяти заместителей из группы, состоящей из галогена, амина, гидроксид, циано, нитро, меркапто, алкокси, алкиламино, карбамоиламино, ацилокси, диалкиламино, алкилмеркапто, карбоксил, амидо, сульфо, сульфамидо и подобных, как здесь определено
20 ранее;

"циклогетероалкил" относится к циклоалкильной группе, как определено, где не менее одного из колец метиленовой группы заменено группой, выбираемой из групп NH, OH, SH;

"замещенный циклогетероалкил" относится к циклоалкильной группе, как здесь определено, которая содержит от одного до пяти заместителей, таких как галоген,
25 амина, гидроксид, циано, нитро, меркапто, алкокси, алкиламино, ациламино, карбамоиламино, ацилокси, диалкиламино, алкилмеркапто, карбоксил, амидо, сульфо, сульфамидо и подобные, как здесь определено ранее;

"циклоалкилалкил" обозначает группу -R-циклоалкил, где циклоалкил является циклоалкильной группой и R является алкилом или замещенным алкилом, где
30 циклоалкильные группы произвольно могут быть незамещенными или замещенными галогеном, амина, гидроксид, циано, нитро, меркапто, алкокси, алкиламино, ациламино, карбамоиламино, ацилокси, диалкиламино, алкилмеркапто, карбоксил, амидо, сульфо, сульфамидо и подобными, как здесь определено;

"циклогетероалкилалкил" обозначает группу -R-циклогетероалкил, где R является
35 алкилом или замещенным алкилом, где циклоалкильные группы произвольно могут быть незамещенными или замещенными галогеном, амина, гидроксид, циано, нитро, меркапто, алкокси, алкиламино, ациламино, карбамоиламино, ацилокси, диалкиламино, алкилмеркапто, карбоксил, амидо, сульфо, сульфамидо и подобными, как здесь определено ранее, и рацематы, оптические изомеры и их кислые соли, при условии, что
40 R^{6'} не является следующим соединением: 4-метилбензил, 4-хлорбензил, 4-метоксибензил, 4-трифторметилбензил, 4-метилсульфонилбензил, 4-метилфенил, 2-фторфенил, 4-цианилфенил, а также при условии, что R^{6'} не является дигидроксибензилом или дигидроксифенилом, при производстве медикаментов, косметических средств и регуляторов роста.

Особенно предпочтительным является использование следующих гетероциклических соединений, основанных на N⁶-замещенном аденине с общей формулой I и эти соединения
45 выбираются из:

6-(2-гидрокси-3-хлороксибензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-4-хлорбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-5-хлорбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-6-хлорбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-3-йодбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-4-йодбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-5-йодбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-6-йодбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-3-бромбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-4-бромбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-5-бромбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-6-бромбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-3-
50

фторбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-4-фторбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-5-
фторбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-6-фторбензиламино)пурин, 6-(2,3-дигидрокси-3-
метоксибензиламино)пурин, 6-(2,5-дигидрокси-4-метоксибензиламино)пурин, 6-(2,6-
дигидрокси-4-метоксибензиламино)пурин, 6-(2,3-дигидрокси-4-хлорбензиламино)пурин, 6-
5 (2,3-дигидрокси-4-хлорбензиламино)пурин, 6-(2,5-дигидрокси-4-хлорбензиламино)пурин, 6-
(2,6-дигидрокси-4-хлорбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-4-бромбензиламино)пурин, 6-
(2,6-дигидрокси-4-йодбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3-хлорбензиламино)пурин, 6-
(2,6-дигидрокси-3-бромбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3-йодбензиламино)пурин, 6-
(2,6-дигидрокси-3-фторбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3,5-
10 дихлорбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3,5-дибромбензиламино)пурин, 6-(2,6-
дигидрокси-3,5-дийодбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3,5-дифторбензиламино)пурин,
6-(2-фторбензиламино)пурин, 6-(3-фторбензиламино)пурин, 6-(4-фторбензиламино)пурин,
6-(2-бромбензиламино)пурин, 6-(3-бромбензиламино)пурин, 6-(4-бромбензиламино)пурин,
6-(2-йодбензиламино)пурин, 6-(3-йодбензиламино)пурин, 6-(4-йодбензиламино)пурин, 6-(2-
15 хлорбензиламино)пурин, 6-(3-хлорбензиламино)пурин, 6-(4-хлорбензиламино)пурин, 6-(2-
ацетилбензиламино)пурин, 6-(3-ацетилбензиламино)пурин, 6-(4-ацетилбензиламино)пурин,
6-(3-карбоксибензиламино)пурин, 6-(4-карбоксибензиламино)пурин, 6-(2-
ацетоксibenзиламино)пурин, 6-(3-ацетоксibenзиламино)пурин, 6-(4-
ацетоксibenзиламино)пурин, 6-(2-нитробензиламино)пурин, 6-(3-нитробензиламино)пурин,
20 6-(4-нитробензиламино)пурин, 6-(2-сульфобензиламино)пурин, 6-(3-
сульфобензиламино)пурин, 6-(4-сульфобензиламино)пурин, 6-(2-кианобензиламино)пурин,
6-(3-кианобензиламино)пурин, 6-(4-кианобензиламино)пурин, 6-(5-нитро-2-
метилбензиламино)пурин, 6-(2-метилбензиламино)пурин, 6-(3-метилбензиламино)пурин, 6-
(4-метиламिनобензиламино)пурин, 6-(2-метоксибензиламино)пурин, 6-(3-
25 метоксибензиламино)пурин, 6-(2-гидроксибензиламино)пурин, 6-(3-
гидроксибензиламино)пурин, 6-(4-гидроксибензиламино)пурин, 6-(4-
гексилбензиламино)пурин, 6-(4-гексилоксибензиламино)пурин, 6-(2-
формилбензиламино)пурин, 6-(3-формилбензиламино)пурин, 6-(4-
формилбензиламино)пурин, 6-(2-этоксibenзиламино)пурин, 6-(3-этоксibenзиламино)пурин,
30 6-(4-этоксibenзиламино)пурин, 6-(4-этилбензиламино)пурин, 6-(4-
пентилбензиламино)пурин, 6-(4-пентилоксibenзиламино)пурин, 6-(4-
феноксibenзиламино)пурин, 6-(4-фенилбензиламино)пурин, 6-(4-
пропилбензиламино)пурин, 6-(4-пропилоксibenзиламино)пурин, 6-(4-
октилбензиламино)пурин, 6-(4-октилоксibenзиламино)пурин, 6-(4-
35 этилоксibenзиламино)пурин, 6-(3,4-диацетоксibenзиламино)пурин, 6-(3,5-
диацетоксibenзиламино)пурин, 6-(2,5-диаминбензиламино)пурин, 6-(3,5-
дибромбензиламино)пурин, 6-(3,5-дибром-4-метоксибензиламино)пурин, 6-(2,3-
дихлорбензиламино)пурин, 6-(2,4-дихлорбензиламино)пурин, 6-(2,5-
дихлорбензиламино)пурин, 6-(2,6-дихлорбензиламино)пурин, 6-(3,5-
40 дихлорбензиламино)пурин, 6-(2,3,4,5-тетрафторбензиламино)пурин, 6-(2-хлор-3,6-
дифторбензиламино)пурин, 6-(5-хлор-2-фторбензиламино)пурин, 6-(2,3,4-
трифторбензиламино)пурин, 6-(2,3,5-трифторбензиламино)пурин, 6-(2,4,5-
трифторбензиламино)пурин, 6-(3,4,5-трифторбензиламино)пурин, 6-(2,3,6-
трифторбензиламино)пурин, 6-(3-хлор-2,6-дифторбензиламино)пурин, 6-(2-хлор-6-
45 фторбензиламино)пурин, 6-(2,6-дифторбензиламино)пурин, 6-(2,4-
дифторбензиламино)пурин, 6-(3,4-дифторбензиламино)пурин, 6-(2,5-
дифторбензиламино)пурин, 6-(3,5-дифторбензиламино)пурин, 6-(5-фтор-2-
(трифторметил)бензиламино)пурин, 6-(4-фтор-2-(трифторметил)бензиламино)пурин, 6-(2-
хлор-5-(трифторметил)бензиламино)пурин, 6-(2-(дифторметокси)бензиламино)пурин, 6-(3-
50 (дифторметокси)бензиламино)пурин, 6-(4-(дифторметокси)бензиламино)пурин, 6-(2-фтор-5-
(трифторметил)бензиламино)пурин, 6-(3-фтор-4-(трифторметил)бензиламино)пурин, 6-(2-
фтор-4-(трифторметил)бензиламино)пурин, 6-(2-(трифторметилтио)бензиламино)пурин, 6-
(2-фтор-3-(трифторметил)бензиламино)пурин, 6-(2-хлор-6-фтор-3-

[illegible]

тригидроксibenзиламино)пурин, 6-(2,3,4-тригидроксibenзиламино)пурин, 6-(3,4,5-
тригидроксibenзиламино)пурин, 6-(2,4,6-тригидроксibenзиламино)пурин, 6-(2,4,5-
трихлорбензиламино)пурин, 6-(2,4,5-трихлорбензиламино)пурин, 6-(2,4,6-
трихлорбензиламино)пурин, 6-(2,3,4-трихлорбензиламино)пурин, 6-(2,3,5-
5 трихлорбензиламино)пурин, 6-(2,3,6-трихлорбензиламино)пурин, 6-(2,5,6-
трихлорбензиламино)пурин, 6-анилинопурин, 6-(2,4-бис(трифторметил)анилино)пурин, 6-
(2,5-бис(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,4-бис(трифторметил)анилино)пурин, 6-(3,5-
бис(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2-броманилино)пурин, 6-(3-броманилино)пурин, 6-(4-
броманилино)пурин, 6-(4-бром-2-хлоранилино)пурин, 6-(4-бром-3-хлоранилино)пурин, 6-(2-
10 бром-6-хлор-4-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(4-бром-5,6-дифторанилино)пурин, 6-(2-
бром-4,6-дифторанилино)пурин, 6-(4-бром-2,6-дифторанилино)пурин, 6-(4-бром-2-
фторанилино)пурин, 6-(2-бром-4-фторанилино)пурин, 6-(2-бром-4-метиланилино)пурин, 6-
(3-бром-2-метиланилино)пурин, 6-(4-бром-3-метиланилино)пурин, 6-(2-бром-4-
(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(3-бром-4-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(4-бром-2-
15 (трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-бром-4,5,6-трифторанилино)пурин, 6-(2,4-
диброманилино)пурин, 6-(2,5-диброманилино)пурин, 6-(2,4-дибром-3,6-
дихлоранилино)пурин, 6-(2,6-дибром-4-фторанилино)пурин, 6-(2,6-дибром-4-
(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2,4-дибром-6-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,6-
дибром-4-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,3-дихлоранилино)пурин, 6-(2,4-
20 дихлоранилино)пурин, 6-(2,5-дихлоранилино)пурин, 6-(2,6-дихлоранилино)пурин, 6-(3,4-
дихлоранилино)пурин, 6-(3,5-дихлоранилино)пурин, 6-(2,6-дихлор-4-
(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2,4-дихлор-6-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,6-
дихлор-4-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,3-дифторанилино)пурин, 6-(2,4-
дифторанилино)пурин, 6-(2,5-дифторанилино)пурин, 6-(2,6-дифторанилино)пурин, 6-(3,4-
25 дифторанилино)пурин, 6-(3,5-дифторанилино)пурин, 6-(2-дифторметоксианилино)пурин, 6-
(2-дифторметокси-5-нитроанилино)пурин, 6-(2,3-дифтор-6-нитроанилино)пурин, 6-(2,4-
дифтор-6-нитроанилино)пурин, 6-(2,4-дийоданилино)пурин, 6-(2,3-диметиланилино)пурин,
6-(2,4-диметиланилино)пурин, 6-(2,3-диметил-6-нитроанилино)пурин, 6-(2,4-
диметоксианилино)пурин, 6-(2,3-диметоксианилино)пурин, 6-(2,3-динитро-6-
30 метиланилино)пурин, 6-(4-гидрокси-2-метиланилино)пурин, 6-(2-хлоранилино)пурин, 6-(3-
хлоранилино)пурин, 6-(4-хлоранилино)пурин, (3-хлор-2,6-дибром-4-фторанилино)пурин, 6-
(2-хлор-4-фторанилино)пурин, 6-(2-хлор-5-фторанилино)пурин, 6-(2-хлор-6-
фторанилино)пурин, 6-(3-хлор-2-фторанилино)пурин, 6-(3-хлор-4-фторанилино)пурин, 6-(4-
хлор-2-фторанилино)пурин, 6-(5-хлор-2-фторанилино)пурин, 6-(2-хлор-4-фтор-5-
35 метиланилино)пурин, 6-(5-хлор-4-фтор-2-нитроанилино)пурин, 6-(5-хлор-2-
гидроксианилино)пурин, 6-(4-хлор-2-йоданилино)пурин, 6-(2-хлор-4-йоданилино)пурин, 6-
(2-хлор-6-метиланилино)пурин, 6-(3-хлор-2-метиланилино)пурин, 6-(3-хлор-4-
(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(4-хлор-2-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-
фторанилино)пурин, 6-(3-фторанилино)пурин, 6-(4-фторанилино)пурин, 6-(2-фтор-4-
40 йоданилино)пурин, 6-(2-фтор-5-нитроанилино)пурин, 6-(2-фтор-4-метиланилино)пурин, 6-
(3-фтор-2-метиланилино)пурин, 6-(3-фтор-4-метиланилино)пурин, 6-(4-фтор-2-
метиланилино)пурин, 6-(3-фтор-4-метиланилино)пурин, 6-(5-фтор-2-метиланилино)пурин,
6-(4-фтор-2-нитроанилино)пурин, 6-(4-фтор-3-нитроанилино)пурин, 6-(2-
йоданилино)пурин, 6-(2-фтор-4-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(4-йод-2-
45 метиланилино)пурин, 6-(2-метоксианилино)пурин, 6-(3-метоксианилино)пурин, 6-(4-
метоксианилино)пурин, 6-(2-метокси-5-метиланилино)пурин, 6-(2-метокси-6-
метиланилино)пурин, 6-(4-метокси-2-метиланилино)пурин, 6-(5-метокси-2-
метиланилино)пурин, 6-(4-метокси-3-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2-
метиланилино)пурин, 6-(4-метиланилино)пурин, 6-(3-метиланилино)пурин, 6-(2-метил-3-
50 (трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-метил-4-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-
(метилтио)анилино)пурин, 6-(4-(метилтио)анилино)пурин, 6-(2-нитроанилино)пурин, 6-(3-
нитроанилино)пурин, 6-(4-нитроанилино)пурин, 6-(2-нитро-4,5,6-трифторанилино)пурин, 6-
(2-нитро-4-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-нитротетрафторанилино)пурин, 6-

(2,3,4,5,6-пентаброманилино)пурин, 6-(2,3,4,5,6-пентафторанилино)пурин, 6-(2,3,4,5-тетрахлоранилино)пурин, 6-(2,3,5,6-тетрахлоранилино)пурин, 6-(4-(1,1,2,2-тетрафторэтокс)анилино)пурин, 6-(2,3,4,5-тетрафторанилино)пурин, 6-(2,3,4,6-тетрафторанилино)пурин, 6-(2,3,5,6-тетрафторанилино)пурин, 6-(2,3,5,6-тетрафтор-4-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,4,6-триброманилино)пурин, 6-(2,4,6-трибром-3,5-дийоданилино)пурин, 6-(2,3,4-трихлоранилино)пурин, 6-(2,4,5-трихлоранилино)пурин, 6-(2,4,6-трихлоранилино)пурин, 6-(2,4,5-трифторанилино)пурин, 6-(2,3,5-трифторанилино)пурин, 6-(2,3,6-трифторанилино)пурин, 6-(2,3,4-трифторанилино)пурин, 6-(2-трифторметоксианилино)пурин, 6-(3-трифторметоксианилино)пурин, 6-(4-трифторметоксианилино)пурин, 6-(2,3,4-трифтор-6-нитроанилино)пурин, 6-(2,4,5-триметиланилино)пурин, 6-(2,4,6-триметиланилино)пурин, 6-(3-хлор-5-аминоанилино)пурин, 6-(3-хлор-4-карбокси)пурин, 6-(3-амино-4-хлоранилино)пурин, 6-(3-хлор-4-аминоанилино)пурин, 6-(3-карбокси-4-гидроксианилино)пурин, при производстве медикаментов, косметических средств или регуляторов роста.

Настоящее изобретение также относится к использованию гетероциклических соединений на основе N⁶-замещенного аденина общей формулы I в соответствии с ранее указанными и их фармацевтически приемлемых солей при производстве медикаментов, имеющих противораковые, митотические и иммуноподавляющие свойства, влияющие на клетки растений, животных и человека.

Далее настоящее изобретение относится к использованию гетероциклических соединений на основе N⁶-замещенного аденина общей формулы (I) вышеуказанных и их фармацевтически приемлемых солей при производстве регуляторов роста растений, млекопитающих животных, микроорганизмов, клеток дрожжей и грибов.

Настоящее изобретение также относится к использованию вышеуказанных гетероциклических соединений на основе N⁶-замещенного аденина общей формулы I и их фармацевтически приемлемых солей при производстве косметических средств, имеющих свойства, замедляющие старение клеток растений, животных и человека.

Изобретение относится также и к фармацевтическим и косметическим композициям или регуляторам роста, которые содержат вышеуказанные гетероциклические соединения на основе N⁶-замещенного аденина общей формулы I и их фармацевтически приемлемые соли, имеющие противораковые, митотические, иммуноподавляющие и замедляющие старение свойства, влияющие на клетки растений, животных и человека.

Настоящее изобретение касается также использования вышеуказанных гетероциклических соединений на основе N⁶-замещенного аденина общей формулы I и их фармацевтически приемлемых солей при производстве регуляторов роста для использования в сельском хозяйстве, особенно для увеличения урожая и качества сельскохозяйственных культур.

Настоящее изобретение касается также и использования вышеуказанных гетероциклических соединений на основе N⁶-замещенного аденина общей формулы (I) и их фармацевтически приемлемых солей при производстве косметических средств, замедляющих старение и подавляющих чувствительность эпидермических клеток млекопитающих, таких как кератиноциты и фибробласты.

Изобретение относится также и к использованию вышеуказанных гетероциклических соединений на основе N⁶-замещенного аденина общей формулы I и их фармацевтически приемлемых солей при производстве регуляторов роста для применения их в клеточных культурах для стимуляции их размножения и морфогенеза.

Данное изобретение относится к тому же и к использованию вышеуказанных гетероциклических соединений на основе N⁶-замещенного аденина общей формулы I и их фармацевтически приемлемых солей при производстве препаратов, предназначенных для подавления иммуностимуляции.

Настоящее изобретение относится также и к гетероциклическим соединениям на базе N⁶-замещенного аденина общей формулы I, где соединения выбираются из групп:

[illegible]

[illegible]

[illegible]

йоданилино)пурин, 6-(2-фтор-4-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(4-йод-2-метиланилино)пурин, 6-(2-метоксианилино)пурин, 6-(3-метоксианилино)пурин, 6-(4-метоксианилино)пурин, 6-(2-метокси-5-метиланилино)пурин, 6-(2-метокси-6-метиланилино)пурин, 6-(4-метокси-2-метиланилино)пурин, 6-(5-метокси-2-метиланилино)пурин, 6-(4-метокси-3-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2-метиланилино)пурин, 6-(4-метиланилино)пурин, 6-(3-метиланилино)пурин, 6-(2-метил-3-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-метил-4-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-(метилтио)анилино)пурин, 6-(4-(метилтио)анилино)пурин, 6-(2-нитроанилино) пурин, 6-(3-нитроанилино)пурин, 6-(4-нитроанилино)пурин, 6-(2-нитро-4,5,6-трифторанилино)пурин, 6-(2-нитро-4-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-нитротетрафторанилино)пурин, 6-(2,3,4,5,6-пентаброманилино)пурин, 6-(2,3,4,5,6-пентафторанилино)пурин, 6-(2,3,4,5-тетрахлоранилино)пурин, 6-(2,3,5,6-тетрахлоранилино)пурин, 6-(4-(1,1,2,2-тетрафторэтокси)анилино)пурин, 6-(2,3,4,5-тетрафторанилино)пурин, 6-(2,3,4,6-тетрафторанилино)пурин, 6-(2,3,5,6-тетрафторанилино)пурин, 6-(2,3,5,6-тетрафтор-4-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,4,6-триброманилино)пурин, 6-(2,4,6-трибром-3,5-дийоданилино)пурин, 6-(2,3,4-трихлоранилино)пурин, 6-(2,4,5-трихлоранилино)пурин, 6-(2,4,6-трихлоранилино)пурин, 6-(2,4,5-трифторанилино)пурин, 6-(2,3,5-трифторанилино)пурин, 6-(2,3,6-трифторанилино)пурин, 6-(2,3,4-трифторанилино)пурин, 6-(2-трифторметоксианилино)пурин, 6-(3-трифторметоксианилино)пурин, 6-(4-трифторметоксианилино)пурин, 6-(2,3,4-трифтор-6-нитроанилино)пурин, 6-(2,4,5-триметиланилино)пурин, 6-(2,4,6-триметиланилино)пурин, 6-(3-хлор-5-аминоанилино)пурин, 6-(3-хлор-4-карбоксии)пурин, 6-(3-амино-4-хлоранилино)пурин, 6-(3-хлор-4-аминоанилино)пурин, 6-(3-карбоксии-4-гидроксианилино)пурин.

Исходным материалом для приготовления соединений общей формулы I является 6-хлорпурин, синтезируемый из гипоксантина с использованием POCl_3 в соответствии с литературным источником (Davoll and Blowy, J. Am. Chem. Soc. 73:2936 (1957)) или имеющийся в продаже (Sigma, Aldrich, Fluka).

Другим исходным материалом для приготовления соединений общей формулы I является 6-бромпурин, синтезируемый из гипоксантина с использованием н-пентилнитрита в трибромметане или имеющийся в продаже.

В соответствии с настоящим изобретением новые гетероциклические производные на основе N^6 -замещенного аденина, имеющие формулу I, где R_2 и R_6 представляют собой как описано здесь ранее, могут быть приготовлены из гетероциклического производного, имеющего формулу I, где R_6 представляет группу бром, хлор или метилмеркапто и R_2 представляет собой как описано здесь ранее, с помощью нуклеофильного замещения для перевода группы бром, хлор или метилмеркапто в положении R_6 в любое другое значение заместителя R_6 , как описано здесь ранее, для получения соединения, имеющего формулу I.

Другим способом в соответствии с настоящим изобретением является приготовление соединений формулы I, характеризующихся тем, что гетероциклическое производное, имеющее формулу I, где R_2 является водородом и R_6 представляет аминогруппу, является замещенным в положении R_6 с помощью реакции с альдегидом, имеющим формулу $\text{R}_6'\text{-CHO}$, где R_6' является описанным здесь ранее, для перевода аминогруппы в положении R_6 в любое другое значение заместителя R_6 , как описано здесь ранее, для получения соединения, имеющего формулу I.

Терапевтическое применение

Подходящие пути применения включают оральный, ректальный, местный (включая кожный, глазной, буккальный и подъязычный), вагинальный и парентеральный (включая подкожный, внутримышечный, внутривенный, интрадермальный, интратекальный и эпидуральный). Предпочтительный путь применения среди прочих известных врачам-клиницистам соображений будет зависеть от состояния пациента, токсичности вещества и места инфекции.

Терапевтический состав включает от примерно 1% до примерно 95% активного

ингредиента, формы одноразовых доз назначения предпочтительно включают от примерно 20% до примерно 90% активного ингредиента, и дозы назначения, которые не являются одноразовыми, предпочтительно включают от примерно 5% до примерно 20% активного ингредиента. Формами единичных доз являются, например, таблетки с покрытием,

5 таблетки, ампулы, флаконы, суппозитории или капсулы. Другими формами применения являются, например, мази, крема, пасты, пены, тинктуры, губные помады, капли, аэрозоли, дисперсии и им подобные. Примерами являются капсулы, содержащие от примерно 0,05 г до примерно 1,0 г активного ингредиента.

Фармацевтические составы по настоящему изобретению приготавливаются с помощью

10 известных по существу способов, например с помощью обычных процессов смешения, гранулирования, покрытия, растворения или лиофилизации.

Предпочтительно, используемые растворы активных ингредиентов, а также суспензии или дисперсии, особенно изотонические водные растворы, дисперсии или суспензии, для них возможна подготовка перед использованием, например в случае лиофилизированных

15 составов, которые включают активное вещество как таковое или вместе с носителем, например маннитол. Фармацевтические составы могут быть стерилизованными и/или включать наполнители, например консерванты, стабилизаторы, смачивающие агенты и/или эмульгаторы, растворяющие агенты, соли для регулирования осмотического давления и/или буферные растворы, и они приготавливаются с помощью известных по существу

20 способов, например с помощью обычных процессов растворения или лиофилизации. Названные растворы или суспензии могут содержать повышающие вязкость вещества, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, декстран, поливинилпирролидон или желатин.

Суспензии в масле включают, в качестве масляного компонента, растительные, синтетические или полусинтетические масла, употребляемые для инъекционных целей.

25 Маслами, которые могут быть названы, являются, в частности, жидкие эфиры жирных кислот, которые содержат, в качестве кислотного компонента, жирную кислоту с длинной цепью, имеющую 8-22, в частности 12-22, атомов углерода, например лауриновая кислота, тридециловая кислота, миристиновая кислота, пентадециловая кислота, пальмитиновая кислота, маргариновая кислота, стеариновая кислота, арахидоновая кислота, бегеновая

30 кислота, или соответствующие ненасыщенные кислоты, например олеиновая кислота, элаидиновая кислота, эйритовая кислота, брасидовая кислота или линолевая кислота, и если целесообразно, с добавкой антиоксидантов, например витамин Е, бета-каротин или 3,5-дитретбутил-4-гидрокситолуол. Спиртовая компонента этих эфиров жирных кислот имеет не более 6 атомов углерода и является моно- или полиосновной, например моно-,

35 ди- или трехосновный спирт, например метанол, этанол, пропанол, бутанол или пентанол, или их изомеры, но в частности гликоль и глицерин. Поэтому эфирами жирных кислот являются, например, этилолеат, изопропилмиристат, изопропилпальмитат, "Labrafil M 2375" (полиоксиэтиленглицеринтриолеат от Gattefoscé, Париж), "Labrafil M 1944 CS" (ненасыщенные полиглицериды, приготавливаемые алкоголизом косточкового

40 абрикосового масла и превращаемые в эфиры глицеридов и полиэтиленгликоля; от Gattefoscé, Париж), "Labrasol" (насыщенные полиглицериды, приготавливаемые алкоголизом ТСМ и превращаемые в эфиры глицеридов и полиэтиленгликоля; от Gattefoscé, Париж) и/или "Miglyol 812" (триглицерид насыщенных жирных кислот с длиной цепи от C₈ до C₁₂ от Hüls AG, Германия) и, в частности,

45 растительные масла, такие как хлопковое масло, миндальное масло, оливковое масло, касторовое масло, кунжутное масло, соевое масло и, в частности, арахисовое масло.

Приготовление составов для инъекций выполняется обычным способом в стерильных условиях, какими являются розлив, например, в ампулы или пузырьки и запечатывание контейнеров.

50 Например, фармацевтические составы для орального применения могут быть получены сочетанием активного ингредиента с одним или более твердыми носителями, если целесообразно, гранулированием полученной смеси и, если нужно, превращением смеси или гранул в таблетки или таблетки с покрытием, если целесообразно, с добавлением

дополнительных наполнителей.

Подходящими носителями являются, в частности, наполнители, такие как сахара, например лактоза, сахароза, маннитол или сорбитол, целлюлозные препараты и/или фосфаты кальция, например трикальций дифосфат или кислый фосфат кальция, и, кроме
 5 тою, связующие вещества, такие как крахмалы, например кукурузный, пшеничный, рисовый или картофельный крахмал, метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза натрия и/или поливинилпирролидин, и/или, если нужно, дезинтеграторы, такие как вышеназванные крахмалы и, кроме того, карбоксилметильный крахмал, поливинилпирролидин с сетчатой структурой, альгиновая кислота или ее соли,
 10 такие как альгинат натрия. Дополнительными наполнителями являются, в частности, регуляторы текучести и скользящие вещества, например салициловая кислота, тальк, стеариновая кислота и ее соли, такие как стеарат магния или стеарат кальция, и/или полиэтиленгликоль или его производные.

Таблетки с покрытием могут быть обеспечены подходящими покрытиями, которые, если
 15 целесообразно, устойчивы к желудочному соку, используемыми покрытиями являются, в числе прочего, концентрированные сахарные растворы, которые, если целесообразно, включают гуммиарабик, тальк, поливинилпирролидин, полиэтиленгликоль и/или диоксид титана, покрывающие растворы в подходящих органических растворителях или смесях растворителей, или для приготовления покрытий, которые устойчивы к желудочному соку,
 20 растворы подходящих целлюлозных препаратов, таких как фталат ацетилцеллюлозы или фталат гидроксипропилметилцеллюлозы. К таблеткам или покрытиям таблеток с покрытиями могут быть добавлены красители или пигменты, например, для идентификации или характеристики различных доз активного ингредиента.

Фармацевтическими составами, которые могут применяться орально, являются также
 25 твердые капсулы из желатина и мягкие, закрытые капсулы из желатина и пластификатора, такого как глицерин или сорбитол. Твердые капсулы могут содержать активный ингредиент в виде гранул, смешенных, например, с наполнителями, такими как кукурузный крахмал, связующими веществами и/или скользящими веществами, такими как тальк или стеарат магния, и стабилизаторами, если целесообразно. В мягких капсулах активный ингредиент
 30 предпочтительно растворен или суспензирован в подходящих жидких наполнителях, таких как жирные масла, парафиновое масло или жидкий полиэтиленгликоль или эфиры жирных кислот и этиленгликоля или пропиленгликоля, и также возможно добавление стабилизаторов и детергентов, например, типа эфира полиэтиленсорбитана и жирной кислоты.

Другими формами орального применения являются, например, сиропы,
 35 приготавливаемые обычным способом, которые включают активный ингредиент, например, во взвешенном виде и при концентрации от примерно 5% до 20%, предпочтительно примерно 10%, или при схожей концентрации, которая выражается в подходящей индивидуальной дозе, например, когда дозируется 5 или 10 мл. Другими формами
 40 являются также, например, порошкообразные или жидкие концентраты для приготовления болтушек, например, в молоке. Такие концентраты также могут быть расфасованы в разовых дозах.

Фармацевтическими составами, которые могут применяться ректально, являются, например, свечи, которые включают в себя сочетание активного ингредиента с основной
 45 свечи. Подходящими основами свечи являются, например, триглицериды природного или синтетического происхождения, парафиновые углеводороды, полиэтиленгликоли или высшие алканола.

Составами, которые пригодны для парентерального применения, являются водные растворы активного ингредиента в водорастворимой форме, например в виде
 50 водорастворимой соли, или водные суспензии для инъекции, которые включают повышающие вязкость вещества, например карбоксиметилцеллюлозу натрия, сорбитол и/или декстран, и стабилизаторы, если целесообразно. Активный ингредиент может здесь также присутствовать в форме лиофилизата, если целесообразно, вместе с наполнителями

и может быть растворен перед парентеральным применением путем добавления подходящих растворителей. Предпочтительными консервантами являются, например, антиокислители, такие как аскорбиновая кислота, или бактерицидные средства, такие как сорбиновая или бензойная кислота.

- 5 Мазями являются эмульсии масло-в-воде, которые включают не более 70%, предпочтительно 20-50%, воды или водной фазы. Жирная фаза содержит, в частности, углеводороды, например вазелин, парафиновое масло или твердые парафины, которые предпочтительно включают в себя подходящие окиссоединения, такие как жирные спирты или их эфиры, например цетиловый спирт или спирты шерстяного воска, такие как
- 10 шерстяной воск, для улучшения способности связывания с водой. Эмульгаторами являются соответствующие лиофильные вещества, такие как эфиры сорбита и жирной кислоты (Spans), например сорбит олеат и/или сорбит изостеарат. Добавками к водной фазе являются, например, увлажнители, такие как полиспирты, например глицерин, пропиленгликоль, сорбитол и/или полиэтиленгликоль, или консерванты и душистые
- 15 вещества.

- Жирные мази являются безводными и содержат, в качестве основы, в частности, углеводороды, например парафин, вазелин или парафиновое масло, и, кроме того, природные или полусинтетические жиры, например гидрогенизированные триглицериды кокосовой и жирной кислот или предпочтительно гидрогенизированные масла, например
- 20 гидрогенизированное арахисовое или касторовое масло, и, кроме того, частичные эфиры жирных кислот и глицерина, например глицерин моно- и/или дистеарат, и, например, жирные спирты. Они также содержат эмульгаторы и/или добавки, названные в связи с мазями, которые повышают усвоение воды.

- Крема являются эмульсиями масло-в-воде, которые включают в себя более 50% воды.
- 25 Используемой масляной основой являются, в частности, жирный спирты, например лауриловый, цетиловый или стеариловый спирт, жирные кислоты, например пальмитиновая или стеариновая кислота, жидкость для отверждения восков, например изопропилмиристат, шерстяной воск или пчелиный воск, и/или углеводороды, например вазелин (вазелиновое масло) или парафиновое масло. Эмульгаторами являются
- 30 поверхностно-активные вещества с преобладающими гидрофильными свойствами, такие как соответствующие неионные эмульгаторы, например эфиры жирных кислот и полиспиртов или их этиленоксидные продукты присоединения, такие как эфиры полиглицериновой кислоты и жирной кислоты или эфиры полиэтиленсорбита и жирной кислоты (Tweens), и, кроме того, эфиры полиоксиэтилена и жирного спирта или эфиры
- 35 полиоксиэтилена и жирной кислоты, или соответствующие ионные эмульгаторы, такие как соли щелочных металлов сульфата жирного спирта, например лаурилсульфат натрия, цетилсульфат натрия или стеарилсульфат натрия, которые обычно используются в присутствии жирных спиртов, например цетилстеариловый спирт или стеариловый спирт. Добавками к водной фазе являются, среди прочего, агенты, которые предотвращают крем
- 40 от высыхания, например полиспирты, такие как глицерин, сорбит, пропиленгликоль и/или полиэтиленгликоли, и, кроме того, консерванты и ароматизирующие вещества.

- Пастами являются крема и мази, имеющие порошковую составляющую, сорбирующую секреции, такую как оксиды металлов, например оксид титана или оксид цинка, и, кроме того, тальк и/или силикат алюминия, назначение которых состоит в связывании
- 45 присутствующих влаги или секретий.

- Пены применяются из баллонов под давлением, и они являются жидкими эмульсиями масло-в-воде, находящимися в аэрозольной пене. В качестве аэрозольных газ-вытеснителей используются галогенизированные углеводороды, такие как полигалогенизированные алканы, например дихлорфторметан и дихлортетрафторэтан,
- 50 или, предпочтительно, негалогенизированные газообразные углеводороды, воздух, N₂O или диоксид углерода. Используемыми масляными фазами являются, среди прочего, те, которые названы для мазей и кремов, и точно также используются названные добавки.

Тинктуры и растворы обычно включают в себя водно-этанольную основу, к которой

примешиваются увлажнители для уменьшения испарения, такие как полиспирты, например глицерин, гликоли и/или полиэтиленгликоль, и смазывающие вещества, такие как эфиры жирных кислот с более низкими полиэтиленгликолями, например липофильные вещества, растворимые в водной смеси для замещения жирных веществ, удаляемых из кожи

5 этанолом, и, если необходимо, другие наполнители и добавки.

Кроме того, настоящее изобретение предоставляет ветеринарные составы, включающие в себя не менее одного активного ингредиента, как определено выше, вместе с их ветеринарным носителем. Ветеринарные носители являются материалами для применения состава и могут быть твердыми, жидкими или газообразными веществами, 10 которые являются инертными или приемлемыми в ветеринарии и являются совместимыми с активным ингредиентом. Эти ветеринарные составы могут применяться орально, парентерально или любым другим требуемым путем.

Это изобретение относится также к процессу или способу для лечения названных выше болезненных состояний. Эти вещества могут применяться профилактически или 15 терапевтически, как таковые или в виде фармацевтических составов, предпочтительно в количестве, которое является эффективным для названных заболеваний. Эти вещества используются для теплокровных животных, например, для людей, для которых требуется такое лечение, в частности, в форме фармацевтического состава. Ежедневная доза примерно от 0,1 до примерно 5 г, предпочтительно от 0,5 г до примерно 2 г, вещества 20 по настоящему изобретению назначается здесь для веса тела примерно 70 кг.

Чертежи

На фиг.1 показано подавление роста опухолевых клеток линий K562 (A) и СЕМ (B) с помощью испытываемых веществ. Цитотоксичность была определена в присутствии Calcein AM. Активность представлена как процент от максимальной активности (в 25 отсутствии ингибиторов). iP: изопентениладенин; 2F BAP: 6-(2-фторбензиламино)пурин; 2Cl BAP: 6-(2-хлорбензиламино)пурин; 2ОН-3ОН₃ BAP: 6-(2-гидрокси-3-метоксибензиламино)пурин.

На фиг.2 показаны стареющие клетки в культуре человеческих фибробластов (B) (другие клетки (A)), окрашиваемые голубым красителем в ответ на действие β-галактосидазы на 30 субстрате X-gal (5-бром-4-хлор-3-индотил-β-D-галактопиранозид) (1 мг/мл).

На фиг.3 показан наведенный апоптоз в опухолевых клетках клеточной линии MCF-7 после применения цитокинина 6-(2-гидрокси-3-метоксибензиламино)пурин. A - MCF-7, апоптозные клетки: 6 ч., 12, 20 мкМ, B - MCF-7, клетки вторичного некроза (т.е. некроз следует после апоптоза), C - MCF-7, омертвевшие клетки, 24 ч., 12, 40 мкМ. 35 Окрашивание анексином FITC V (Mol. Probes) и пропидиум йодид (PI): анексин - зеленый, PI - красный.

На фиг.4 показано определение апоптозных клеток с использованием анексина (зеленая флуоресценция) и Hoechst 33285 (голубая флуоресценция). Анализ с использованием "Olympus image analysis" после обработки опухолевых клеток MCF-7 с помощью 6-(2- 40 гидроксис-3-метоксибензиламино)пурин. A,B - контрольные клетки без обработки; C,D - апоптозные клетки (конденсация хроматина); A,C - флуоресцентная микроскопия; B,D - анализ флуоресцентного изображения.

На фиг.5 показано воздействие испытываемых веществ на удержание хлорофилла в срезанных кончиках пшеничного листа. Величины выражены как проценты от исходного 45 содержания хлорофилла в свежих листьях перед инкубацией. Величины ошибок показывают стандартные отклонения от среднего для пяти дублируемых определений. Штриховая линия показывает контрольную инкубацию без цитокинина, которая составила 31,7±0,9.

На фиг.6 показано воздействие испытываемых веществ на выход по весу для табачной 50 культуры каллус. Величины ошибок показывают стандартные отклонения от среднего для пяти дублируемых определений. Штриховая линия показывает значение для контрольной обработки без цитокинина, 2,2±0,4 г.

На фиг.7 показано воздействие испытываемых веществ на темный синтез бетацианина в

эксплантатах семядоля/гипокотиль *Amaranthus caudatus*. Величины ошибок показывают стандартные отклонения от среднего для пяти дублируемых определений. Штриховая линия показывает значение для контрольной обработки без добавления цитокинина, $0,043 \pm 0,009$. Значения представляют разность в единицах оптической плотности (O.D.) между поглощением при 537 и 620 нм.

На фиг.8 показано относительное количество эксплантатов с не менее одним коричневым листом как функция от времени культивирования (■: BA, ●: mT, ▲: mMeOBAP).

На фиг.9 показано относительное количество мертвых эксплантатов в зависимости от времени культивирования (■: BA, ●: mT, ▲: mMeOBAP).

На фиг.10 показано слева: мертвый эксплантат *Rosa hybrida* на среде, содержащей BA; справа: сильное растение *Rosa hybrida* через 121 день культивирования на среде, содержащей mMeOBAP.

Следующие примеры служат для иллюстрации этого изобретения без ограничения пределов объема изобретения.

Примеры

Пример 1

6-(3-хлорбензиламино) пурин

3 ммоль 6-хлорпурина были растворены в 15 мл бутанола. Затем 4 ммоль 3-хлорбензиламина и 5 ммоль триэтиламина были добавлены и смесь нагревалась при 90°C в течение 4 часов. После охлаждения осажденный продукт был отфильтрован, промыт холодной водой и н-бутанолом и выкристаллизован из этанола или диметилформамида. Температура плавления =252°C, тонкослойная хроматография (CHCl_3 :MeOH:конц. NH_4OH (8:2:0.2, об./об./об.)): единичное пятно; высокоэффективная жидкостная хроматография: чистота >98%. Выход 95%.

Таблица 1				
Соединения, приготовленные по способу примера 1				
R6 Заместитель	Анализ CHN рассчитано/найденно			
	%C	%H	%N	ESI-MS [M+H ⁺]
2-фторбензиламино	59,3/59,05	4,1/3,8	28,8/27,8	244
3-фторбензиламино	59,3/59,1	4,1/3,9	28,8/27,7	244
4-фторбензиламино	59,3/59,2	4,1/3,9	28,8/27,9	244
2-хлорбензиламино	55,5/55,7	3,8/4,2	27,0/26,0	260
3-хлорбензиламино	55,5/55,2	3,8/3,9	27,0/26,2	260
2-бромбензиламино	47,4/47,6	3,3/3,5	23,0/22,5	304
2-бромбензиламино	47,4/47,1	3,3/3,4	23,0/23,1	304
2-бромбензиламино	47,4/47,8	3,3/3,4	23,0/22,3	304
3-йодбензиламино	41,0/41,4	2,8/2,8	20,0/19,5	352
2-метилбензиламино	65,2/64,9	5,5/5,8	29,3/29,8	240
3-метилбензиламино	65,2/64,7	5,5/6,0	29,3/29,9	240
2-метоксибензиламино	61,2/61,0	5,1/5,5	27,4/26,6	256
3-метоксибензиламино	61,2/61,0	5,1/5,3	27,4/27,5	256
3-нитробензиламино	53,3/53,1	3,7/3,6	31,1/30,8	271
4-нитробензиламино	53,3/53,0	3,7/3,5	31,1/30,8	271
2,4-дихлорбензиламино	49,0/49,4	3,1/3,1	23,8/23,1	295
3,4-дихлорбензиламино	49,0/49,1	3,1/3,2	23,8/23,0	295
2-гидрокси-3-метоксибензиламино	57,5/57,2	4,8/4,6	25,8/26,4	272
2-гидрокси-4-метоксибензиламино	57,5/57,1	4,8/4,5	25,8/26,6	272
4-гидрокси-3-метоксибензиламино	57,5/57,3	4,8/4,7	25,8/26,2	272
3-гидрокси-4-метоксибензиламино	57,5/57,0	4,8/4,5	25,8/26,7	272
2,3-диметоксибензиламино	58,9/59,3	5,3/5,48	24,5/24,5	286
2,4-диметоксибензиламино	58,9/59,3	5,3/4,9	24,5/25,5	286
3,4-диметоксибензиламино	58,9/59,7	5,3/5,6	24,5/24,8	286
3,5-метоксибензиламино	58,9/59,7	5,3/5,32	24,5/24,4	286
2,4,6-триметоксибензиламино	57,1/57,3	5,4/5,3	22,2/22,8	316
3,4,5-триметоксибензиламино	57,1/57,1	5,4/5,2	22,2/22,5	316
2,4-дифторбензиламино	55,2/54,5	3,5/3,1	26,8/27,2	262
3,5-дифторбензиламино	55,2/54,8	3,5/3,3	26,8/27,3	262
2,3,4-трифторбензиламино	51,6/51,1	2,9/2,7	25,1/25,5	280

3-хлор-4-фторбензиламино	51,9/50,9	3,3/3,4	25,2/25,7	278
2-(трифторметил)бензиламино	53,2/52,9	3,4/3,1	23,9/24,5	294
3-(трифторметил)бензиламино	53,2/52,9	3,4/3,2	23,9/24,6	294
4-(трифторметил)бензиламино	53,2/52,7	3,4/3,1	23,9/24,8	294
Анилино	62,5/62,2	3,3/3,1	33,1/33,8	212
2-фторанилино	57,6/57,0	3,5/3,4	30,6/31,1	230
3-фторанилино	57,6/57,1	3,5/3,3	30,6/31,5	230
4-фторанилино	57,6/57,0	3,5/3,3	30,6/31,5	230
2-хлоранилино	53,8/53,2	3,3/3,2	28,5/29,3	246
3-хлоранилино	53,8/53,1	3,3/3,3	28,5/28,9	246
4-хлоранилино	53,8/53,4	3,3/3,2	28,5/29,3	246
2-броманилино	45,5/45,0	2,8/2,7	24,1/24,7	291
3-броманилино	45,5/25,0	2,8/2,7	24,1/24,9	291
4-броманилино	45,5/44,7	2,8/2,4	24,1/25,1	291
2-йоданилино	39,2/38,5	2,4/2,1	20,8/21,3	338
2-метоксианилино	59,7/59,4	4,6/4,6	29,0/29,4	242
3-метоксианилино	59,7/59,1	4,6/4,5	29,0/29,7	242
4-метоксианилино	59,7/59,2	4,6/4,5	29,0/29,6	242
2-метиланилино	64,0/63,7	4,9/4,7	31,1/31,8	226
3-метиланилино	64,0/63,7	4,9/4,8	31,1/31,9	226
4-метиланилино	64,0/63,5	4,9/4,7	31,1/32,0	226

Пример 2

Смесь из 10 ммоль аденина, 12 ммоль 2-метоксибензальдегида и 5 мл 98-100% муравьиной кислоты нагревали с обратным холодильником в течение 3 дней. После испарения уксусной кислоты получившееся вещество охладили и затем промыли 40 мл диэтилового эфира. Твердый остаток кипятили с 60 мл воды, фильтровали и сырой продукт выкристаллизовывали из этанола. Выход 45%.

Таблица 2 Соединения, приготовленные по способу примера 2				
R6 Заместитель	Анализ CHN рассчитано/найденно			
	%C	%H	%N	ES1-MS [M+H ⁺]
2-хлорбензиламино	55,5/54,7	3,8/4,1	27,0/27,6	260
3-хлорбензиламино	55,5/54,8	3,8/3,9	27,0/27,2	260
2-бромбензиламино	47,4/46,7	3,3/3,5	23,0/23,4	304
2-бромбензиламино	47,4/46,5	3,3/3,4	23,0/23,3	304
2-метилбензиламино	65,2/64,8	5,5/5,9	29,3/29,8	240
3-метилбензиламино	65,2/64,8	5,5/5,7	29,3/30,1	240
2-метоксибензиламино	61,2/60,3	5,1/5,3	27,4/27,9	256
3-метоксибензиламино	61,2/61,00	5,1/5,3	27,4/27,9	256
2,4-дихлорбензиламино	49,0/48,4	3,1/3,0	23,8/24,4	295
3,4-дихлорбензиламино	49,0/48,6	3,1/3,1	23,8/24,4	295
2,3-диметоксибензиламино	58,9/58,8	5,3/5,4	24,5/24,7	286
2,4-диметоксибензиламино	58,9/58,4	5,3/5,8	24,5/25,5	286
3,4-диметоксибензиламино	58,9/58,5	5,3/5,6	24,5/25,2	286
3,5-диметоксибензиламино	58,9/58,7	5,3/5,4	24,5/25,0	286
2,4,6-триметоксибензиламино	57,1/57,2	5,4/5,4	22,2/22,5	316
3,4,5-триметоксибензиламино	57,1/57,4	5,4/5,5	22,2/22,5	316

Пример 3

Цитотоксическая активность новых соединений in vitro

Одним из параметров, используемых в качестве основного при цитотоксических анализах, является метаболическая активность жизнеспособных клеток. Например, анализ микротитра, который использует Calcein AM, в настоящее время широко используется для количественного определения пролиферации и цитотоксичности клетки. Например, этот анализ используется в лекарственных отборочных программах и в испытаниях на чувствительность к химическому воздействию. Поскольку только метаболически активные клетки расщепляют Calcein AM, эти анализы определяют исключительно жизнеспособные клетки. Количество восстановленного Calcein AM соответствует числу жизнеспособных

клеток в данной культуре.

Для рутинного отбора соединений были использованы человеческая Т-лимфобластная лейкозная линия клеток CEM; промиелоцитарная HL-60 и моноцитарная U937 лейкозные клетки; линии клеток рака молочной железы MCF-7, BT549, MDA-MB-231; клетки глиобластомы U87MG; клетки рака шейки матки HELA; раковые клетки U2OS и Saos2; гепатоцеллюлярный рак HepG2; мышинные фибробласты NIH3T3; макрофаги мышинового костного мозга B2.4 и B10A.4; лейкозные клетки P388D1 and L1210; меланомы B16 and B16F10. Клетки содержались в пластиковых колбах с тканевой культурой Nunc/Corning 80 см² и культивировались в среде клеточной культуры (DMEM с 5 г/л глюкозы, 2 мМ глутамина, 100 Е/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 10% эмбриональная телячья сыворотка и бикарбонат натрия).

Клеточные суспензии, которые готовились и разбавлялись в соответствии с конкретным типом клеток и ожидаемой конечной клеточной плотностью (2.500-30.000 клеток на лунку на основании характеристик клеточного роста), добавляли с помощью пипетки (80 мкл) в титрационный микропланшет на 96 лунок. Инокуляты выдерживали преинкубационный период 24 часа при 37°C и 5% CO₂ для стабилизации. В ячейки титрационного микропланшета в нулевое время добавляли четырехкратные разбавления предназначенной испытательной концентрации в аликвотах 20 мкл. Обычно испытываемое соединение оценивали при шести четырехкратных разбавлениях. В рутинных испытаниях самая высокая концентрация в лунке составляла 226,7 мкМ, но она могла и изменяться в зависимости от агента. Все концентрации лекарственных препаратов проверялись с дублированием. Инкубация клеток с испытываемыми соединениями продолжалась 72 часа при 37°C в атмосфере 5% CO₂ и влажности 100%. В конце инкубационного периода клетки оценивались с использованием Calcein AM. Десять микролитров исходного раствора переносили пипеткой в каждую лунку и далее инкубировали в течение одного часа. Флуоресценцию (FD) измеряли с помощью прибора Labsystem FIA Reader Ftorscan Ascent (Англия). Выживаемость опухолевых клеток (GI₅₀) рассчитывали, используя следующее уравнение: $TCS = (FD_{\text{лунки с лекарственными препаратами}} / \text{среднее } FD_{\text{контрольные лунки}}) \times 100\%$ (TCS = tumour cell survival - выживаемость опухолевых клеток). Значение GI₅₀, летальная концентрация лекарственного препарата для 50% опухолевых клеток, рассчитывали из полученных кривых зависимости от дозы (фиг.1).

Цитотоксичность новых соединений была испытана на ряде линий клеток различного гистогенетического и видового происхождения (таблица 3). Здесь мы показываем, что для всех испытанных линий опухолевых клеток была обнаружена одинаковая активность, однако, доброкачественные клетки, например фибробласты NIH3T3 и нормальные человеческие лимфоциты, были стойкими к синтетическим ингибиторам, вызывающим цитотоксичность. Как показано в таблице 3, GI₅₀ для фибробластов NIH3T3 и нормальных человеческих лимфоцитов всегда была выше 250 мкМ. Эффективные новые производные убивают опухолевые клетки при концентрациях, близких к 10-50 мкМ.

Таблица 3
Цитотоксичность новых соединений для различных линий раковых клеток

Соединение	Испытываемая линия клеток/ IC 50 (мкмоль/л)								
	HOS	K-562	MCF-7	B16-F0	NIH3T3	G-361	CEM	HELA	HL60
Кинетин	>166,7	>166,7	>166,7				155,1		
		164,1							
IP	>166,7	146,9	>166,7				92,2		>166,7
		162,2							
ВАР	>166,7	138,9	166,1				>166,7		>166,7
		>166,7							
цис Z	>166,7	>166,7	>166,7				>166,7		>166,7
		>166,7							
ацетил Z	>166,7	>166,7	>166,7				>166,7		>166,7
		>166,7							

RU 2 302 421 C2

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

MT	>166,7	128,4	>166,7	90,6		>166,7	90,1		79,2
		140,2							
OT	>166,7	>166,7	>166,7	150		103,4	69,2		78
		67							
2F BAP	>166,7	136,1	>166,7	27,7		106,4	98		
	>166,7	70,7					99,5		126,5
2Cl BAP	84,9	101	164,1	16,9	>166,7	56,6	58,4		109,6
	100,4	90,4	128,4						
3Cl BAP	>166,7	>166,7	>166,7			148,6	>166,7		>166,7
3F BAP	>166,7	105,2	163,2			>166,7	>166,7		>166,7
4F BAP	>166,7	>166,7	>166,7			>166,7	66,4		59,2
3MeO BAP	>166,7	>166,7	>166,7	41,5	>166,7	124,7	>166,7		>166,7
		76,7	149,5						
4MeO BAP	>166,7	>166,7	>166,7	84,7	>166,7	166,7	>166,7		>166,7
	>166,7	118	>166,7						
2M BAP	>166,7	156,6	>166,7			>166,7	>166,7		>166,7
3I BAP	>166,7	94,7	129,9			>166,7	124,6		133,3
4M BAP	>166,7	72,8	82,8			160,4	72,1		88
4Cl BAP	>166,7	>166,7	>166,7				>166,7		>166,7
2MeO BAP	>166,7	115,8	153				63,4		>166,7
							98,2		
3,5диMeO BAP		>166,7	>166,7				>166,7		>166,7
2,4,6триMeO BAP		>166,7	>166,7	>166,7			63,6		153,4
							105,3		
4OH3MeO BAP		>166,7	>166,7	>166,7			>166,7		>166,7
3NO ₂ BAP		>166,7	>166,7				>166,7		>166,7
4NO ₂ BAP		>166,7	>166,7	>166,7			>166,7		>166,7
2OH3MeO BAP		>166,7	26,6	69			41,6		64,3
							51		67,8
3OH4MeO BAP		>166,7	>166,7	>166,7			>166,7		>166,7
3,4диOH BAP		>166,7	>166,7	>166,7			>166,7		>166,7
2F BAP	>166,7	136,1	108,7	130,6		106,4	135,7		>166,7
		70,7	128,5	>166,7			98,9		
3Me BAP		>166,7	102,5	164,1			>166,7		>166,7
3Cl4F BAP		>166,7	>166,7	>166,7			135		>166,7
		>166,7	>166,7				95,8		>166,7
2,3,4триF BAP		>166,7	>166,7				32		>166,7
		>166,7	>166,7				67		>166,7
2,4диF BAP		>166,7	>166,7				139,7		>166,7
		>166,7	>166,7				145,8		>166,7
Цеатин		>166,7	>166,7				>166,7		>166,7
		>166,7	>166,7				>166,7		>166,7
Аденин		>166,7	>166,7				>166,7		>166,7

		>166,7	>166,7			>166,7	>166,7
--	--	--------	--------	--	--	--------	--------

Пример 4

Новые соединения вызывают апоптоз в опухолевых клетках

5 Для анализа механизма наводимой новыми соединениями цитотоксичности важно отличать апоптоз от другой формы смерти клетки, некроза. Во-первых, на уровне ткани, апоптоз образует мало или вовсе не образует воспаления, поскольку соседние клетки, особенно макрофаги, скорее не выделяют сморщенные части клеток во внеклеточную жидкость, а поглощают их. И наоборот, при некрозе, клеточное содержимое выделяется во
10 внеклеточную жидкость, создавая раздражающий эффект для близлежащих клеток и вызывая воспаления. Во-вторых, на клеточном уровне, апоптозные клетки проявляют усыхание цитоплазмы, сохранение структуры клеточных органелл включает митохондрию, конденсацию и изоляцию хроматина, фрагментацию ядер и образование апоптозных тел, хотя не все они проявляются во всех типах клеток. В-третьих, на молекулярном уровне, ряд биохимических процессов играет важную роль в индуцировании апоптоза. Однако
15 большинство из них еще не до конца понятны, и они выражаются в активации протеазы и нуклеазы, которые окончательно разрушают ключевые биологические макромолекулы - протеины и ДНК.

20 Для определения апоптозного и некротического видов клеточной смерти использовали два независимых метода: морфологическая оценка с помощью электронного микроскопа и анализ фрагментов ДНК с помощью проточной цитометрии.

Линия клеток HL-60 культивировалась в 6-луночных пластинках с культурой с или без новыми производными при концентрации 70 мкМ при температуре 37°C и 5% CO₂ в течение 3-24 часов. После инкубации клетки дражжировали, промывали в буферном
25 солевом растворе Ханка и обрабатывали, как описано ниже.

Клетки суспендировали в 2% глютаральдегид/ PBS, фиксировали в течение ночи при 4°C, дражжировали и вводили в 1% агар (Agar Noble, Difco). Агаровые блоки, содержащие фиксированные клетки, эпоксидно полимеризовались, секционировались ультратрином, постфиксировались тетраоксидом осмия, контрастировались уранилацетатом
30 и проверялись под электронным микроскопом.

Начальная фаза микроскопной проверки контраста показала, что обработанная линия HL-60 проявляет типичные морфологические признаки апоптозных клеток, и это позже было подтверждено с помощью электронной микроскопии (фиг.2 и 3). Типичные морфологические критерии апоптоза были определены в клетках, обработанных всеми
35 испытываемыми новыми производными: конденсация хроматина, фрагментация ядер, цитоплазменная пузырчатость и образование апоптозных тел.

Пример 5

Иммуноподавительная активность

Одним из наиболее важных параметров видового клеточного иммунитета является
40 пролиферативная реакция лимфоцитов на антигены или поликлональные митогены. Большинство нормальных периферийных лимфоцитов млекопитающих включают покоящиеся клетки. Антигены или невидовые поликлональные митогены обладают способностью к активации лимфоидных клеток, и это сопровождается резкими изменениями внутриклеточного метаболизма (митохондриальная активность, протеиновый
45 синтез, синтез нуклеиновых кислот, образование бластических клеток и клеточная пролиферация). Соединения со способностью к селективному ингибированию лимфоцитарной пролиферации являются потенциальными иммунодепрессантами. Для измерения пролиферативной реакции лимфоцитов было проведено множество анализов in vitro. Наиболее используемым является метод введения ³H-тимидина.

50 Во время клеточной пролиферации ДНК должна воспроизводиться перед тем, как клетка делится на две дочерние клетки. Такая близкая ассоциация между дублированием клеток и синтезом ДНК очень привлекательна для оценки клеточной пролиферации. Если меченые предшественники ДНК добавляются к клеточной культуре, то клетки, готовые к делению,

включают меченые нуклеотиды в свои ДНК. Традиционно, их анализ обычно включает применение радиомеченых нуклеотидов, в частности тритированного тимидина ($[^3\text{H}]\text{-TdR}$). Количество $[^3\text{H}]\text{-TdR}$, введенного в клеточный ДНК, определяется количественно с помощью жидкостного сцинтилляционного счетчика.

Человеческая гепаранизированная периферийная кровь была получена от здоровых добровольцев пункцией локтевой вены. Кровь была разбавлена в PBS (1:3) и моноядерные клетки были выделены с помощью центрифугирования в приборе Ficoll-Huраque по градиенту плотности (Pharmacia, 1.077 г/мл) при 2200 об/мин в течение 30 минут. После центрифугирования лимфоциты промывались в PBS и повторно суспендировались в среде

клеточной культуры (RPMI 1640, 2 мМ глутамин, 100 Е/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 10% эмбриональная телячья сыворотка и бикарбонат натрия). Эти клетки разбавлялись до заданной плотности 1.100.000 клеток/мл и добавлялись с помощью пипетки (180 мкл) в титрационный микропланшет на 96 лунок. В ячейки титрационного микропланшета в нулевое время добавляли четырехкратные разбавления предназначенной испытательной концентрации в аликвотах 20 мкл. Обычно испытываемое соединение оценивали при шести четырехкратных разбавлениях. В рутинных испытаниях самая высокая концентрация в лунке составляла 226,7 мкМ. Все концентрации лекарственных препаратов проверялись с дублированием. Все лунки за исключением не стимулированных контрольных активировали с помощью 50 мкл конканавалина А (25 мкг/мл). Инкубация клеток с испытываемыми соединениями продолжалась 72 часа при 37°C в атмосфере 5% CO_2 и влажности 100%. В конце инкубационного периода клетки оценивались с использованием $[^3\text{H}]\text{-TdR}$.

Клеточные культуры инкубировали с 0,5 мКи (20 мкл исходного раствора 500 мКи/мл) на лунку в течение 6 часов при 37°C и 5% CO_2 . Автоматический харвестер клеток использовался для растворения клеток в воде и сорбции ДНК на стекловолоконных фильтрах в формате титрационного микропланшета. $[^3\text{H}]\text{-TdR}$ с внедренным ДНК задерживался на фильтре, тогда как вещество без внедрения проходило через него. Фильтры высушивались при комнатной температуре в течение ночи, запаковывались в мешок для проб с 10-12 мл сцинтиллятора. Количество $[^3\text{H}]\text{-TdR}$, присутствующего на каждом фильтре (в счет/мин), определяли сцинтилляционным счетом в жидкостном сцинтилляционном счетчике. Эффективная доза иммунодепрессанта (ED) рассчитывалась с использованием следующего уравнения: $\text{ED} = (\text{CCPM}_{\text{лунки с лекарственными препаратами}} / \text{mean CCPM}_{\text{контрольные лунки}}) \times 100\%$. Значение ED_{50} , концентрация лекарственного препарата, ингибирующая пролиферацию 50% лимфоцитов, рассчитывали по полученным кривым зависимости от дозы.

Для оценки иммуноподавительной активности замещенных аденинов анализировалась их способность к ингибированию пролиферации нормальных человеческих лимфоцитов, индуцируемой полигональными митогенами (таблица 4). Наши данные демонстрируют, что эти соединения обладают только маргинальной активностью по внедрению ^3H -тимидина, однако, они эффективно ингибируют пролиферацию активированных лимфоцитов. Эффективная иммуноподавительная доза новых производных в условиях *in vitro* была близка к 1-20 мкМ.

Таблица 4 Иммуноподавительная активность новых производных	
ЗАМЕСТИТЕЛЬ R6	Человеческие лимфоциты ED_{50} (мкМ)
3-хлоранилино	4.7
3-хлор-5-аминоанилино	12.4
2-гидроксibenзиламино	0.5
3-карбокси-4-хлоранилино	2.1
3-гидроксibenзиламино	5.6
4-броманилино	4.7
4-хлоранилино	6.2
3-амино-4-хлоранилино	8.3
3-хлор-4-аминоанилино	12

5

2-гидроксибензиламино	11.5
3-гидроксибензиламино	8.4
3-фторбензиламино	18.2
3-карбокси-4-хлоранилино	0.5
2-гидрокси-4-метоксибензиламино	1.8
3-хлоранилино	7.2
2-фторбензиламино	2.5
2,3-дифторбензиламино	10.7

Пример 6

Ингибирование старения новыми соединениями

10

В данном примере человеческие диплоидные фибробласты (клетки НСА с различными уровнями пассажа: пассаж 25 - обозначено НСА25; пассаж 45 - обозначено НСА45; пассаж 80 - обозначено НСА80) окрашивались для β -галактосидазной активности. Среда, используемая для культивирования клеток, удалялась, клетки дважды промывались в PNS и фиксировались в 2-3 мл фиксирующего раствора, включающего в себя 2% формальдегида и 0,2% глутаральдегида в PBS. Клетки инкубировали при комнатной температуре в течение 5 минут, затем дважды промывали в PBS. Затем клетки инкубировали при 37°C (без CO₂) в течение от 1 до 16 часов в 2-3 мл раствора, включающего в себя феррицианид калия (5 мМ), ферроцианид калия (5 мМ), MgCl₂ (2 мМ), X-gal (5-бром-4-хлор-3-индолил- β -D-галактопиранозид) (1 мг/мл), в лимонно/фосфатном буферном растворе (pH 6.0). После такого инкубационного периода пробы клеток рассматривали на предмет обнаружения присутствия синих клеток, указывающих на расщепление X-gal (положительно стареющие клетки). В этом эксперименте стареющие клетки, но не другие клетки, окрашивались синим красителем по воздействию β -галактосидазы на субстрате (фиг.4).

25

Таблица 5
Действие новых соединений на количество стареющих клеток в культуре человеческих фибробластов

30

35

40

45

50

ЗАМЕСТИТЕЛЬ	СТАРЕЮЩИЕ КЛЕТКИ (%)		
	НСА25	НСА45	НСА80
КОНТРОЛЬНЫЙ	3	5	38
3-хлоранилино	4	5	25
3,4-дигидроксибензиламино	5	4	29
анилино	3	4	27
3-хлор-5-аминоанилино	3	6	24
3-хлор-4-карбоксианилино	5	2	25
3-карбокси-4-хлоранилино	5	5	20
3-карбокси-4-гидроксианилино	4	2	26
4-броманилино	5	3	25
4-хлоранилино	5	5	26
3-амино-4-хлоранилино	4	6	22
3-хлор-4-аминоанилино	5	5	24
2-фторбензиламино	4	3	16
3-фторбензиламино	3	3	15
2-гидроксибензиламино	3	4	17
3-гидроксибензиламино	5	3	22
2-ацетоксибензиламино	6	5	32
3-ацетоксибензиламино	4	6	27
2-ацетилбензиламино	3	4	25
3-ацетилбензиламино	5	5	28
2-гидрокси-3-метоксибензиламино	4	3	20
2-гидрокси-3-метилбензиламино	5	2	18
2-гидрокси-3-хлорбензиламино	4	3	14
2,6-дигидрокси-4-хлорбензиламино	3	3	16
2,3-дигидрокси-4-метоксибензиламино	3	4	17
2,5-дигидрокси-4-метоксибензиламино	5	3	22
2,6-дигидрокси-4-метоксибензиламино	4	3	13
2,3-дигидрокси-4-хлорбензиламино	3	3	14
2,5-дигидрокси-4-хлорбензиламино	5	4	23
2-амино-6-хлорбензиламин	3	4	16

3-амино-4-хлорбензиламин	5	5	22
2,3-диамино-4-хлорбензиламин	4	3	17

Как показано в таблице 5, с увеличением количества пассажей окрашивание становится темнее. Для более старых клеток были только синие клетки в интервале от светло-синего до почти темного цвета. Производные N⁶-замещенного аденина были очень эффективными в удерживании гораздо более низкого уровня стареющих клеток после 80 пассажей. В случае долго поддерживаемого культивирования обработанные клетки были способны выживать более длительный период на 30% больше, чем контрольные клетки.

Пример 7

Ингибирование старения новыми соединениями, испытанными на сегментах листьев озимой пшеницы

Семена озимой пшеницы, *Triticum aestivum* cv. Hereward, промывали в проточной воде в течение 24 часов, а затем высевали на вермикулит, смоченный раствором Кнопа. Они были помещены в камеру выращивания при 25°C со световым периодом 16/8 при 50 мкмоль м⁻² с⁻¹. Через 7 дней был полностью развитый первый лист и начинал расти второй лист. Верхняя часть первого листа, длиной приблизительно 35 мм, была удалена у пяти ростков и слегка подрезана до общего веса 100 мг. Нижние концы кончиков пяти листьев были помещены в лунки полистирольного титрационного микропланшета, содержащего 150 мкл цитокинина в каждой. Весь микропланшет был помещен в пластиковую коробку, выложенную бумажной тканью, смоченной дистиллированной водой для предотвращения разрывов листьев от высыхания. После 96-часовой инкубации в темноте при 25°C листья были удалены, и хлорофилл экстрагировали путем нагревания при 80°C в течение 10 минут в 5 мл 80% этанола. Объем пробы затем был восстановлен до 5 мл путем добавления 80% этанола. Поглощательная способность экстракта отмечалась при 665 нм. Кроме того, замерялись экстракты хлорофилла из свежих листьев и кончиков листьев, инкубированных в деионизированной воде. Из полученных данных для каждого проверенного соединения была выбрана концентрация с наивысшей активностью. Была рассчитана относительная активность соединения для этой концентрации (таблица 6). Активность, полученная для 10⁻⁴ М 6-бензиламинопурина (BAP) была принята за 100%. Показанные значения являются средними из пяти реплик, и весь эксперимент был повторен дважды. Испытываемые цитокинины растворяли в диметилсульфоксиде (DMSO) и раствор доводили до 10⁻³ М дистиллированной водой. Этот исходный раствор затем разбавляли в дистиллированной воде до концентраций в интервале от 10⁻⁸ М до 10⁻⁴ М. Конечная концентрация DMSO не превышала 0.2% и поэтому не проявляла биологической активности в применяемой системе анализа.

Таблица 6
Влияние новых производных цитокинина на удержание хлорофилла в срезанных кончиках листьев пшеницы. Стандартные отклонения являются средними для определения 10 реплик

	Испытываемое соединение	Концентрация при наивысшей активности (моль.л ⁻¹)	Активность (%) [10 ⁻⁴ моль.л ⁻¹ BAP= 100%]
1.	6-(2-фторбензиламино)пурин	10 ⁻⁴	169(±20)
2.	6-(3-фторбензиламино)пурин	10 ⁻⁴	200(±25)
3.	6-(4-фторбензиламино)пурин	10 ⁻⁴	95,5(±3,5)
4.	6-(2-хлорбензиламино)пурин	10 ⁻⁴	116,5(±6,5)
5.	6-(3-хлорбензиламино)пурин	10 ⁻⁴	82(±2)
6.	6-(2-бромбензиламино)пурин	10 ⁻⁴	52(±14)
7.	6-(3-бромбензиламино)пурин	10 ⁻⁴	48(±6)
8.	6-(4-бромбензиламино)пурин	10 ⁻⁵	30(±15)
9.	6-(3-йодбензиламино)пурин	10 ⁻⁴	83,5(±23)
10.	6-(2-метилбензиламино)пурин	10 ⁻⁴	158(±29)
11.	6-(3-метилбензиламино)пурин	10 ⁻⁴	111(±16)
12.	6-(2-метоксибензиламино)пурин	10 ⁻⁴	269(±12)
13.	6-(3-метоксибензиламино)пурин	10 ⁻⁴	178(±16)
14.	6-(3-нитробензиламино)пурин	10 ⁻⁴	60(±15)

5	15.	6-(4-нитробензиламино)пурин	10^{-4}	83(±8)
	16.	6-(2,4-дихлорбензиламино)пурин	10^{-5}	0
	17.	6-(3,4-дихлорбензиламино)пурин	10^{-4}	117(±22)
	18.	6-(2,3-диметоксибензиламино)пурин	10^{-4}	109(±5)
	19.	6-(2,4-диметоксибензиламино)пурин	10^{-7}	26(±11)
	20.	6-(3,4-диметоксибензиламино)пурин	10^{-4}	43(±17)
	21.	6-(3,5-диметоксибензиламино)пурин	10^{-4}	16(±1)
	22.	2-амино-6-(3-гидроксибензиламино)пурин	10^{-4}	121(±7)
	23.	2-хлор-6-(3-гидроксибензиламино)пурин	10^{-4}	140(±13)
10	24.	2-метилтио-6-(3-гидроксибензиламино)пурин	10^{-4}	50,5(±23,5)
	25.	6-(2,4,6-триметоксибензиламино)пурин	10^{-4}	6(±4)
	26.	6-(3,4,5-триметоксибензиламино)пурин	10^{-4}	25(±2)
	27.	6-(2,4-дифторбензиламино)пурин	10^{-5}	139(±2)
	28.	6-(3,5-дифторбензиламино)пурин	10^{-5}	156(±4)
	29.	6-(2,3,4-трифторбензиламино)пурин	10^{-5}	131(±22)
15	30.	6-(3-хлор-4-фторбензиламино)пурин	10^{-5}	141(±20)
	31.	6-(2-гидрокси-3-метоксибензиламино)пурин	10^{-5}	34(±5)

Пример 8

Стимулирующий эффект новых соединений на деление растительных клеток

20 Цитокининзависимый табачный каллус *Nicotiana tabacum* L. cv. Wisconsin 38 выдерживали при 25°C в темноте на модифицированной среде Murashige-Skoog, содержащей на 1 литр: 4 мкмоль никотиновой кислоты, 2.4 мкмоль пиридоксингидрохлорида, 1.2 мкмоль тиамина, 26.6 мкмоль глицина, 1.37 мкмоль глутамина, 1.8 мкмоль миоинозитола, 30 г сахарозы, 8 г агара, 5.37

25 мкмоль α -нафталиновой кислоты (NAA) и 0.5 мкмоль бензиламинопурина (BAP). Субкультивирование выполнялось каждые три недели. За четырнадцать дней до биопробы ткань каллуса переносили в среду без 6-бензиламинопурина (BAP). Биологическую активность определяли по увеличению веса свежего каллуса после четырех недель культивирования. Для каждой концентрации цитокинина готовилось по пять реплик и все

30 испытание повторялось дважды. Из полученных данных для каждого проверяемого соединения была выбрана концентрация с наивысшей активностью. Была рассчитана относительная активность соединения для этой концентрации (таблица 6). Активность, полученная для 10^{-4} М 6-бензиламинопурина (BAP), была принята за 100%. Испытываемые

35 цитокинины растворяли в диметилсульфоксиде (DMSO) и раствор доводили до 10^{-3} М дистиллированной водой. Этот исходный раствор затем разбавляли в соответствующей среде, используемой для биоиспытаний, до концентраций в интервале от 10^{-8} М до 10^{-4} М. Конечная концентрация DMSO не превышала 0.2% и поэтому не проявляла биологической активности в применяемой системе анализа.

40

Таблица 7 Влияние новых производных цитокинина на рост цитокининзависимого табачного каллуса <i>Nicotiana tabacum</i> L. cv. Wisconsin 38			
	Испытываемое соединение	Концентрация при наивысшей активности (моль.л ⁻¹)	Активность (%) [10^{-5} моль.л ⁻¹ BAP=100%]
	1. 6-(2-фторбензиламино)пурин	10^{-6}	111(±21)
	2. 6-(3-фторбензиламино)пурин	10^{-5}	135(±8)
	3. 6-(4-фторбензиламино)пурин	10^{-6}	122(±12)
45	4. 6-(2-хлорбензиламино)пурин	10^{-6}	93(±4)
	5. 6-(3-хлорбензиламино)пурин	10^{-5}	94(±6)
	6. 6-(2-бромбензиламино)пурин	10^{-5}	102(±5)
	7. 6-(3-бромбензиламино)пурин	10^{-6}	85(±11)
	8. 6-(4-бромбензиламино)пурин	10^{-6}	15(±9)
	9. 6-(3-йодбензиламино)пурин	10^{-5}	76(±8)
50	10. 6-(2-метилбензиламино)пурин	10^{-6}	118(±3)
	11. 6-(3-метилбензиламино)пурин	10^{-6}	79(±5)
	12. 6-(2-метоксибензиламино)пурин	10^{-5}	79(±5)
	13. 6-(3-метоксибензиламино)пурин	10^{-6}	76(±20)

14.	6-(2,4-дихлорбензиламино)пурин	10^{-4}	11(±3)
15.	6-(3,4-дихлорбензиламино)пурин	10^{-4}	45(±7)
16.	6-(2,3-диметоксибензиламино)пурин	10^{-5}	8,5(±2)
17.	6-(2,4-диметоксибензиламино)пурин	10^{-5}	21(±5)
18.	6-(2,4,6-триметоксибензиламино)пурин	10^{-4}	13(±6)
19.	6-(3,4,5-триметоксибензиламино)пурин	10^{-5}	19(±3)
20.	6-(2,4-дифторбензиламино)пурин	10^{-5}	95(±1)
21.	6-(3,5-дифторбензиламино)пурин	10^{-5}	97(±3)
22.	6-(2,3,4-трифторбензиламино)пурин	10^{-5}	76(±4)
23.	6-(3-хлор-4-фторбензиламино)пурин	10^{-5}	90(±1)

Пример 9

Испытания новых соединений в биоанализе амаранта

Стандартный биоанализ *Amaranthus* выполняли с некоторыми модификациями. Семена *Amaranthus caudatus* var. *atropurpurea* поверхностно стерилизовали в 10% N-

хлорбензолсульфонамиде (вес/об.) в течение 10 минут и промывали пять раз в деионизированной воде. Их помещали в чашки Петри 14 см, содержащие бумажную ткань, насыщенную деионизированной водой. После 72 часов культивирования в темноте при 25°C отрезали корни семян. Культивированные ткани, содержащие по две семядоли и гипокотили, помещали в чашки Петри 5 см на два слоя фильтровальной бумаги, смоченной в 1 мл инкубационной среды, содержащей 10 мкмоль Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , pH 6.8, 5

мкмоль тирозина и испытываемые цитокины. На одну чашку приходилось пять эксплантов. Процедура выполнялась под зеленым безопасным светом в темной комнате. После 48 часов инкубации при 25°C в темноте бета-цианин экстрагировали путем заморозки

эксплантов в 4 мл 3,33 мкмоль уксусной кислоты. Концентрацию бета-цианина определяли путем сравнения поглотительной способности при 537 нм и 620 нм следующим

образом: $\Delta A = A_{537\text{нм}} - A_{620\text{нм}}$. Из полученных данных для каждого проверенного соединения была выбрана концентрация с наивысшей активностью. Была рассчитана относительная активность соединения для этой концентрации (таблица 6). Активность, полученная для 10^{-4} М 6-бензиламинопурина (BAP) была принята за 100%. Показанные в таблице 8 значения являются средними из пяти реплик, и весь эксперимент был повторен дважды.

Испытываемые цитокинины растворяли в диметилсульфоксиде (DMSO) и раствор доводили до 10^{-3} М дистиллированной водой. Этот исходный раствор затем разбавляли в соответствующей среде, используемой для биоиспытаний, до концентраций в интервале от 10^{-8} М до 10^{-4} М. Конечная концентрация DMSO не превышала 0.2% и поэтому не проявляла биологической активности в применяемой системе анализа.

Таблица 8

Влияние новых производных цитокина на содержание бета-цианина в эксплантах семядоли/гипокотили *Amaranthus caudatus*

	Испытываемое соединение	Концентрация при наивысшей активности (моль.л ⁻¹)	Активность(%) [10^{-5} моль.л ⁻¹ BAP=100%]
1.	6-(2-фторбензиламино)пурин	10^{-4}	116(±3)
2.	6-(3-фторбензиламино)пурин	10^{-4}	140(±5)
3.	6-(4-фторбензиламино)пурин	10^{-5}	44(±4)
4.	6-(2-хлорбензиламино)пурин	10^{-5}	109(±8)
5.	6-(3-хлорбензиламино)пурин	10^{-5}	96(±5)
6.	6-(2-бромбензиламино)пурин	10^{-4}	94(±6)
7.	6-(3-бромбензиламино)пурин	10^{-4}	71(±5)
8.	6-(4-бромбензиламино)пурин	10^{-5}	17(±7)
9.	6-(3-йодбензиламино)пурин	10^{-5}	79(±3)
10.	6-(2-метилбензиламино)пурин	10^{-5}	98(±22)
11.	6-(3-метилбензиламино)пурин	10^{-5}	84(±14)
12.	6-(2-метоксибензиламино)пурин	10^{-5}	77(±5)
13.	6-(3-метоксибензиламино)пурин	10^{-4}	90(±16)
14.	6-(3-нитробензиламино)пурин	10^{-4}	66(±7)
15.	6-(4-нитробензиламино)пурин	10^{-4}	25(±2)
16.	6-(2,4-дихлорбензиламино)пурин	10^{-4}	19(±8)

17.	6-(3,4-дихлорбензиламино)пурин	10^{-4}	63(±10)
18.	6-(2,3-диметоксибензиламино)пурин	10^{-4}	22(±3)
19.	6-(2,4-диметоксибензиламино)пурин	10^{-5}	12(±2)
20.	6-(3,4-диметоксибензиламино)пурин	10^{-4}	27(±6)
21.	6-(3,5-диметоксибензиламино)пурин	10^{-4}	1,5(±1)
22.	6-(2,4,6-триметоксибензиламино)пурин	10^{-4}	3(±3)
23.	6-(3,4,5-триметоксибензиламино)пурин	10^{-4}	2(±2)
24.	6-(2,4-дифторбензиламино)пурин	10^{-4}	88(±7)
25.	6-(3,5-дифторбензиламино)пурин	10^{-4}	108(±2)
26.	6-(2,3,4-трифторбензиламино)пурин	10^{-4}	94(±3)
27.	6-(3-хлор-4-фторбензиламино)пурин	10^{-4}	91(±7)
28.	6-(2-гидрокси-3-метоксибензиламино)пурин	10^{-4}	19(±3)
29.	6-(3-гидрокси-4-метоксибензиламино)пурин	10^{-4}	24(±1)
30.	6-(4-гидрокси-3-метоксибензиламино)пурин	10^{-4}	10(±2)

Пример 10

Влияние новых производных на *in vitro* и *post vitro* мультипликацию и корнеобразование розы (*Rosa multiflora*)

Целью настоящего эксперимента была проверка, имеют ли новые соединения практическое применение в разведении тканевых культур. Изучали скорость мультипликации и проверяли *post vitro* эффекты. *Rosa hybrida* (культурный сорт розы в горшках) культивировалась в емкости 350 мл с нарезкой на поликарбонатной крышке. Каждая емкость с культурой содержала 100 мл автоклавированной среды (120°C, 20 мин). Культуры содержались при 23±2°C при фотопериоде 16 часов на 40 мкМ м⁻² с⁻¹ PAR. Питательная основная среда (BMR) содержала макроэлементы, микроэлементы и витамины Murashige and Skoog (1962), 95 мкМ NaFeEDTA, 555 мкМ миоиноситола, 111 мМ сахарозы, 1.332 мМ глицина, 684 мкМ L-глутамина и 7 г/л агара. В эту среду добавили 10 мкМ BA, mT, oMeOBAP или mMeOBAP (соединение №14 и 15, соответственно). Контрольная среда не содержала цитокинин. После периода культивирования 8 недель определяли количество образовавшихся ростков на эксплант, а также количество корней на эксплант и общую длину корня на эксплант. Корни удаляли и экспланты (группы ростков) пересаживали в неудобренный торф. После четырехнедельной акклиматизации определяли количество корней и длину корней.

Как ожидалось, в среде без цитокинина почти не образовывалось новых ростков. Исходный отростковый эксплант вырастал в виде единичного ростка хорошего качества с хорошим корнеобразованием. BAP давал высокую скорость мультипликации ростков, но ростки плохо образовывали корни. Испытанные новые производные BAP индуцировали образование новых ростков и корневое развитие значительно лучше в сравнении с самим BAP (таблица 9).

Таблица 9 Влияние цитокининов на <i>in vitro</i> и <i>post vitro</i> мультипликацию ростков и корнеобразование у <i>Rosa multiflora</i>						
Цитокинин	In vitro				Ex vitro	
	Количество новых ростков на эксплант	Количество цветков на эксплант	Количество корней на эксплант	Общая длина корней на эксплант (см)	Количество корней на растение	Общая длина корней на растение (см)
0	0.2	0.03	0.8	1.2	4.6	17.1
BA*	3.8	0.00	0.0	0.0	0.6	1.1
MONBAP	2.1	0.16	0.0	0.0	1.4	3.8
OmeOBAP	1.0	0.29	0.0	0.0	2.5	8.5
MmeOBAP	4.3	0.03	0.0	0.0	1.7	4.1

*BA=бензиламино

Пример 11

Ингибирование раннего старения корней культивируемых тканевых роз (*Rosa hybrida*)

Культивируемые тканевые розы страдают от симптомов старения. Листья начинают коричневеть и через несколько недель все растения в сосуде умирают. Симптомы начинаются раньше, если в сосуде затруднена аэрация, например, с помощью пластиковой

фольги. Это предполагает, что здесь замешаны этилен или другие газообразные компоненты. Цитокинины, которые применяются в такой среде, индуцируют этилен, поэтому представляется заслуживающим испытать новые соединения цитокинина в этой системе.

- 5 *Rosa hybrida* 'Pailin' (срезанная роза) культивировалась в сосуде 350 мл с закрученной поликарбонатной крышкой. Каждый сосуд с культурой содержал 100 мл автоклавированной среды (120°C, 20 мин).

Культуры содержались при 23±2°C при фотопериоде 16 часов на 40 мкМ м⁻² с⁻¹ PAR.

- 10 Питательная основная среда (BMR) содержала макроэлементы, микроэлементы и витамины Murashige and Skoog (1962), 36.7 мг/л NaFeEDTA, 50 мг/л NaFeEDDHA, 100 мг/л миоиноситола, 30 г/л сахарозы, 100 мг/л глицина, 50 мг/л пантотената кальция, 100 мг/л L-глутамина и 7 г/л агар-агара. В эту среду добавили 10 мкМ BA, мТ, оМеОВАР. Последние 2 цитокинина были стерилизованы на фильтре и добавлены в сосуды после автоклавной обработки среды. Контрольная среда не содержала цитокинин. После периода 15 культивирования 6 недель начинали отсчет симптомов старения. Для каждого растения отмечали день, когда появлялся первый коричневый лист (фиг.8), а также день полного умирания всего растения (фиг.9, 10).

- В среде с BA (бензиламино) относительное количество мертвых растений выглядит как 20 сигмоидальная кривая, предполагая автокаталитический эффект старения, вызываемый, возможно, этиленом. Представляло бы интерес замерить концентрацию этилена в свободном пространстве над средой. На мТ и мМеОВАР ситуация улучшалась. мМеОВАР был явно лучшим соединением. Даже через 121 день почти все растения были еще живые. Хотя некоторого количества коричневых листьев нельзя было избежать на среде с 25 мМеОВАР, эти растения можно было легко использовать для следующей субкультуры. Использование мМеОВАР является значительным усовершенствованием в микроразмножении роз (*Rosa hybrida*).

Пример 12

Сухие капсулы

- 30 5000 капсул, каждая из которых содержала 0.25 г одного из соединений формулы I, II и III, названных в предыдущих или последующих примерах в качестве активного ингредиента, приготовлены следующим образом:

Состав

35	Активный ингредиент	1250 г
	Тальк	180 г
	Пшеничный крахмал	120 г
	Стеарат магния	80 г
	Лактоза	20 г

- 40 Методика приготовления: названные порошкообразные вещества прессовались через сито с шириной ячейки 0.6 мм. Доли 0.33 г переносились в желатиновые капсулы с помощью машины для заполнения капсул.

Пример 13

Мягкие капсулы

- 45 5000 мягких желатиновых капсул, каждая из которых содержала 0.05 г одного из соединений формулы I, II и III, названных в предыдущих или последующих примерах в качестве активного ингредиента, приготовлены следующим образом:

Состав

Активный ингредиент	250 г
Лаурогликоль	2 литра

- 50 Методика приготовления: порошкообразный активный ингредиент суспендировали в Лаурогликоле® (лаурат пропиленгликоля, Gattefossé S.A., Saint Priest, Франция) и измельчали во влажном распылителе до размера частиц примерно от 1 до 3 мкм. Затем доли 0.419 г смеси для каждого случая переносили в мягкие желатиновые капсулы с помощью машины для заполнения капсул.

Пример 14

Мягкие капсулы

5000 мягких желатиновых капсул, каждая из которых содержала 0.05 г одного из соединений формулы I, II и III, названных в предыдущих или последующих примерах в качестве активного ингредиента, приготовлены следующим образом:

Состав

Активный ингредиент	250 г
PEG 400	1 литр
Tween 80	1 литр

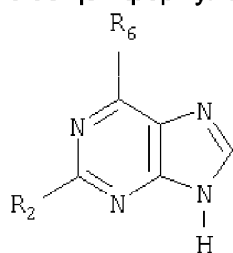
Методика приготовления: порошкообразный активный ингредиент суспендировали в PEG 400 (полиэтиленгликоль молекулярной массы между 380 и примерно 420, Sigma, Fluka, Aldrich, США) и Tween® 80 (монолаурат полиоксиэтиленсорбита, Atlas Chem. Inc., США, поставляемый Sigma, Fluka, Aldrich, США) и измельчали во влажном распылителе до размера частиц примерно от 1 до 3 мкм. Затем доли 0.43 г смеси для каждого случая переносили в мягкие желатиновые капсулы с помощью машины для заполнения капсул.

Промышленная применимость

Новые гетероциклические соединения на основе N⁶-замещенного аденина в соответствии с настоящим изобретением полезны при диагностических и терапевтических методах, особенно в фармацевтической промышленности, в косметике, в биотехнологии и в сельском хозяйстве.

Формула изобретения

1. Применение гетероциклических соединений, основанных на N⁶-замещенном аденине с общей формулой I



I

и их фармацевтически приемлемых солей, где R₂ является водородом, галогеном, аминогруппой, неразветвленной C₁-C₆ алкилмеркаптогруппой,

R₆ является R₆'-X,

где, в свою очередь, X является -NH-,

а R₆' является замещенным фенилом или замещенным бензилом, где родовые группы замещения имеют значения, идентичные определениям соответствующих групп, которые приведены ниже в настоящем документе:

"замещенный фенил" относится к фенильной группе, которая замещается от одной до пяти функциональными группами, выбираемыми из группы, содержащей галоген, алкил, гидрокси, amino, алкокси, карбоксил, нитро, как определено ниже в настоящем документе;

"замещенный бензил" относится к фенилметильной группе, где фенильная группа замещается от одной до пяти функциональными группами, выбираемыми из группы, содержащей галоген, алкил, гидрокси, amino, алкокси, карбоксил, нитро, как определено ниже в настоящем документе;

тогда как родовые группы замещения имеют значения, идентичные с определениями соответствующих групп, которые приведены в настоящем документе:

"галоген" относится к атомам фтора, брома, хлора и йода;

"гидрокси" относится к группе -OH;

"алкил" относится к разветвленной или неразветвленной цепи C₁-C₆, которая является насыщенной или ненасыщенной и выбирается из групп, таких, как метил, пропил, изопропил, третбутил и подобным примерам этого термина;

"алкокси" обозначает группу -OR, где R является алкилом, определение которому было

5 дано выше в данном пункте;

"алкилмеркапто" обозначает группу -SR, где R - алкоксигруппа, определение которой дано выше в данном пункте;

"карбоксил" обозначает группу -C(O)OH;

а также рацематы, оптические изомеры и соли кислот на их основе,

10 при условии, что R⁶ не является дигидроксибензилом или дигидроксифенилом, а также при условии, что R⁶ не является следующим соединением: 4-метилбензил, 4-хлорбензил, 4-трифторметилбензил, 4-метилсульфонилбензил, 4-метилфенил, 2-фторфенил, 4-цианофенил,

при производстве медикаментов, косметических средств и регуляторов роста.

15 2. Применение гетероциклических соединений, основанных на N⁶-замещенном аденине с общей формулой I в соответствии с п.1, где эти соединения выбираются из 6-(2-гидрокси-3-хлороксибензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-4-хлорбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-5-хлорбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-6-хлорбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-3-йодбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-4-йодбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-5-йодбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-6-йодбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-3-бромбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-4-бромбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-5-бромбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-6-бромбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-3-фторбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-4-фторбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-5-фторбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-6-фторбензиламино)пурин, 6-(2,3-дигидрокси-3-метоксибензиламино)пурин, 6-(2,5-дигидрокси-3-метоксибензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-4-метоксибензиламино)пурин, 6-(2,3-дигидрокси-4-хлорбензиламино)пурин, 6-(2,5-дигидрокси-4-хлорбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-4-хлорбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-4-бромбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-4-йодбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3-хлорбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3-бромбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3-йодбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3-фторбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3,5-дихлорбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3,5-дибромбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3,5-дийодбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3,5-дифторбензиламино)пурин, 6-(2-фторбензиламино)пурин, 6-(3-фторбензиламино)пурин, 6-(4-фторбензиламино)пурин, 6-(2-бромбензиламино)пурин, 6-(3-бромбензиламино)пурин, 6-(4-бромбензиламино)пурин, 6-(2-йодбензиламино)пурин, 6-(3-йодбензиламино)пурин, 6-(4-йодбензиламино)пурин, 6-(2-хлорбензиламино)пурин, 6-(3-хлорбензиламино)пурин, 6-(4-хлорбензиламино)пурин, 6-(2-ацетилбензиламино)пурин, 6-(3-ацетилбензиламино)пурин, 6-(4-ацетилбензиламино)пурин, 6-(3-карбоксибензиламино)пурин, 6-(4-карбоксибензиламино)пурин, 6-(2-ацетоксибензиламино)пурин, 6-(3-ацетоксибензиламино)пурин, 6-(4-ацетоксибензиламино)пурин, 6-(2-нитробензиламино)пурин, 6-(3-нитробензиламино)пурин, 6-(4-нитробензиламино)пурин, 6-(2-сульфобензиламино)пурин, 6-(3-сульфобензиламино)пурин, 6-(4-сульфобензиламино)пурин, 6-(2-цианобензиламино)пурин, 6-(3-кианообензиламино)пурин, 6-(4-цианобензиламино)пурин, 6-(5-нитро-2-метилбензиламино)пурин, 6-(2-метилбензиламино)пурин, 6-(3-метилбензиламино)пурин, 6-(4-метилбензиламино)пурин, 6-(4-метиламинобензиламино)пурин, 6-(2-метоксибензиламино)пурин, 6-(3-метоксибензиламино)пурин, 6-(4-метоксибензиламино)пурин, 6-(2-гидроксибензиламино)пурин, 6-(3-гидроксибензиламино)пурин, 6-(4-гидроксибензиламино)пурин, 6-(4-гексилбензиламино)пурин, 6-(4-гексилоксибензиламино)пурин, 6-(2-формилбензиламино)пурин, 6-(3-формилбензиламино)пурин, 6-(4-формилбензиламино)пурин, 6-(2-этоксibenзиламино)пурин, 6-(3-этоксibenзиламино)пурин, 6-(4-этоксibenзиламино)пурин, 6-(4-этилбензиламино)пурин, 6-(4-

[illegible]

динитробензиламино)пурин, 6-(3,5-динитробензиламино)пурин, 6-(2-метил-5-
нитробензиламино)пурин, 6-(3-метил-4-нитробензиламино)пурин, 6-(3,4-дийод-4-
гидроксibenзиламино)пурин, 6-(2-хлор-3,4-диметоксибензиламино)пурин, 6-(4-хлор-3,5-
динитробензиламино)пурин, 6-(2-хлор-4-фторбензиламино)пурин, 6-(3-хлор-4-
фторбензиламино)пурин, 6-(2-хлор-6-метилбензиламино)пурин, 6-(3-хлор-2-
метилбензиламино)пурин, 6-(3-хлор-4-метилбензиламино)пурин, 6-(5-хлор-2-
метоксибензиламино)пурин, 6-(2-хлор-4-фторбензиламино)пурин, 6-(4-
хлорметилбензиламино)пурин, 6-(2-хлор-5-нитробензиламино)пурин, 6-(2-хлор-6-
нитробензиламино)пурин, 6-(4-хлор-3-нитробензиламино)пурин, 6-(5-хлор-2-
нитробензиламино)пурин, 6-(3-бром-4-гидроксibenзиламино)пурин, 6-(3,5-дибром-4-
гидроксibenзиламино)пурин, 6-(3-бром-4-метоксибензиламино)пурин, 6-(4-
бромметилбензиламино)пурин, 6-(4-бутоксibenзиламино)пурин, 6-(4-трет-
бутилбензиламино)пурин, 6-(4-трет-бутил-2,6-диметилбензиламино)пурин, 6-(2-
аминобензиламино)пурин, 6-(3-аминобензиламино)пурин, 6-(4-аминобензиламино)пурин, 6-
(2-амино-6-хлорбензиламино)пурин, 6-(3-амино-4-хлорбензиламино)пурин, 6-(2-амино-3-
хлорбензиламино)пурин, 6-(2-амино-4-хлорбензиламино)пурин, 6-(2-амино-6-
хлорбензиламино)пурин, 6-(2,6-диамино-3-хлорбензиламино)пурин, 6-(2,6-диамино-4-
хлорбензиламино)пурин, 6-(4-амино-3-хлорбензиламино)пурин, 6-(4-амино-5-
дихлорбензиламино)пурин, 6-(5-амино-2-метилбензиламино)пурин, 6-(2-амино-3-
нитробензиламино)пурин, 6-(4-амино-3-нитробензиламино)пурин, 6-(4-
бензилоксibenзиламино)пурин, 6-(3-ацетилбензиламино)пурин, 6-(2-
ацетилбензиламино)пурин, 6-(2,3,4-триметоксибензиламино)пурин, 6-(2,4,5-
триметоксибензиламино)пурин, 6-(2,4,6-триметоксибензиламино)пурин, 6-(3,4,5-
триметоксибензиламино)пурин, 6-(2,4,6-триметоксибензиламино)пурин, 6-(2,3,4-
тригидроксibenзиламино)пурин, 6-(2,4,6-тригидроксibenзиламино)пурин, 6-(2,3,4-
тригидроксibenзиламино)пурин, 6-(3,4,5-тригидроксibenзиламино)пурин, 6-(2,4,6-
тригидроксibenзиламино)пурин, 6-(2,4,5-трихлорбензиламино)пурин, 6-(2,4,6-
трихлорбензиламино)пурин, 6-(2,3,4-трихлорбензиламино)пурин, 6-(2,3,5-
трихлорбензиламино)пурин, 6-(2,3,6-трихлорбензиламино)пурин, 6-(2,5,6-
трихлорбензиламино)пурин, 6-анилинопурин, 6-(2,4-бис(трифторметил)анилино)пурин, 6-
(2,5-бис(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,4-бис(трифторметил)анилино)пурин, 6-(3,5-
бис(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2-броманилино)пурин, 6-(3-броманилино)пурин, 6-(4-
броманилино)пурин, 6-(4-бром-2-хлоранилино)пурин, 6-(4-бром-3-хлоранилино)пурин, 6-(2-
бром-6-хлор-4-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(4-бром-5,6-дифторанилино)пурин, 6-(2-
бром-4,6-дифторанилино)пурин, 6-(4-бром-2,6-дифторанилино)пурин, 6-(4-бром-2-
фторанилино)пурин, 6-(2-бром-4-фторанилино)пурин, 6-(2-бром-4-метиланилино)пурин, 6-
(3-бром-2-метиланилино)пурин, 6-(4-бром-3-метиланилино)пурин, 6-(2-бром-4-
(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(3-бром-4-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(4-бром-2-
(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-бром-4,5,6-трифторанилино)пурин, 6-(2,4-
диброманилино)пурин, 6-(2,5-диброманилино)пурин, 6-(2,4-дибром-3,6-
дихлоранилино)пурин, 6-(2,6-дибром-4-фторанилино)пурин, 6-(2,6-дибром-4-
(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2,4-дибром-6-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,6-
дибром-4-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,3-дихлоранилино)пурин, 6-(2,4-
дихлоранилино)пурин, 6-(2,5-дихлоранилино)пурин, 6-(2,6-дихлороанилино)пурин, 6-(3,4-
дихлоранилино)пурин, 6-(3,5-дихлоранилино)пурин, 6-(2,6-дихлор-4-
(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2,4-дихлор-6-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,6-
дихлор-4-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,3-дифторанилино)пурин, 6-(2,4-
дифторанилино)пурин, 6-(2,5-дифторанилино)пурин, 6-(2,6-дифторанилино)пурин, 6-(3,4-
дифторанилино)пурин, 6-(3,5-дифторанилино)пурин, 6-(2-дифторметоксианилино)пурин, 6-
(2-дифторметокси-5-нитроанилино)пурин, 6-(2,3-дифтор-6-нитроанилино)пурин, 6-(2,4-
дифтор-6-нитроанилино)пурин, 6-(2,4-дийоданилино)пурин, 6-(2,3-диметиланилино)пурин,
6-(2,4-диметиланилино)пурин, 6-(2,3-диметил-6-нитроанилино)пурин, 6-(2,4-
диметоксианилино)пурин, 6-(2,3-диметоксианилино)пурин, 6-(2,3-динитро-6-

метиланилино)пурин, 6-(4-гидрокси-2-метиланилино)пурин, 6-(2-хлоранилино)пурин, 6-(3-хлоранилино)пурин, 6-(4-хлоранилино)пурин, (3-хлор-2,6-дибром-4-фторанилино)пурин, 6-(2-хлор-4-фторанилино)пурин, 6-(2-хлор-5-фторанилино)пурин, 6-(2-хлор-6-фторанилино)пурин, 6-(3-хлор-2-фторанилино)пурин, 6-(3-хлор-4-фторанилино)пурин, 6-(4-хлор-2-фторанилино)пурин, 6-(5-хлор-2-фторанилино)пурин, 6-(2-хлор-4-фтор-5-метиланилино)пурин, 6-(5-хлор-4-фтор-2-нитроанилино)пурин, 6-(5-хлор-2-гидроксианилино)пурин, 6-(4-хлор-2-йоданилино)пурин, 6-(2-хлор-4-йоданилино)пурин, 6-(2-хлор-6-метиланилино)пурин, 6-(3-хлор-2-метиланилино)пурин, 6-(3-хлор-4-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(4-хлор-2-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-фторанилино)пурин, 6-(3-фторанилино)пурин, 6-(4-фторанилино)пурин, 6-(2-фтор-4-йоданилино)пурин, 6-(2-фтор-5-нитроанилино)пурин, 6-(2-фтор-4-метиланилино)пурин, 6-(3-фтор-2-метиланилино)пурин, 6-(3-фтор-4-метиланилино)пурин, 6-(4-фтор-2-метиланилино)пурин, 6-(3-фтор-4-метиланилино)пурин, 6-(5-фтор-2-метиланилино)пурин, 6-(4-фтор-2-нитроанилино)пурин, 6-(4-фтор-3-нитроанилино)пурин, 6-(2-йоданилино)пурин, 6-(2-фтор-4-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(4-йод-2-метиланилино)пурин, 6-(2-метоксианилино)пурин, 6-(3-метоксианилино)пурин, 6-(4-метоксианилино)пурин, 6-(2-метокси-5-метиланилино)пурин, 6-(2-метокси-6-метиланилино)пурин, 6-(4-метокси-2-метиланилино)пурин, 6-(5-метокси-2-метиланилино)пурин, 6-(4-метокси-3-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2-метиланилино)пурин, 6-(4-метиланилино)пурин, 6-(3-метиланилино)пурин, 6-(2-метил-3-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-метил-4-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-(метилтио)анилино)пурин, 6-(4-(метилтио)анилино)пурин, 6-(2-нитроанилино)пурин, 6-(3-нитроанилино)пурин, 6-(4-нитроанилино)пурин, 6-(2-нитро-4,5,6-трифторанилино)пурин, 6-(2-нитро-4-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-нитротетрафторанилино)пурин, 6-(2,3,4,5,6-пентаброманилино)пурин, 6-(2,3,4,5,6-пентафторанилино)пурин, 6-(2,3,4,5-тетрахлоранилино)пурин, 6-(2,3,5,6-тетрахлоранилино)пурин, 6-(4-(1,1,2,2-тетрафторэтокси)анилино)пурин, 6-(2,3,4,5,-тетрафторанилино)пурин, 6-(2,3,4,6,-тетрафторанилино)пурин, 6-(2,3,5,6,-тетрафторанилино)пурин, 6-(2,3,5,6-тетрафтор-4-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,4,6-триброманилино)пурин, 6-(2,4,6-трибром-3,5-дийоданилино)пурин, 6-(2,3,4-трихлоранилино)пурин, 6-(2,4,5-трихлоранилино)пурин, 6-(2,4,6-трихлоранилино)пурин, 6-(2,4,5-трифторанилино)пурин, 6-(2,3,5-трифторанилино)пурин, 6-(2,3,6-трифторанилино)пурин, 6-(2,3,4-трифторанилино)пурин, 6-(2-трифторметоксианилино)пурин, 6-(3-трифторметоксианилино)пурин, 6-(4-трифторметоксианилино)пурин, 6-(2,3,4-трифтор-6-нитроанилино)пурин, 6-(2,4,5-триметиланилино)пурин, 6-(2,4,6-триметиланилино)пурин, 6-(3-хлор-5-аминоанилино)пурин, 6-(3-хлор-4-карбоксии)пурин, 6-(3-амино-4-хлоранилино)пурин, 6-(3-хлор-4-аминоанилино)пурин, 6-(3-карбоксии-4-гидроксианилино)пурин

при производстве медикаментов, косметических средств или регуляторов роста.

3. Применение гетероциклических соединений на основе N⁶-замещенного аденина общей формулы I в соответствии с п.1 или 2 или их фармацевтически приемлемых солей при производстве медикаментов, имеющих противораковые, митотические и иммуноподавительные свойства, влияющие на клетки растений, животных или человека.

4. Применение гетероциклических соединений на основе N⁶-замещенного аденина общей формулы I в соответствии с п.1 или 2 или их фармацевтически приемлемых солей при производстве регуляторов роста клеток растений, млекопитающих животных, микроорганизмов, дрожжей и грибов.

5. Применение гетероциклических соединений на основе N⁶-замещенного аденина общей формулы I в соответствии с п.1 или 2 или их фармацевтически приемлемых солей при производстве косметических средств, имеющих свойства, замедляющих старение клеток растений, животных или человека.

6. Фармацевтические и косметические композиции или регуляторы роста, которые содержат гетероциклические соединения на основе N⁶-замещенного аденина общей формулы I в соответствии с п.1 или 2 или их фармацевтически приемлемых солей,

имеющие противораковые, митотические, иммуноподавляющие и замедляющие старение свойства, влияющие на клетки растений, животных и человека.

5 7. Применение гетероциклических соединений на основе N⁶-замещенного аденина общей формулы I в соответствии с п.1 или 2 или их фармацевтически приемлемых солей при производстве регуляторов роста для использования их в сельском хозяйстве, особенно для повышения урожайности и качества сельскохозяйственных продуктов.

10 8. Применение гетероциклических соединений на основе N⁶-замещенного аденина общей формулы I в соответствии с п.1 или 2 или их фармацевтически приемлемых солей при производстве косметических средств, замедляющих старение и подавляющих чувствительность эпидермических клеток млекопитающих, таких, как кератиноциты и фибробласты.

15 9. Применение гетероциклических соединений на основе N⁶-замещенного аденина общей формулы I в соответствии с п.1 или 2 или их фармацевтически приемлемых солей при производстве регуляторов роста для применения их в клеточных культурах для стимуляции их размножения и морфогенеза.

10. Применение гетероциклических соединений на основе N⁶-замещенного аденина общей формулы I в соответствии с п.1 или 2 или их фармацевтически приемлемых солей при производстве препаратов, предназначенных для подавления иммуностимуляции.

20 11. Гетероциклические соединения основанные на N⁶-замещенном аденине общей формулы I, где соединения выбирают из группы:

6-(2-гидрокси-3-хлороксибензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-4-хлорбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-5-хлорбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-6-хлорбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-3-йодбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-4-йодбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-5-йодбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-6-йодбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-3-бромбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-4-бромбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-5-бромбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-6-бромбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-3-фторбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-4-фторбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-5-фторбензиламино)пурин, 6-(2-гидрокси-6-фторбензиламино)пурин, 6-(2,3-дигидрокси-3-метоксибензиламино)пурин, 6-(2,5-дигидрокси-3-метоксибензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-4-метоксибензиламино)пурин, 6-(2,3-дигидрокси-4-хлорбензиламино)пурин, 6-(2,3-дигидрокси-4-хлорбензиламино)пурин, 6-(2,5-дигидрокси-4-хлорбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-4-хлорбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-4-бромбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-4-йодбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3-хлорбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3-бромбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3-йодбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3-фторбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3,5-дихлорбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3,5-дибромбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3,5-дийодбензиламино)пурин, 6-(2,6-дигидрокси-3,5-дифторбензиламино)пурин, 6-(2-фторбензиламино)пурин, 6-(3-фторбензиламино)пурин, 6-(4-фторбензиламино)пурин, 6-(2-бромбензиламино)пурин, 6-(3-бромбензиламино)пурин, 6-(4-бромбензиламино)пурин, 6-(2-йодбензиламино)пурин, 6-(3-йодбензиламино)пурин, 6-(4-йодбензиламино)пурин, 6-(2-хлорбензиламино)пурин, 6-(3-хлорбензиламино)пурин, 6-(4-хлорбензиламино)пурин, 6-(2-ацетилбензиламино)пурин, 6-(3-ацетилбензиламино)пурин, 6-(4-ацетилбензиламино)пурин, 6-(3-карбокисбензиламино)пурин, 6-(4-карбокисбензиламино)пурин, 6-(2-ацетокисбензиламино)пурин, 6-(3-ацетокисбензиламино)пурин, 6-(4-ацетокисбензиламино)пурин, 6-(2-нитробензиламино)пурин, 6-(3-нитробензиламино)пурин, 6-(4-нитробензиламино)пурин, 6-(2-сульфобензиламино)пурин, 6-(3-сульфобензиламино)пурин, 6-(4-сульфобензиламино)пурин, 6-(2-цианобензиламино)пурин, 6-(3-кианообензиламино)пурин, 6-(4-цианобензиламино)пурин, 6-(5-нитро-2-метилбензиламино)пурин, 6-(2-метилбензиламино)пурин, 6-(3-метилбензиламино)пурин, 6-(4-метилбензиламино)пурин, 6-(4-метиламинобензиламино)пурин, 6-(2-метоксибензиламино)пурин, 6-(3-метоксибензиламино)пурин, 6-(4-метоксибензиламино)пурин, 6-(2-гидроксибензиламино)пурин, 6-(3-гидроксибензиламино)пурин, 6-(4-гидроксибензиламино)пурин, 6-(4-

[illegible]

метоксибензиламинопурин, 6-(4,5-диметокси-2-нитробензиламино)пурин, 6-(3,4-
диметилбензиламино)пурин, 6-(2,3-диметилбензиламино)пурин, 6-(2,4-
диметилбензиламино)пурин, 6-(2,6-диметилбензиламино)пурин, 6-(2,6-диметил-4-
гидроксибензиламино)пурин, 6-(3,5-диметил-4-гидроксибензиламино)пурин, 6-(2-фтор-4-
5 гидроксибензиламино)пурин, 6-(3-фтор-4-метилбензиламино)пурин, 6-(3,4-
динитробензиламино)пурин, 6-(3,5-динитробензиламино)пурин, 6-(2-метил-5-
нитробензиламино)пурин, 6-(3-метил-4-нитробензиламино)пурин, 6-(3,4-дийод-4-
гидроксибензиламино)пурин, 6-(2-хлор-3,4-диметоксибензиламино)пурин, 6-(4-хлор-3,5-
динитробензиламино)пурин, 6-(2-хлор-4-фторбензиламино)пурин, 6-(3-хлор-4-
10 фторбензиламино)пурин, 6-(2-хлор-6-метилбензиламино)пурин, 6-(3-хлор-2-
метилбензиламино)пурин, 6-(3-хлор-4-метилбензиламино)пурин, 6-(5-хлор-2-
метоксибензиламино)пурин, 6-(2-хлор-4-фторбензиламино)пурин, 6-(4-
хлорметилбензиламино)пурин, 6-(2-хлор-5-нитробензиламино)пурин, 6-(2-хлор-6-
нитробензиламино)пурин, 6-(4-хлор-3-нитробензиламино)пурин, 6-(5-хлор-2-
15 нитробензиламино)пурин, 6-(3-бром-4-гидроксибензиламино)пурин, 6-(3,5-дибром-4-
гидроксибензиламино)пурин, 6-(3-бром-4-метоксибензиламино)пурин, 6-(4-
бромметилбензиламино)пурин, 6-(4-бутоксibenзиламино)пурин, 6-(4-
бутоксibenзиламино)пурин, 6-(4-трет-бутилбензиламино)пурин, 6-(4-трет-бутил-2,6-
диметилбензиламино)пурин, 6-(2-аминобензиламино)пурин, 6-(3-аминобензиламино)пурин,
20 6-(4-аминобензиламино)пурин, 6-(2-амино-6-хлорбензиламино)пурин, 6-(3-амино-4-
хлорбензиламино)пурин, 6-(2-амино-3-хлорбензиламино)пурин, 6-(2-амино-4-
хлорбензиламино)пурин, 6-(2-амино-6-хлорбензиламино)пурин, 6-(2,6-диамино-3-
хлорбензиламино)пурин, 6-(2,6-диамино-4-хлорбензиламино)пурин, 6-(4-амино-3-
хлорбензиламино)пурин, 6-(4-амино-5-дихлорбензиламино)пурин, 6-(5-амино-2-
25 метилбензиламино)пурин, 6-(2-амино-3-нитробензиламино)пурин, 6-(4-амино-3-
нитробензиламино)пурин, 6-(4-бензилоксибензиламино)пурин, 6-(3-
ацетилбензиламино)пурин, 6-(2-ацетилбензиламино)пурин, 6-(2,3,4-
триметоксибензиламино)пурин, 6-(2,4,5-триметоксибензиламино)пурин, 6-(2,4,6-
триметоксибензиламино)пурин, 6-(3,4,5-триметоксибензиламино)пурин, 6-(2,4,6-
30 триметоксибензиламино)пурин, 6-(2,3,4-тригидроксибензиламино)пурин, 6-(2,4,6-
тригидроксибензиламино)пурин, 6-(2,3,4-тригидроксибензиламино)пурин, 6-(3,4,5-
тригидроксибензиламино)пурин, 6-(2,4,6-тригидроксибензиламино)пурин, 6-(2,4,5-
трихлорбензиламино)пурин, 6-(2,4,6-трихлорбензиламино)пурин, 6-(2,3,4-
трихлорбензиламино)пурин, 6-(2,3,5-трихлорбензиламино)пурин, 6-(2,3,6-
35 трихлорбензиламино)пурин, 6-(2,5,6-трихлорбензиламино)пурин, 6-анилинопурин, 6-(2,4-
бис(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,5-бис(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,4-
бис(трифторметил)анилино)пурин, 6-(3,5-бис(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2-
броманилино)пурин, 6-(3-броманилино)пурин, 6-(4-броманилино)пурин, 6-(4-бром-2-
хлоранилино)пурин, 6-(4-бром-3-хлоранилино)пурин, 6-(2-бром-6-хлор-4-
40 (трифторметил)анилино)пурин, 6-(4-бром-5,6-дифторанилино)пурин, 6-(2-бром-4,6-
дифторанилино)пурин, 6-(4-бром-2,6-дифторанилино)пурин, 6-(4-бром-2-
фторанилино)пурин, 6-(2-бром-4-фторанилино)пурин, 6-(2-бром-4-метиланилино)пурин, 6-
(3-бром-2-метиланилино)пурин, 6-(4-бром-3-метиланилино)пурин, 6-(2-бром-4-
(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(3-бром-4-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(4-бром-2-
45 (трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-бром-4,5,6-трифторанилино)пурин, 6-(2,4-
диброманилино)пурин, 6-(2,5-диброманилино)пурин, 6-(2,4-дибром-3,6-
дихлоранилино)пурин, 6-(2,6-дибром-4-фторанилино)пурин, 6-(2,6-дибром-4-
(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2,4-дибром-6-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,6-
дибром-4-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,3-дихлоранилино)пурин, 6-(2,4-
50 дихлоранилино)пурин, 6-(2,5-дихлоранилино)пурин, 6-(2,6-дихлороанилино)пурин, 6-(3,4-
дихлоранилино)пурин, 6-(3,5-дихлоранилино)пурин, 6-(2,6-дихлор-4-
(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2,4-дихлор-6-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,6-
дихлор-4-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,3-дифторанилино)пурин, 6-(2,4-

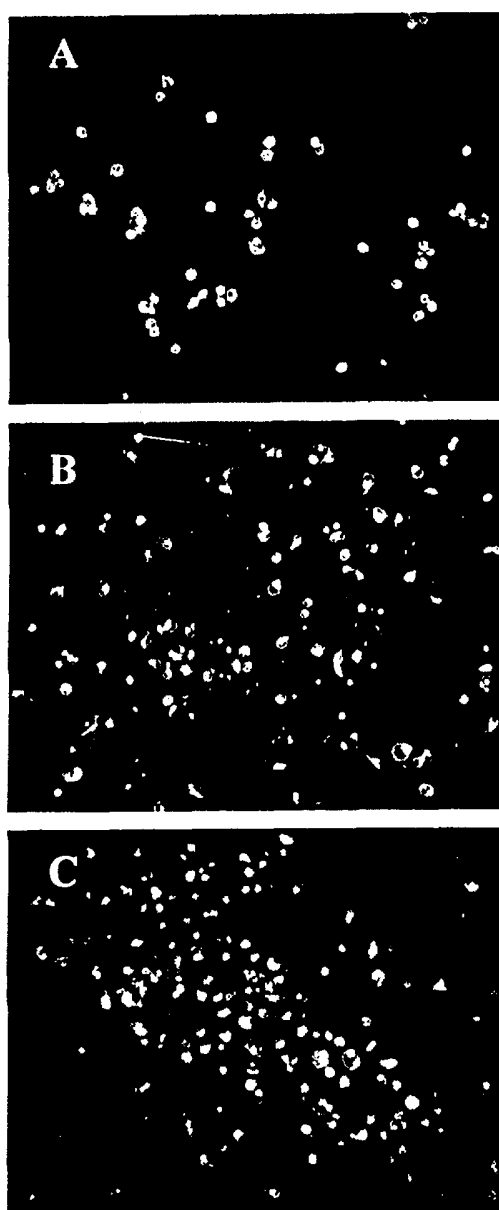
дифторанилино)пурин, 6-(2,5-дифторанилино)пурин, 6-(2,6-дифторанилино)пурин, 6-(3,4-дифторанилино)пурин, 6-(3,5-дифторанилино)пурин, 6-(2-дифторметоксианилино)пурин, 6-(2-дифторметокси-5-нитроанилино)пурин, 6-(2,3-дифтор-6-нитроанилино)пурин, 6-(2,4-дифтор-6-нитроанилино)пурин, 6-(2,4-дийоданилино)пурин, 6-(2,3-диметиланилино)пурин, 5 6-(2,4-диметиланилино)пурин, 6-(2,3-диметил-6-нитроанилино)пурин, 6-(2,4-диметоксианилино)пурин, 6-(2,3-диметоксианилино)пурин, 6-(2,3-динитро-6-метиланилино)пурин, 6-(4-гидрокси-2-метиланилино)пурин, 6-(2-хлоранилино)пурин, 6-(3-хлоранилино)пурин, 6-(4-хлоранилино)пурин, (3-хлор-2,6-дибром-4-фторанилино)пурин, 6-(2-хлор-4-фторанилино)пурин, 6-(2-хлор-5-фторанилино)пурин, 6-(2-хлор-6-фторанилино)пурин, 6-(3-хлор-2-фторанилино)пурин, 6-(3-хлор-4-фторанилино)пурин, 6-(4-хлор-2-фторанилино)пурин, 6-(5-хлор-2-фторанилино)пурин, 6-(2-хлор-4-фтор-5-метиланилино)пурин, 6-(5-хлор-4-фтор-2-нитроанилино)пурин, 6-(5-хлор-2-гидроксианилино)пурин, 6-(4-хлор-2-йоданилино)пурин, 6-(2-хлор-4-йоданилино)пурин, 6-(2-хлор-6-метиланилино)пурин, 6-(3-хлор-2-метиланилино)пурин, 6-(3-хлор-4-15 (трифторметокси)анилино)пурин, 6-(4-хлор-2-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-фторанилино)пурин, 6-(3-фторанилино)пурин, 6-(4-фторанилино)пурин, 6-(2-фтор-4-йоданилино)пурин, 6-(2-фтор-5-нитроанилино)пурин, 6-(2-фтор-4-метиланилино)пурин, 6-(3-фтор-2-метиланилино)пурин, 6-(3-фтор-4-метиланилино)пурин, 6-(4-фтор-2-метиланилино)пурин, 6-(3-фтор-4-метиланилино)пурин, 6-(5-фтор-2-метиланилино)пурин, 20 6-(4-фтор-2-нитроанилино)пурин, 6-(4-фтор-3-нитроанилино)пурин, 6-(2-йоданилино)пурин, 6-(2-фтор-4-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(4-йод-2-метиланилино)пурин, 6-(2-метоксианилино)пурин, 6-(3-метоксианилино)пурин, 6-(4-метоксианилино)пурин, 6-(2-метокси-5-метиланилино)пурин, 6-(2-метокси-6-метиланилино)пурин, 6-(4-метокси-2-метиланилино)пурин, 6-(5-метокси-2-25 метиланилино)пурин, 6-(4-метокси-3-(трифторметил)анилино)пурин, 6-(2-метиланилино)пурин, 6-(4-метиланилино)пурин, 6-(3-метиланилино)пурин, 6-(2-метил-3-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-метил-4-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-(метилтио)анилино)пурин, 6-(4-(метилтио)анилино)пурин, 6-(2-нитроанилино)пурин, 6-(3-нитроанилино)пурин, 6-(4-нитроанилино)пурин, 6-(2-нитро-4,5,6-трифторанилино)пурин, 6-(2-нитро-4-(трифторметокси)анилино)пурин, 6-(2-нитротетрафторанилино)пурин, 30 6-(2,3,4,5,6-пентаброманилино)пурин, 6-(2,3,4,5,6-пентафторанилино)пурин, 6-(2,3,4,5-тетрахлоранилино)пурин, 6-(2,3,5,6-тетрахлоранилино)пурин, 6-(4-(1,1,2,2-тетрафторэтокси)анилино)пурин, 6-(2,3,4,5,-тетрафторанилино)пурин, 6-(2,3,4,6,-тетрафторанилино)пурин, 6-(2,3,5,6,-тетрафторанилино)пурин, 6-(2,3,5,6-тетрафтор-4-35 (трифторметил)анилино)пурин, 6-(2,4,6-триброманилино)пурин, 6-(2,4,6-трибром-3,5-дийоданилино)пурин, 6-(2,3,4-трихлоранилино)пурин, 6-(2,4,5-трихлоранилино)пурин, 6-(2,4,6-трихлоранилино)пурин, 6-(2,4,5-трифторанилино)пурин, 6-(2,3,5-трифторанилино)пурин, 6-(2,3,6-трифторанилино)пурин, 6-(2,3,4-трифторанилино)пурин, 6-(2-трифторметоксианилино)пурин, 6-(3-трифторметоксианилино)пурин, 6-(4-40 трифторметоксианилино)пурин, 6-(2,3,4-трифтор-6-нитроанилино)пурин, 6-(2,4,5-триметиланилино)пурин, 6-(2,4,6-триметиланилино)пурин, 6-(3-хлор-5-аминоанилино)пурин, 6-(3-хлор-4-карбокси)пурин, 6-(3-амино-4-хлоранилино)пурин, 6-(3-хлор-4-аминоанилино)пурин, 6-(3-карбокси-4-гидроксианилино)пурин.

45

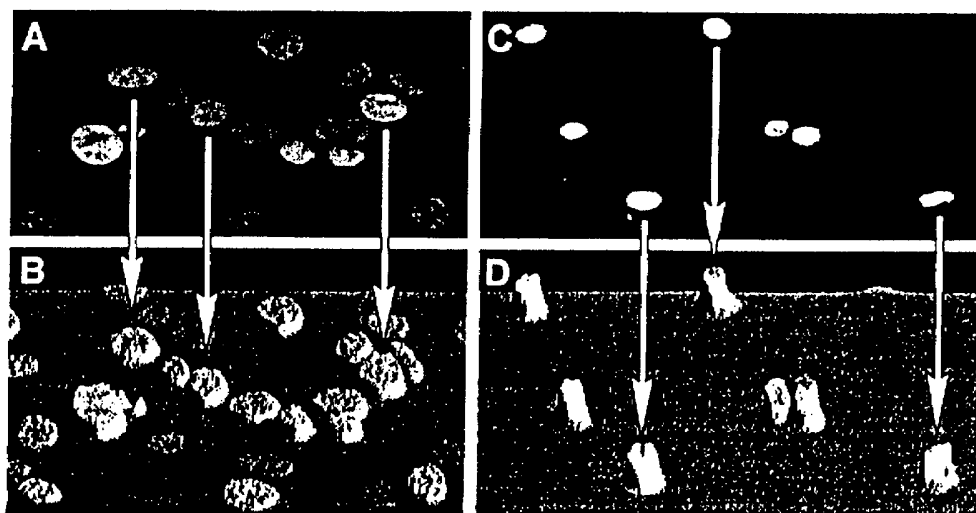
50



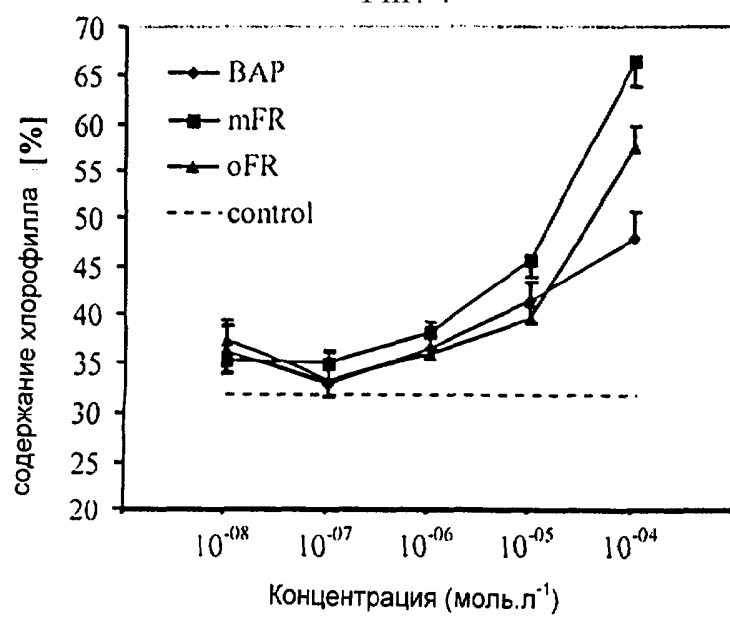
Фиг. 2



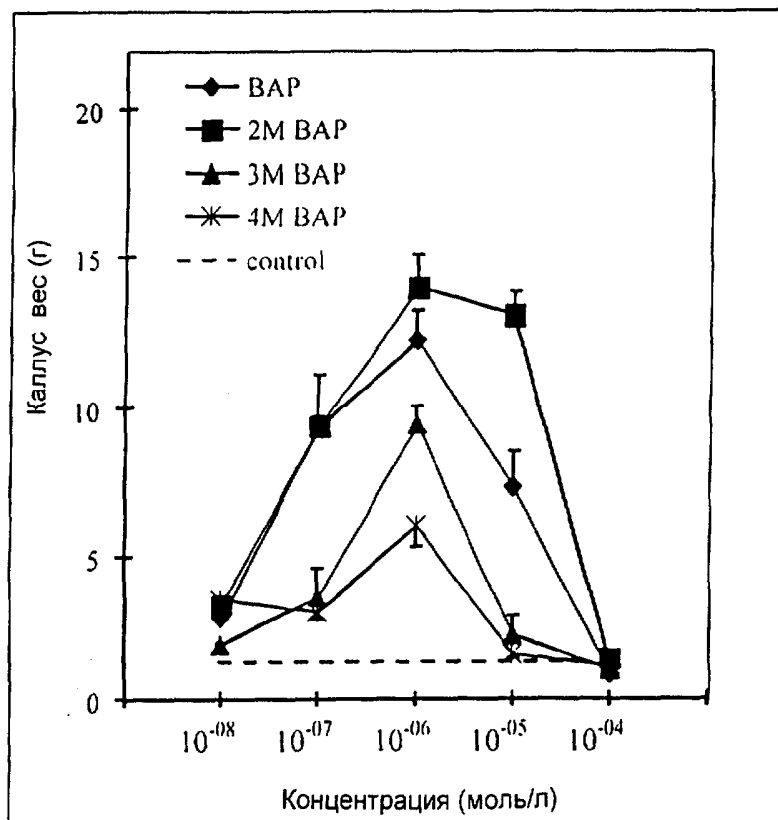
Фиг. 3



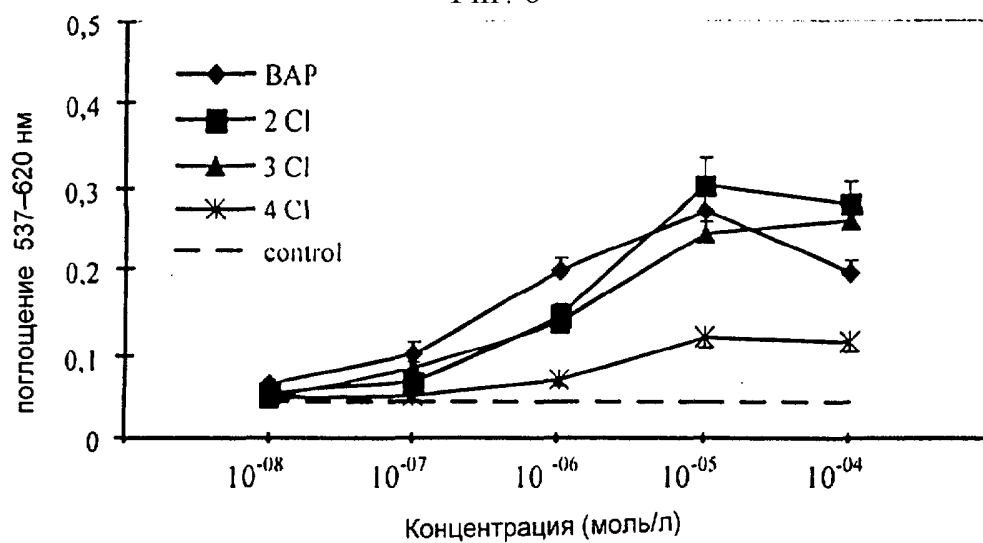
Фиг. 4



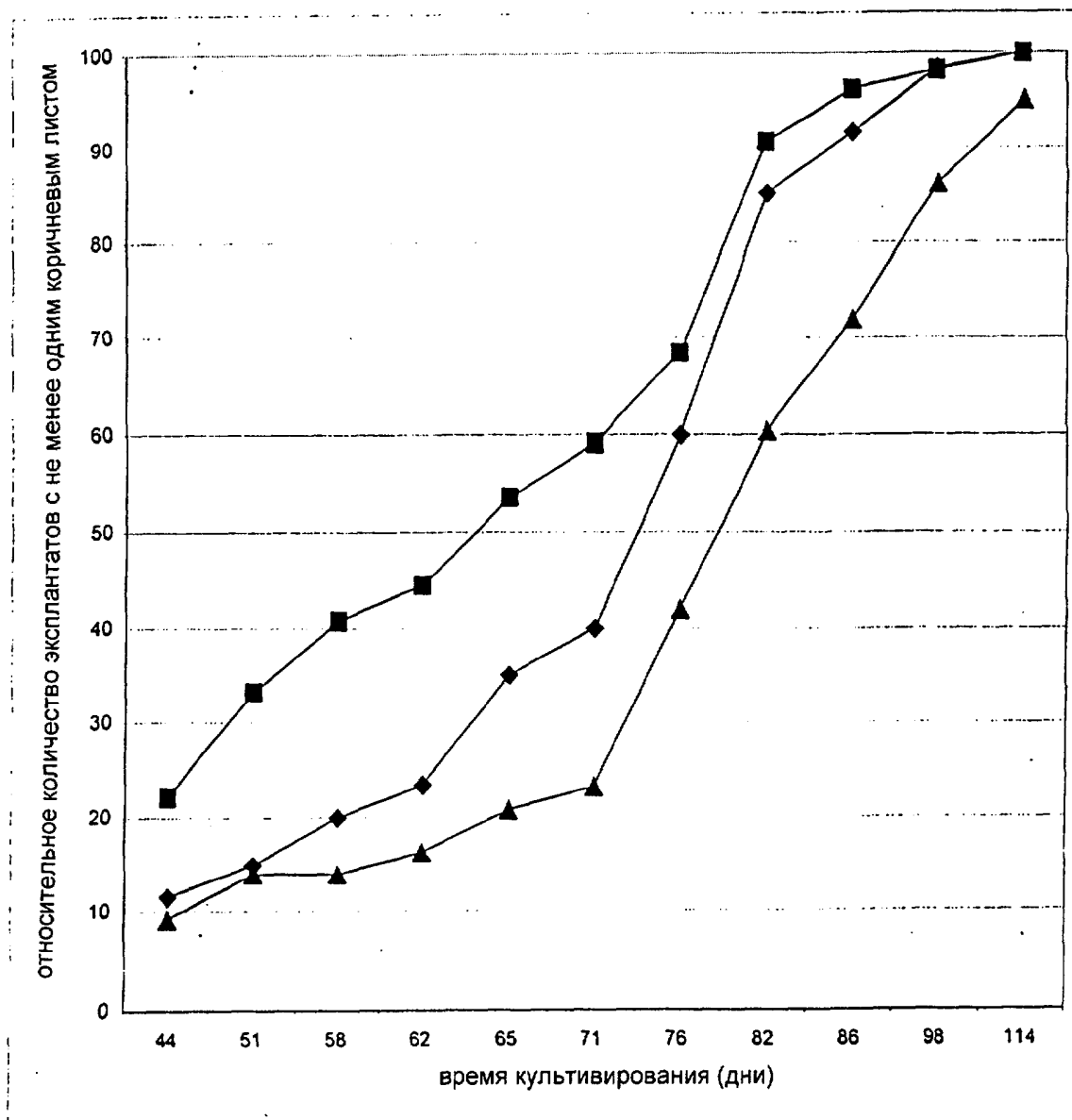
Фиг. 5



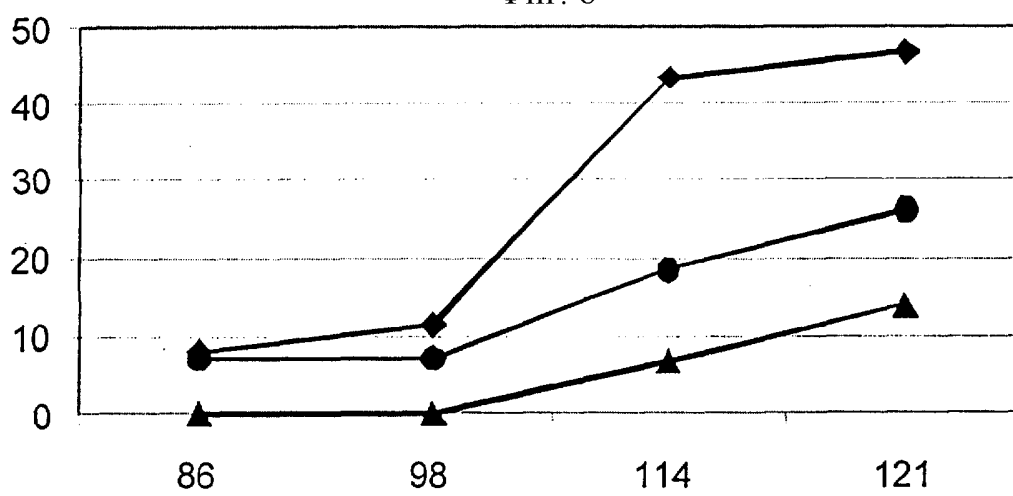
Фиг. 6



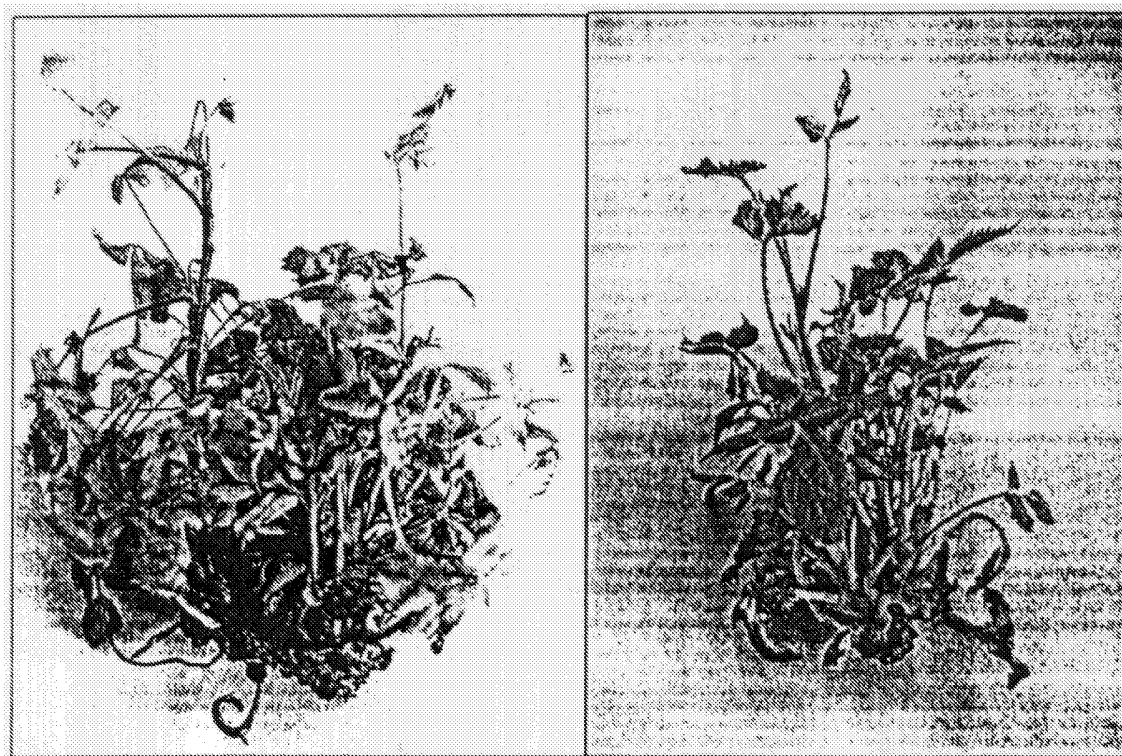
Фиг. 7



Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10