



УКРАЇНА

(19) UA (11) 60354 (13) C2

(51) 7 C07D215/56, 491/056, A61K31/4704, A61P37/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ПОХІДНІ ХІНОЛІНУ, СПОСІБ ЇХ ОДЕРЖАННЯ (ВАРІАНТИ) ТА СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ССАВЦІВ

1

2

(21) 2000085078

(22) 26 04 1989

(24) 15 10 2003

(86) PCT/SE99/00676, 26 04 1999

(31) 9801474-9

(32) 27 04 1998

(33) SE

(46) 15 10 2003, Бюл № 10, 2003 р

(72) Бйорк Андерс, SE, Йонсон Стіг, SE, Фекс То-

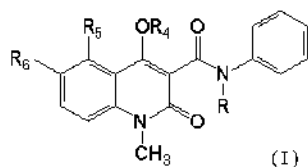
мас, SE, Хедлунд Гунар, SE

(73) ЕКТІВ БАЙОТЕК АБ, SE

(56) EP, 059698, A1, 1982

WO, 92/18483, A1, 1992

(57) 1 Похідні хіноліну загальної формули (I)



де

R вибирають з групи етил, н-пропіл, ізопропіл, н-

бутил, ізобутил, втор(sec)-бутил та аліл,

R₄ вибирають з групи водень або фармацевтично

прийнятні неорганічні або органічні катіони,

R₅ вибирають з групи метил, етил, н-пропіл, ізопро-піл, метокси, етокси, хлор, бром, CF₃ та OCH_xF_y,

де x = 0-2,

y = 1-3 за умови, що

x + y = 3,

R₆ - це водень, абоR₅ та R₆ є однаковими і являють собою мети-

лендіокси,

і будь-які їх таутомери

2 Похідні хіноліну за п 1, які відрізняються тим, що фармацевтично прийнятні неорганічні катіони являють собою натрій, калій та кальцій, а органічні катіони являють собою моноетаноламін, діетаноламін, диметиламіноетанол, морфолін та подібні до них

3 Похідні хіноліну за пп 1 або 2, які відрізняються тим, що R₅ являє собою метил, етил, метокси, хлор, бром

4 Похідні хіноліну за п 3, які відрізняються тим, що R являє собою етил та н-пропіл

5 Похідні хіноліну за п 4, які відрізняються тим, що R₄ вибирають з водню та натрію

6 Похідна хіноліну за пп 1 або 2, яка відрізняється тим, що являє собою N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-метил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

7 Похідна хіноліну за пп 1 або 2, яка відрізняється тим, що являє собою N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-етил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

8 Похідна хіноліну за пп 1 або 2, яка відрізняється тим, що являє собою N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-метокси-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

9 Похідна хіноліну за пп 1 або 2, яка відрізняється тим, що являє собою N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-хлор-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід або його натрієву сіль

10 Похідна хіноліну за пп 1 або 2, яка відрізняється тим, що являє собою N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-бром-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

11 Похідна хіноліну за пп 1 або 2, яка відрізняється тим, що являє собою N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5,6-метилендіокси-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

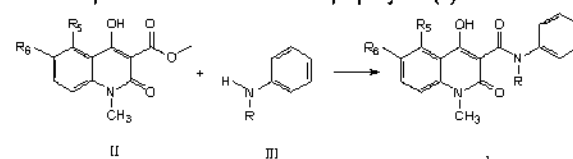
12 Похідна хіноліну за будь-яким з попередніх пунктів, яка використовується як лікарський засіб

13 Фармацевтична композиція, яка містить як активний інгредієнт похідну хіноліну, що має загальну формулу (I), разом з фармацевтично прийнятним носієм

14 Фармацевтична композиція за п 13, яка відрізняється тим, що містить інші фармакологічно активні субстанції (речовини)

15 Фармацевтична композиція за п 13 або 14, яка використовується як лікарський засіб у денній (добовій) дозі активного інгредієнта від 0,0005 мг/кг до приблизно 10 мг/кг ваги тіла, зокрема від 0,005 мг/кг до 1 мг/кг ваги тіла

16 Спосіб одержання похідної хіноліну загальної формули (I) шляхом взаємодії ефірної похідної хінолінкарбоксільної кислоти формули (II)



переважно метилового або етилового ефіру, з

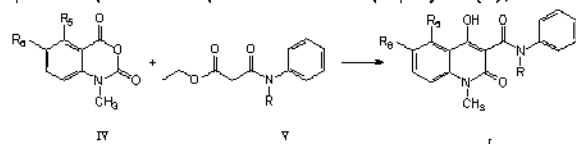
(13) C2

(11) 60354

(19) UA

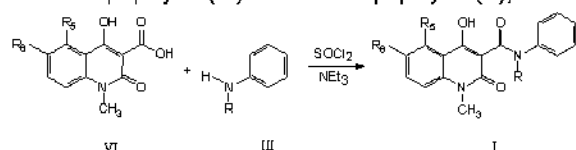
аніліном формули (III) в придатному розчиннику, такому як толуол, ксилол та подібні до них

17 Спосіб одержання похідної хіноліну загальної формули (I) шляхом взаємодії ізотоевого ангідриду формули (IV) з алкільним ефіром N-алкіл-N-фенілкарбамілоцтової кислоти формули (V),



переважно метиловим або етиловим ефіром, з використанням сильного лугу, наприклад натрію гідриду, в придатному розчиннику, такому як N,N-диметилацетамід

18 Спосіб одержання похідної хіноліну загальної формули (I) шляхом взаємодії хінолінкарбоксильної кислоти формули (VI) з аніліном формули (III),

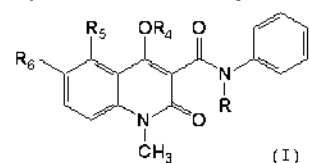


з використанням придатного зв'язуючого реагенту, переважно карбодіміду або хлористого туюнлу в присутності триетиламіну і придатного розчинника, такого як дихлорметан

19 Спосіб за п 19, який відрізняється тим, що R являє собою етил та н-пропіл

20 Спосіб за п 20, який відрізняється тим, що R₄ вибирають з водню та натрію

21 Спосіб лікування ссавця, що страждає на захворювання, які виникають внаслідок аутоімунітету або патологічного запалення, при якому названому ссавцеві вводять похідну хіноліну формули (I)



де

R вибирають з групи етил, н-пропіл, ізопропіл, н-бутил, ізобутил, втор(sec)-бутил та аліл, R₄ вибирають з групи водень або фармацевтично прийнятні неорганічні або органічні катіони,

R₅ вибирають з групи метил, етил, н-пропіл, ізопропіл, метокси, етокси, хлор, бром, CF₃ та OCH_xF_y,

де x = 0-2,

y = 1-3 за умови, що

x + y = 3,

Винахід стосується нових похідних хіноліну, способів їх одержання, фармацевтичних композицій на їх основі, а також їх використання для клінічного лікування аутоімунних захворювань, таких як розсіяний склероз, інсулінзалежний цукровий діабет, системний червоний вовчак, ревматоїдний артрит, запальне захворювання кишечника та псоріаз і, крім того, захворювань, в яких головну роль відіграє патологічне запалення, таких як астма,

R₆ - це водень, або

R₅ та R₆ є однаковими і являють собою метилпендіокси,

і будь-які їх таутомери

22 Спосіб за п 21, який відрізняється тим, що фармацевтично прийнятні неорганічні катіони являють собою натрій, калій та кальцій, а органічні катіони являють собою моноетаноламін, діетаноламін, диметиламіноетанол, морфолін та подібні до них

23 Спосіб за будь-яким з пп 21-22, який відрізняється тим, що R₅ являє собою метил, етил, метокси, хлор, бром

24 Спосіб за п 21, який відрізняється тим, що R₅ являє собою метил, етил, метокси, хлор, бром

25 Спосіб за п 24, який відрізняється тим, що R₄ вибирають з групи водень та натрій

26 Спосіб за п 21, який відрізняється тим, що похідна хіноліну, яку вводять, являє собою N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-хлор-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід або його натрієву сіль

27 Спосіб за будь-яким з пп 21-26, який відрізняється тим, що лікують ссавців, які страждають на розсіяний склероз

28 Спосіб за будь-яким з пп 21-26, який відрізняється тим, що лікують ссавців, які страждають на інсулінзалежний цукровий діабет

29 Спосіб за будь-яким з пп 21-26, який відрізняється тим, що лікують ссавців, які страждають на системний червоний вовчак

30 Спосіб за будь-яким з пп 21-26, який відрізняється тим, що лікують ссавців, які страждають на ревматоїдний артрит

31 Спосіб за будь-яким з пп 21-26, який відрізняється тим, що лікують ссавців, які страждають на запальне захворювання кишечника

32 Спосіб за будь-яким з пп 21-26, який відрізняється тим, що лікують ссавців, які страждають на псоріаз

33 Спосіб за будь-яким з пп 21-26, який відрізняється тим, що лікують ссавців, які страждають на запальне респіраторне захворювання, таке як астма

34 Спосіб за будь-яким з пп 21-26, який відрізняється тим, що лікують ссавців, які страждають на атеросклероз

35 Спосіб за будь-яким з пп 21-26, який відрізняється тим, що лікують ссавців, які страждають на удар

36 Спосіб за будь-яким з пп 21-26, який відрізняється тим, що лікують ссавців, які страждають на хворобу Альцгеймера

атеросклероз, удар та хвороба Альцгеймера Особливо даний винахід стосується нових похідних хіноліну, які придатні для лікування, наприклад розсіяного склерозу та його проявів

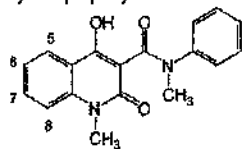
Аутоімунні захворювання, наприклад розсіяний склероз, інсулінзалежний цукровий діабет (діабет I типу), системний червоний -вовчак, ревматоїдний артрит, запальне захворювання кишечника та псоріаз являють собою напади імун-

ної системи організму, які за своєю природою можуть бути системними або спрямованими на окремі органи тіла. Вважається, що це захворювання, в ході яких імунна система робить помилки і замість того, щоб виконувати захисні функції, стає агресором (1).

Розсіяний склероз - це найбільш розповсюджене набуте неврологічне захворювання дорослих молодих людей в Західній Європі та Північній Америці. Це захворювання є причиною більшої кількості випадків інвалідності та фінансових втрат, як за рахунок втрати доходів, так і за рахунок витрат на медичне обслуговування, ніж будь-яке інше неврологічне захворювання в цій віковій групі. В Сполучених Штатах Америки зареєстровано приблизно 250 000 випадків розсіяного склерозу.

Хоча причина розсіяного склерозу лишається невідомою, досягнення у візуалізації головного мозку, імунології та молекулярній біології розширили розуміння цього захворювання дослідниками. На сьогоднішній день використовуються певні засоби лікування розсіяного склерозу, але немає єдиного засобу, який демонстрував би драматичну ефективність лікування. Існуючі засоби лікування розсіяного склерозу можуть бути поділені на три категорії: лікування гострих проявів, модуляція прогресу захворювання та лікування специфічних симптомів. Розсіяний склероз вражає центральну нервову систему і включає в себе процес демієлінізації, тобто втрату мієлінової оболонки, яка захищає аксони. Мієлін відіграє роль ізоляційного матеріалу, який робить можливим швидке проведення нервових імпульсів. Без сумніву, при демієлінізації ця властивість втрачається. Хоча патогенетичний механізм розсіяного склерозу ще незрозумілий, деякі серії доказів показують, що демієлінізація ґрунтується на імунопатологічній основі. Патологічні пошкодження — бляшки — характеризуються інфільтрацією імунологічне активних клітин, таких як макрофаги та активовані Т-клітини (2).

В Патенті США №4 547 511, Патенті США №4 738 971 та EP 59 698 деякі похідні N-арил-1,2-дигідро-4-заміщеного 1-алкіл-2-оксохінолін-3-карбоксаміду заявлені як підсилювачі клітинного імунітету. До вказаної серії сполук належить сполука формули



Рохінімекс (Roquinimex)

яка відома як рохінімекс (roquinimex, Merck Index 12th Ed., №8418, Linomide®, LS2616, N-метил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід). Рохінімекс виявив численні імунomodulatory властивості, які не супроводжувалися загальною імуносупресією (3-12). Крім того, в Патенті США №5 580 882 похідні хінолін-3-карбоксаміду заявлені як сполуки, корисні в лікуванні станів, асоційованих з розсіяним склерозом. Особлива перевага надається рохінімексу. В Патенті США №5 594 005 похідні хінолін-3-

карбоксаміду заявлені як сполуки, корисні в лікуванні діабету I типу, особлива перевага надається рохінімексу. В заявці WO 95/24195 похідні хінолін-3-карбоксаміду заявлені як сполуки, корисні в лікуванні запального захворювання кишечника (inflammatory bowel disease). Особлива перевага надається рохінімексу або його солі. В заявці WO 95/24196 похідні хінолін-3-карбоксаміду заявлені як сполуки, корисні в лікуванні псоріазу. Особлива перевага надається рохінімексу або його солі.

В клінічних випробуваннях, які порівнювали рохінімекс з плацебо, рохінімекс виправдав надії на лікування станів, асоційованих з розсіяним склерозом (13, 14). Однак рохінімекс має деякі серйозні негативні риси. Зокрема він виявив тератогенні властивості на щурах і здатність викликати побічні ефекти у людей, які обмежують інтервал вживаних доз, наприклад грипоподібний синдром, який заважає повністю використовувати клінічний потенціал сполуки.

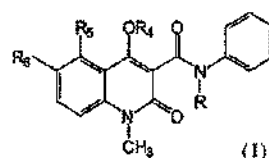
Далі, в заявці WO 92/18483 заявлені похідні хіноліну, заміщені в положенні 6 групою $R_4S(O)_n$ (де R_4 — нижчий алкіл або арил, $n=0-2$), які виявляють імунomodulatory, протизапальну та протиракову дію.

Вищевказане заміщення, тобто його тип і послідовність у зазначених сполуках виносить їх за межі даного винаходу.

Опис винаходу

Головною метою даного винаходу є створити структурно нові сполуки хіноліну, які завдяки перевагам їх фармакологічного профілю, високої ефективності на експериментальних моделях та низькому рівню побічних ефектів, розглядалися б як цінні в лікуванні захворювань, які є наслідком аутоімунітету та патологічного запалення. Прикладами таких захворювань є розсіяний склероз, інсулінозалежний цукровий діабет, системний червоний вовчак, ревматоїдний артрит, запальне захворювання кишечника (inflammatory bowel disease) та псоріаз, а також інші захворювання, в яких запалення відіграє головну роль, таких як астма, атеросклероз, удар (stroke) та хвороба Альцгеймера. Особливо даний винахід стосується нових похідних хіноліну, придатних для лікування, наприклад розсіяного склерозу та його проявів.

Нами було несподівано виявлено, що нові сполуки загальної формули (I)



де

R обирається з групи: етил, n-пропіл, ізо-пропіл, n-бутил, ізо-бутил, втор(sec)-бутил та аліл,

R_4 обирається з групи: водень або фармацевтично прийнятні неорганічні катіони, такі як натрій, калій та кальцій, або органічні катіони, такі як моноетаноамін, диетаноамін, диметиламіноетанол, морфолін та подібні до них,

R_5 обирається з групи: метил, етил, n-пропіл, ізо-пропіл, метокси, етокси, хлор, бром, CF_3 та OCH_2F_y ,

де

$x=0-2$,

$y=1-3$ за умови, що

$x+y=3$,

R_6 це водень, або

R_5 та R_6 є однаковими і являють собою метилendioкси, є несподівано ефективними та виявляють специфічну активність в лікуванні осіб, які страждають на аутоімунні та запальні захворювання

Сполуки загальної формули (I) можуть існувати в різних таутомерних формах і всі ці форми включені в даний винахід. В переважному втіленні винаходу R_4 є водень або натрій та R_5 є етил, метокси, хлор або бром та R_5 і R_6 є однаковими і являють собою метилendioкси, та R є етил або н-пропіл, особливо етил.

Для декількох аутоімунних захворювань людини існують експериментальні моделі, які спонтанно виникають у деяких видів лабораторних тварин або можуть бути викликані у лабораторних тварин шляхом імунізації специфічним(ий) антиген(ами) з органу-мішені.

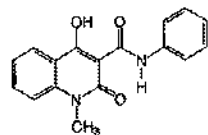
Експериментальний аутоімунний енцефаломієліт (EAE), як модель аутоімунного запального захворювання центральної нервової системи, являє собою найбільш широко розповсюджену модель для захворювання людини на розсіяний склероз.

Аутоімунітет по відношенню до колагену типу II може бути експериментально викликаний у деяких видів мишей або щурів і може призвести до розвитку поліартриту. Коллаген-індукований артрит має деякі характерні риси, спільні із захворюванням на ревматоїдний артрит у людини.

Відмінною ознакою астми у людей є підвищена реактивність дихальних шляхів до ряду хімічних та фізичних стимулів. Вважається, що продукти, які вивільняються з клітин запалення, наприклад активованих еозинофілів, компрометують цілісність епітелію і сприяють бронхіальній гіперреактивності. Домінує модель індукованого овальбумином легеневого запалення у мишей завдяки скороминущому припливу лімфоцитів та еозинофілів в бронхіальний просвіт.

Виявлено, що рохінімекс викликає синдром болі гончих (Beagle Pain Syndrome) у різних порід гончих собак (15, 16). Це захворювання характеризується клінічними та лабораторними проявами, які дозволяють розглядати його як модель грипоподібного синдрому, який рохінімекс викликає у людини. Сполуки загальної формули (I) були випробувані на здатність інгібувати EAE у мишей. Рохінімекс був використаний як контроль лікування і продемонстрував інгібвання на 70% в дозі 5мг/кг. Дивовижні та неочікувані результати були отримані при введенні відповідного замісника в положення 5 хінолінового кільця, наприклад 5-хлор. Порівняно з рохінімексом, ефективність зросла в 100 разів. Заміщення в положеннях 6, 7 та 8 привело до менш активних сполук. Загалом, активність EAE, яка оцінювалася за ступенем інгібвання EAE, знижувалася в наступному порядку відповідно положенню замісника 5>6>7>8. Вплив заміщення в положенні 5 може бути великою мірою прояснений на фізико-хімічному рівні. Крім

того, заміщення метильної групи при карбоксамідному азоті на етильну або подальше подовження алкільної групи до пропильного або бутильного радикалу гасить тератогенний вплив рохінімексу на щурів і значно зменшує синдром болі гончих (Beagle Pain Syndrome). З іншого боку, заміна R -групи з алкїлу на водень зменшує водорозчинність при фізіологічних значеннях pH більш ніж в 10^5 разів. Заміна алкільної групи також вплинула на фармакокінетичні властивості. Наприклад, порівняно з рохінімексом кліренс (Cl) сполуки A у собак був у 800 разів вищий.

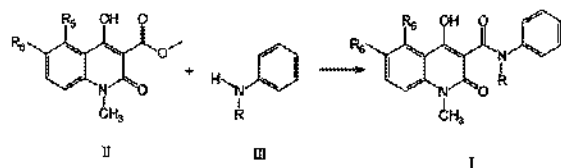


Сполука А

Показники розчинності та фармакокінетичні параметри значно зменшують корисний ступінь активності цього класу ($R=H$) сполук. Тож, сполуки формули (I) несподівано виявилися хімічно та фармакологічно відмінними від тих лікарських засобів, які раніше застосовувалися для лікування розсіяного склерозу та його проявів.

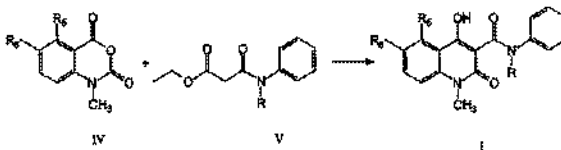
Сполуки загальної формули (I) одержані наступними способами.

Спосіб А



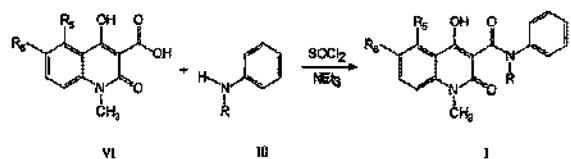
Сполуки формули (I) можуть бути одержані відомими методами, наприклад, реакцією ефірного похідного хінолінкарбоксильної кислоти (II) з аніліном (III) в придатному розчиннику, такому як толуол, ксилол і подібних до них. Придатними ефірами є метилові та етилові ефіри.

Спосіб В



Сполуки формули (I) можуть також бути одержані реакцією ізотоевого (isatoic) андريدиду (IV) з алкільним ефіром. N-алкїл-1Я-фенілкарбамоїлоцтової кислоти (V) з використанням сильного лугу, наприклад гідриду натрію в придатному розчиннику, такому як M,M-диметилацетамід. Придатними ефірами є метилові та етилові ефіри.

Спосіб С



Сполуки формули (I) можуть також бути одержані реакцією хінолінкарбоксильної кислоти формули (VI) з аніліном формули (III). Можуть бути

застосовані різні зв'язуючі (coupling) реагенти, відомі з рівня техніки, наприклад, карбодіміди, описані в Патенті США №4 547 511 Один з придатних методів використовує хлористий тіоніл в присутності триетиламіну і придатного розчинника, такого як дихлорметан Цей метод може бути використаний в окремих випадках, коли прямої взаємодії між ефіром та аніліном не відбувається Хінолінкарбоксильні кислоти формули (VI) можуть бути одержані з відповідних ефірів формули (II) шляхом кислотного гідролізу, як описано нижче Хінолінкарбоксильні ефіри (II)/ вказані вище, можуть бути одержані за способами, які наведені нижче у прикладах 5-8

Хінолінкарбоксильні кислоти (VI) можуть бути одержані за способом, який наведений нижче в прикладі 9

Всі втілення винаходу, які розкриті в формулі винаходу, при цьому включені в специфікацію

Наступні приклади покликані ілюструвати винахід, без обмеження його меж

Приклад 1

N-Етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-метокси-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід (Спосіб А)

N-Етиламініл (3,0г, 25ммоль) розчиняють у 80мл толуолу і приблизно 30мл розчинника випарюють для одержання сухого розчину До киплячого розчину додають етиловий ефір 1,2-дигідро-4-гідрокси-5-метокси-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксильної кислоти (2,7г, 10ммоль) Етанол, який утворюється під час реакції, випарюють разом з певною кількістю толуолу на протязі приблизно 4 годин Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури Осад збирають, промивають холодним толуолом та гексаном і висушують, одержуючи названу сполуку (2,8 г), вихід 80%

¹H NMR (CDCl₃) δ 1,26 (3H, t), 3,50 (3H, s), 3,97 (2H, q), 4,03 (3H, s), 6,67 (1H, d), 6,87 (1H, d), 7,12-7,25 (3H, m), 7,36-7,44 (3H, m)

¹³C NMR (CDCl₃) δ 13,0 (CH₃), 29,6 (CH₃), 43,8 (CH₂), 56,8 (CH₃), 103,2 (CH), 104,2 (C), 108,3 (CH), 110,5 (C), 127,3 (2CH), 127,4 (CH), 128,5 (2CH), 131,2 (CH), 141,1 (C), 141,9 (C), 156,9 (C), 157,1 (C), 160,2 (C), 164,4 (C)

ESI MS/MS [M+H]⁺ 353, фрагменти 232 та 122

Практично в той самий спосіб одержані з відповідних вихідних матеріалів наступні сполуки

N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-1,5-диметил-4-гідрокси-2-оксохінолін-3-карбоксамід

¹H NMR (CDCl₃) δ 1,21 (3H, t), 2,83 (3H, s), 3,23 (3H, s), 3,98 (2H, q), 6,97 (1H, d), 7,02 (1H, d), 7,10-7,25 (5H, m), 7,39 (1H, t), 13,08 (1H, s)

¹³C NMR (CDCl₃) δ 12,9 (CH₃), 24,4 (CH₃), 29,5 (CH₃), 45,9 (CH₂), 102,8 (C), 112,2 (CH), 114,3 (C), 125,5 (CH), 126,4 (2CH), 126,4 (CH), 128,4 (2CH), 131,7 (CH), 139,6 (C), 142,0 (C), 142,4 (C), 158,1 (C), 169,7 (C), 170,1 (C)

ESI MS/MS [M+H]⁺ 337, фрагменти 216 та 122

N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-хлор-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

¹H NMR (CDCl₃) δ 1,20 (3H, t), 3,28 (3H, s), 3,97 (2H, q), 7,08-7,25 (7H, m), 7,39 (1H, t), 12,6 (1H, s)

¹³C NMR (CDCl₃) δ 12,9 (CH₃), 29,8 (CH₃), 45,7 (CH₂), 105,0 (C), 112,7 (C), 113,3 (CH), 125,4 (CH), 126,7 (2CH), 126,8 (CH), 128,5 (2CH), 131,6

(CH), 132,7 (C), 142,0 (C), 142,6 (C), 157,9 (C), 165,6 (C), 168,7 (C)

ESI MS/MS [M+H]⁺ 357, фрагменти 236 та 122

N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-фтор-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

¹H NMR (CDCl₃+TFA) δ 1,28 (3H, t), 3,66 (3H, s), 3,93-4,05 (2H, m), 7,11 (1H, q), 7,26-7,37 (6H, m), 7,68 (1H, q), 11,42 (1H, s)

¹³C NMR (CDCl₃+TFA) δ 12,6 (CH₃), 31,4 (CH₃), 46,4 (CH₂), 104,4+104,5 (C), 108,7 (C), 110,4 + 110,5 (CH), 112,7+112,8 (CH), 126,8 (2CH), 129,7 (CH), 129,8 (2CH), 134,1+134,2 (CH), 139,9 (C), 141,0 (C), 158,0 (C), 159,3+161,3 (C), 161,4 (C), 166,8 (C) (деякі піки являють собою дублети внаслідок F-зчеплення)

ESI MS/MS [M+H]⁺ 341 фрагменти 220 та 122

N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-трифторметил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

¹H NMR (CDCl₃+TFA) δ 1,21 (3H, t), 3,30 (3H, s), 3,99 (2H, q), 7,10-7,25 (5H, m), 7,42 (1H, d), 7,60 (1H, t), 7,67 (1H, d), 13,05 (1H, s)

¹³C NMR (CDCl₃+TFA) δ 12,5 (CH₃), 31,1 (CH₃), 46,2 (CH₂), 106,4 (C), 113,0 (C), 119,5 (CH), 120+122,2+124,4 (CF₃), 123,4 (CH), 126,6 (2CH), 128,1 (CH), 128,1+128,3 (C), 129,1 (2CH), 132,1 (CH), 140,5 (C), 141,4 (C), 159,3 (C), 163,7 (C), 167,8 (C)

ESI MS/MS [M+H]⁺ 391 фрагменти 270 та 122

N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-трифторметокси-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

N-аліл-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-хлор-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

¹H NMR (CDCl₃) δ 3,33 (3H, s), 4,57 (2H, m), 5,22 (1H, d), 5,38 (1H, d), 6,0 (1H, m), 7,13-7,30 (7H, m), 7,44 (1H, t), 12,45 (1H, s)

N-аліл-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-метокси-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

¹H NMR (CDCl₃) δ 3,52 (3H, s), 4,04 (3H, s), 4,52 (2H, m), 5,20 (1H, d), 5,37 (1H, d), 6,02 (1H, m), 6,67 (1H, d), 6,88 (1H, d), 7,10-7,23 (3H, m), 7,38-7,45 (3H, m), 9,82 (1H, s)

N-феніл-N-н-пропіл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-метокси-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

¹H NMR (CDCl₃) δ 1,0 (3H, t), 1,65 (2H, m), 3,48 (3H, s), 3,9 (2H, t), 4,01 (3H, s), 6,65 (1H, d), 6,83 (1H, d), 7,1-7,25 (3H, m), 7,3-7,45 (3H, m), 9,8 (1H, s)

Приклад 2

N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-хлор-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

(Спосіб В)

5-Хлорізатоевий (5-Chloro isatoic) ангдрид (5г, 25ммоль) розчиняють в 50мл N,N-диметилацетаміду та охолоджують до 0°C Після цього додають натрію гідрід (75%) (0,94г, 1,1 еквівалент) і метилйодид (1,89мл, 1,2 еквівалент) щоб підтримати температуру нижче 5°C Реакційну суміш перемішують при 20°C на протязі 5 годин, після чого метилйодид, який залишився, видаляють під вакуумом Гідрід натрію (0,94г, 1,1 еквівалент) додають разом з етиловим ефіром N-етил-N-фенілкарбамоїлоцтової кислоти (6,3г, 1,1 еквівалент) Суміш нагрівають до 85°C і витримують протягом 5 годин Після охолодження до кімнатної

температури додають 50 л метанолу та 50мл 1М хлористоводневої кислоти і після цього додають 250мл води. Утворюється емульсія, яка кристалізується при стоянні в холодильнику на протязі 72 годин. Кристалічну масу збирають шляхом фільтрації, промивають водою, сумішю води з метанолом (1:1) та гептаном і висушують, одержуючи названу сполуку (6,12г). Названу сполуку перекристалізують з метанолу з чистотою > 95%.

Приклад 3

N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-бром-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

(Спосіб С)

До охолодженого льодом розчину 1,2-дигідро-4-гідрокси-5-бром-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксильної кислоти (9,6г, 0,032моль), триетиламіну (15,5мл, 0,11моль) та N-етиланіліну (4,2г, 0,035моль) у 150мл дихлорметану додають по краплях протягом 0,5 години розчин хлористого тіонілу (3,0мл, 0,042моль) у 10мл дихлорметану. Перемішування продовжують протягом 24 годин при 4°C. Розчинники випарюють. Залишок розчиняють в етилацетаті, фільтрують крізь броміліперит (celite) та екстрагують 2М натрію гідроксидом. Водну фазу промивають етилацетатом і потім підкислюють хлористоводневою кислотою до pH 5. При стоянні утворюється кристалічний осад, який відфільтровують, промивають водою та висушують з одержанням названої сполуки (8,5г), вихід 69%.

¹H NMR (CDCl₃) δ 1,15-1,22 (3H, широкий сигнал), 3,25 (3H, s), 3,95 (2H, s, широкий), 7,08-7,31 (7H, m), 7,43-7,50 (1H, m).

Практично в той самий спосіб одержані з відповідних вихідних матеріалів наступні сполуки.

N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5,6-метилендіокси-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

¹H NMR (CDCl₃+TPA) δ 1,27 (3H, t), 3,57 (3H, s), 3,98 (2H, q), 6,23 (2H, s), 6,86 (1H, d), 7,19 (1H, d), 7,25-7,35 (5H, m), 10,3 (1H, s, широкий).

¹³C NMR (CDCl₃+TFA) δ 12,4 (CH₃), 30,9 (CH₃), 46,0 (CH₂), 101,6 (C), 103,7 (CH₂), 107,4 (C), 108,4 (CH), 113,7 (CH), 126,7 (2CH), 128,8 (CH), 129,3 (2CH), 134,1 (C), 140,1 (C), 143,1+143,2 (2C), 157,3 (C), 160,9 (C), 166,3 (C).

ESI MS/MS [M+H]⁺ 367, фрагменти 246 та 122
N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-етил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

¹H NMR (CDCl₃) δ 1,26 (3H, t), 1,31 (3H, t), 3,20-3,34 (5H, m), 4,0 (2H, q), 7,02-7,07 (2H, m), 7,13-7,28 (5H, m), 7,44 (1H, t), 13,2 (1H, s, широкий).

¹³C NMR (CDCl₃) δ 13,2 (CH₃), 16,8 (CH₃), 29,8+30,2 (CH₂+CH₂), 46,1 (CH₂), 103,3 (C), 112,5 (CH), 113,9 (C), 124,8 (CH), 126,7+126,7 (3CH), 128,6 (2CH), 132,1 (CH), 142,3 (C), 142,6 (C), 146,2 (C), 158,3 (C), 169,3 (C), 170,4 (C).

ESI MS/MS [M+H]⁺ 351, фрагменти 230 та 122
N-феніл-N-ізопропіл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-хлор-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

¹H NMR (CDCl₃) δ 1,24 (6H, d), 3,38 (3H, s, широкий), 5,09 (1H, широкий сигнал), 7,08 (1H, d), 7,15 (1H, d), 7,15-7,34 (5H, m), 7,34 (1H, t), 11,1 (1H, s, широкий).

¹³C NMR (CDCl₃) δ 21,0 (2CH₃), 29,9 (CH₃), 48,2 (CH), 109,4 (C), 112,4 (C), 113,5 (CH), 125,1

(CH), 127,9 (2CH), 127,9 (CH), 129,6 (2CH), 131,1 (CH), 131,6 (C), 137,9 (C, широкий), 142,1 (C), 158,6 (C), 160,6 (C), 167,5 (C).

N-феніл-N-(n-пропіл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-хлор-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

¹H NMR (CDCl₃) δ 0,95 (3H, t), 1,58-1,59 (2H, m), 3,29 (3H, s, широкий), 3,88 (2H, широкий), 7,08-7,26 (7H, m), 7,41 (1H, t), 12,5 (1H, s, широкий).

Приклад 4

N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-хлор-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід натрієва сіль

Розчин 5М натрію гідроксиду одержують шляхом розведення 50% (по масі) розчину натрію гідроксиду (10,0г) стерильною водою до загального об'єму 25мл. N-Етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-хлор-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід (10,0г) суспендують в етанолі (150мл) та додають попередньо приготований 5М розчин натрію гідроксиду до pH 8-12 (5,6мл). Реакційну суміш перемішують протягом 30 хвилин при температурі навколишнього середовища. Осад, що утворюється, відфільтровують і двічі швидко промивають етанолом (2x150мл). Після цього осад висушують під вакуумом над P₂O₅ з одержанням названої сполуки (9,5г), вихід 90%.

¹H NMR (D₂O) Два ізомери в співвідношенні 1:4 δ 1,90 (3H, t, менша форма), 1,10 (3H, t, більша форма), 3,21 (3H, s, більша форма), 3,50 (3H, s, менша форма), 3,50-3,70 (2H, m, менша форма), 3,70-3,85 (2H, m, більша форма), 6,92-7,51 (8H, m, обидві форми).

Приклад 5

Етиловий ефір 1,2-дигідро-4-гідрокси-5-хлор-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксильної кислоти

Фосген (51г, 0,52моль), розчинений в діоксані (150мл), додають порціями до механічно перемішуваної суспензії натрію бікарбонату (44г, 0,52моль) та 2-аміно-6-хлорбензойної кислоти (30г, 0,175моль) в діоксані (300мл). Відбувається бурна реакція з виділенням газу, після цього реакційну суміш охолоджують до температури нижче 50°C і витримують протягом 30 хвилин. Після цього реакційну суміш витримують протягом 1 години при 50°C. Після охолодження до 15°C утворюється осад, який збирають, змішують з 50мл льодяної оцтової кислоти в 500мл води, знову збирають і висушують, одержуючи ізоетовий (isatoic) ангідрид (30,3г, 0,15моль).

Ангідрид повільно додають порціями до суміші натрію гідроксиду (5,5г, 0,18моль) в 300мл N,N-диметилформаміду. Після перемішування протягом 1 години при кімнатній температурі по краплях додають метилйодид (26г, 0,18моль) і продовжують перемішування протягом 2,5 годин. Після цього суміш додають до 3л суміші лід/вода і осад збирають та висушують, одержуючи N-метильований ізоетовий (isatoic) ангідрид (24,9г, 0,118моль).

N-Метильований ангідрид нагрівають до 65°C з натрію метилатом (6,3г, 0,117моль) в 130мл метанолу протягом 1 години. Розчинник випарюють. Додають воду та дихлорметан і відокремлюють органічний шар, висушують та концентрують до отримання маслянистого залишку (22,7г, 0,114моль).

Вищезазначений залишок розчиняють в 300мл дихлорметану разом з 4-амінопіридином (0,2г) та

триетиламіном (7,1мл) Розчин охолоджують і повільно додають етилмалонілхлорид (18,9г, 0,125моль) Суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 4 годин і продовжують перемішування (worked up) до одержання сиропу До цього сиропу додають 450мл етанолу та метилат натрію (18,5г, 0,342моль) і суміш перемішують протягом 3 годин Розчинники випарюють і залишок розчиняють в 750мл води, промивають етилацетатом і толуолом і після цього підкислюють 5М хлористоводневою кислотою Одержаний осад збирають і висушують, одержуючи названу сполуку у вигляді білого порошку (30г, 0,106моль), загальний вихід 80%

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1,46 (3H, t), 3,63 (3H, s), 4,49 (2H, q), 7,23 (1H, d), 7,27 (1H, d), 7,49 (1H, t), 15,0 (1H, s)

Практично в той самий спосіб одержані з відповідних вихідних матеріалів наступні сполуки
етиловий ефір 1,2-дигідро-4-гідрокси-5-фтор-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксильної кислоти
етиловий ефір 1,2-дигідро-4-гідрокси-1,5-диметил-2-оксохінолін-3-карбоксильної кислоти

Приклад 6

Етиловий ефір 1,2-дигідро-4-гідрокси-5-трифторметил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксильної кислоти

2-Фтор-6-(трифторметил)бензонтрил (10г, 53ммоль) нагрівають до 40°C у безводному метиламіні (200мл) в автоклаві протягом 2 днів Надлишку метиламіну дають випаритися і одержану сиропу тверду речовину розчиняють в дихлорметані (200мл) разом з 4-амінопіридином (0,1г) і триетиламіном (3,3мл, 26ммоль) До цього охолодженого розчину повільно додають етилмалонілхлорид (8,8г, 60ммоль) Розчин перемішують протягом 4 годин і після цього продовжують перемішування (worked up) до одержання жовтуватого сиропу Сироп розчиняють в 100мл безводного етанолу і додають метоксид натрію (5,4г, 0,1моль) Через 1 годину розчинник видаляють і залишок обробляють дихлорметаном та водою Похідне хіноліну, яке утворюється, обережно висушують і потім суспендують в охолоджену безводному тетрагідрофурані (250мл) Повільно додають гідрид натрію (4г, 0,125моль) і потім метилйодид (10мл, 0,15моль) Суміш нагрівають із зворотнім холодильником протягом 6 годин, охолоджують водою і обробляють диетиловим ефіром Розчинники видаляють і залишок (17,3г) розчиняють в суміші етанолу (50 мл) та концентрованої хлористоводневої кислоти (10мл) Розчин витримують протягом ночі при температурі 45°C , охолоджують і осад збирають, одержуючи названу сполуку (8г)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1,46 (3H, t), 3,63 (3H, s), 4,50 (2H, q), 7,58 (1H, m), 7,71 (2H, m), 15,0 (1H, s)

Приклад 7

Етиловий ефір 1/2-дигідро-4-гідрокси-5-метокси-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксильної кислоти

До розчину 2,6-дифторбензонтрилу (42г, 0,3моль) в 150мл безводного метанолу повільно додають при 30°C метилат натрію (17,9г, 0,33моль) Після початкового нагрівання протягом 1 години із зворотнім холодильником додають водний 40% метиламін (133мл, 1,2моль) і розчин

киплять із зворотнім холодильником на протязі 4 днів Після охолодження утворюється білий осад, який збирають шляхом фільтрації Тверду речовину, 2-метокси-6-(метиламіне)бензонтрил розчиняють у водному розчині етилендіоксиду (500мл) та каплію гідроксиду (14г) Розчин нагрівають із зворотнім холодильником при 150°C протягом ночі, охолоджують до кімнатної температури і підкислюють концентрованою хлористоводневою кислотою до pH 4 Осад збирають фільтрацією, промивають водою (50мл) і висушують під вакуумом Білу тверду речовину, 5-метоксиантранілову кислоту (32г, 0,18моль) та натрію бикарбонат (38г, 0,45моль) суспендують в 1,4-діоксані (500мл) і потім повільно додають фосген (25мл, 0,45моль) за умов охолодження в льодяній бані Суміш нагрівають до 40°C і витримують протягом 1 години, охолоджують до 15°C , додають воду (150мл) і після цього білу тверду речовину збирають шляхом фільтрації Після обережного висушування тверду речовину (20,7г, 0,1моль) додають при кімнатній температурі до розчину натрію диетиламмонату (0,17моль) у безводному N,N-диметилформаміді (250мл) Розчин нагрівають до 100°C і витримують при цій температурі 3 години, охолоджують до кімнатної температури, додають воду (250мл) і підкислюють концентрованою хлористоводневою кислотою до pH 4 Осад збирають шляхом фільтрації і висушують під вакуумом, одержуючи названу сполуку у вигляді чистих білих кристалів (22г)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1,43 (t, 3H), 3,62 (s, 3H), 3,96 (s, 3H), 4,45 (q, 2H), 6,70 (d, 1H), 6,92 (d, 1H), 7,55 (t, 1H), 13,5 (s, 1H)

Приклад 8

Етиловий ефір 1,2-дигідро-4-гідрокси-1-метил-2-оксо-5,6-метилендіокси-хінолін-3-карбоксильної кислоти

Ди-трет-бутилдикарбонат (38г, 0,17моль) додають порціями до розчину 3,4-(метилендіокси)аніліну (20,6г, 0,15моль) у безводному тетрагідрофурані (150мл) Розчин нагрівають із зворотнім холодильником протягом 2 годин, потім концентрують під вакуумом з одержанням твердого залишку чорного кольору Цей залишок розчиняють у безводному тетрагідрофурані (600 мл) і охолоджують до -40°C По краплях додають 1,3М розчин втор(сес)-бутиллітїю (265мл, 0,35моль) в гексані

Після перемішування розчину протягом 0,5 години при -40°C додають гранули сухого льоду (са 40г) Суміш дозволяють нагрітись до 0°C і додають воду (са 700мл) Водний розчин підкислюють хлористоводневою кислотою до pH 3 і екстрагують ефіром Екстракти висушують і концентрують до одержання N-тБос захищеної 5,6-(метилендіокси)антранілової кислоти у вигляді твердого залишку (45г) Цю кислоту додають до охолодженої льодом суспензії натрію гідриду (80% в олії, 9,0г, 0,30моль) у N,N-диметилформаміді (200мл) Суміш перемішують протягом 0,5 години і додають метилйодид (22мл, 0,35моль) Суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі, охолоджують водою (600мл) і тричі екстрагують ефіром Органічний шар промивають насиченим розсолон, висушують і концентрують під вакуумом до одержання темно-коричневої олії Олію

розчиняють в метанолі (400мл) і додають концентровану хлористоводневу кислоту (80мл). Розчин перемішують протягом ночі при кімнатній температурі, нейтралізують 5М натрію гідроксидом і тричі екстрагують ефіром. Комбіновані екстракти фільтрують крізь колонку з SiO_2 і елюат концентрують під вакуумом з одержанням метилізованого ефіру антранілової кислоти (20 г). Ефір розчиняють в дихлорметані (400мл) та охолоджують на льодяній бані. Додають етилмалонілхлорид (21г, 0,14моль) і через 30 хвилин після цього додають триетиламін (22мл, 0,16моль). Після перемішування протягом 1 години при кімнатній температурі мутну суміш промивають 0,5М хлористоводневою кислотою і після цього бікарбонатом. Органічну фазу обережно висушують і концентрують під вакуумом. Після цього залишок розчиняють в сухому етанолі (200мл) і додають натрію метилат (17г, 0,32моль). Суміш перемішують протягом 1 години і додають воду (300 мл). Розчин промивають етилацетатом і після цього водний розчин підкислюють концентрованою хлористоводневою кислотою. Осад збирають шляхом фільтрації і висушують під вакуумом, одержуючи названу сполуку у вигляді сірих кристалів (17г), загальний вихід 41%.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1,45 (3H, t), 3,58 (3H, s), 4,48 (2H, g), 6,17 (2H, s), 6,71 (1H, d), 7,14 (1H, d)

Приклад 9

1,2-Дипро-4-гідрокси-5-метокси-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксильна кислота

10мл концентрованої хлористоводневої кислоти додають при охолодженні до 30мл оцтового ангидриду. До цього розчину додають етиловий ефір 1,2-дипро-4-гідрокси-5-метокси-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксильної кислоти (10,5г, 38ммоль), суміш нагрівають до 80°C і витримують при цій температурі протягом 14 годин. Далі суміш охолоджують до кімнатної температури і відфільтровують кристалічний продукт, промивають холодним метанолом і висушують з одержанням названої сполуки (7,2г), вихід 77%.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 3,73 (3H, s), 4,02 (3H, s), 6,82 (1H, d), 7,02 (1H, d), 7,62 (1H, t)

Приклад 10

5-Етилізатовий (5-Ethylisatoic) ангидрид

Суміш хлорангідрату (59,3г, 0,36моль), води (700мл) і натрію сульфату (85,8г, 0,60моль) нагрівають до 50°C. Коли температура 50°C досягнута, послідовно додають суміш 3-етиланліну (40,8г, 0,33моль), води (700мл) і концентрованої хлористоводневої кислоти (33,6мл) та суміш гідроксиаміну гідрохлориду (74,8г, 1,04моль) і води (330мл). Отриману суміш нагрівають до 80°C протягом 30 хвилин і витримують при цій температурі ще 10 хвилин перед тим, як охолодити реакційну суміш у льодяній бані. Одержаний осад відфільтровують, промивають водою і висушують під вакуумом над P_2O_5 з одержанням ізонтрозоацетанлідіду (36,6г), вихід 58%. Ізонтрозоацетанлідід (10,0г, 0,05моль) порціями додають до попередньо нагрітої до 50°C суміші води (9мл) і концентрованої сірчаної кислоти (60мл), підтримуючи температуру 50-55°C. По закінченні додавання суміш нагрівають до 80°C і витримують при цій температурі 10 хвилин. Після цього реакційну суміш охолоджують на льодяній

бані і виливають на подрібнений лід, кількість якого в 10-12 разів перевищує об'єм реакційної суміші. Суміш залишають стояти приблизно на 1 годину. Водну суспензію екстрагують дихлорметаном, який далі висушують і випарюють з одержанням суміші двох ізомерів - 4-етил- та 6-етилізатинів у співвідношенні приблизно 0,68 : 1 (7,6г), вихід 84%.

Суміш двох ізомерів розчиняють у водному натрію гідроксиді, розчин фільтрують крізь броун-міллерит (celite) і після цього підкислюють до pH 4. 4-Ізомер при цьому значенні pH екстрагують в дихлорметан, який потім висушують і випарюють, одержуючи чистий 4-етилізатин (3,1г), вихід 34%. 4-Етилізатин (3,1г, 0,018моль) додають до суміші концентрованої сірчаної кислоти (45л) та оцтової кислоти (14мл). Суспензію нагрівають до 30°C, додають пероксид водню 35% (2,2мл) і після додавання піднімають температуру до 65°C. Після нагрівання на протязі 3 годин суміш охолоджують і осад відфільтровують, промивають водою і висушують, одержуючи названу сполуку (1,7г), вихід 48%.

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 1,12 (3H, t), 3,02 (2H, q), 6,98 (1H, d), 7,05 (1H, d), 7,58 (1H, t), 11,6 (1H, широкий)

Фармакологічні методи

Гострий експериментальний аутоімунний енцефаломієліт

Для експерименту використовують мишей-самок SJL/N, віком 8 тижнів. Гомогенат спинного мозку миші отримують від мишей-самок C57B1/6 віком 8-12 тижнів. Тканину гомогенізують на льоді і розводять в холодний сплин, буферизований фосфатом (PBS). Неповний ад'ювант Фрейнда, що містить 1мг/мл *M. tuberculosis hominis* H37Ra емульгують з рівним об'ємом гомогенату спинного мозку миші з одержанням кінцевої концентрації гомогенату спинного мозку миші 10мг/мл. Прищепний матеріал в об'ємі 0,1мл ін'єкційним шляхом вводять мишам внутрішньошкірно біля основи хвоста. Токсин коклюшу вводять внутрішньочеревно на 0-й та 3-й день після імунізації. Лікування проводять перорально щоденно з 3-го по 12-й день після імунізації або з 3-го по 7-й день, та з 10-го по 12-й. Контрольні тварини отримують сплину. Тварин, в групах по 8 на кожну дозу, обстежують на наявність клінічних ознак паралічу за шкалою від 0 до 5 наступним чином: 0 - норма, 1 - слабкий хвіст, 2 - парез задніх кінцівок, 3 - параліч задніх кінцівок і слабкі передні ноги, 4 - білатеральний параліч передніх і задніх кінцівок, 5 - смерть. Клінічні ознаки оцінюють на 7-й день і щоденно, починаючи з 9-го дня і до кінця експерименту на 14-й день. Ефект лікування розраховують як відсоток інгібування клінічних балів, порівняно з контрольними тваринами, які отримували сплину.

Коллаген-індукований артрит

Для експерименту використовують мишей-самців DBA/1 віком 8-10 тижнів. В 0-й день мишей імунізують внутрішньошкірно біля основи хвоста бичачим колагеном типу II (100мкг/мишу) в повному ад'юванті Фрейнда. Лікування проводять перорально, з 3-го дня по 7-й, з 10-го по 14-й, з 17-го по 21-й, з 24-го по 28-й і з 31-го по 35-й. Через 15 днів після імунізації мишей оглядають на предмет ознак артриту. Тварин оглядають 3 рази на тиж-

день Кожний 2-й або 3-й день окремі лапи тварин з артритом оцінюють за шкалою від 0 до 4 (0 - немає артриту, 1 - артрит одного з міжфалангових, плеснофалангових, або міжзап'ястних суглобів, 2 - артрит 2-х суглобів, 3 - артрит трьох суглобів, 4 - так само, як і 3, але з більш вираженим почервонінням та опуханням лапи) Кількість балів для кожної лапи додають з одержанням максимально допустимого балу 16 для кожної миші

Овальбумін-індуковане запалення легенів

Для експерименту використовують мишей-самок C57B1/6 віком 10-14 тижнів, по 10 мишей в групі Мишей сенсibilізують овальбуміном на алюмінію гідроксиді в об'ємі 0,2мл, прищепленням внутрішньочеревинно Лікування проводять з 0-го по 16-й день Контрольні тварини отримують слину Через 14 днів після сенсibilізації овальбуміном мишей піддають 20-хвилинному впливу аерозолі з 1,5% (по масі) розчину овальбуміну в слині, одержаного за допомогою розпилювача Контрольних мишей піддають впливу розчинника (слини) Через 72 години після впливу овальбуміну/слини мишей піддають анестезії і здійснюють бронхоальвеолярний лаваж шляхом двократно інстиляції 0,5мл охолодженої льодом слини, буферизованої фосфатом, в легені Визначають загальну кількість клітин, а також кількість еозинофілів, моноцитів/альвеолярних макрофагів, лімфоцитів та нейтрофілів Інфільтрацію еозинофілів в легеневу тканину оцінюють цитохімічними методами на заморожених секціях легенів з використанням діа-

мінобензидину тетрагідрохлориду

Тератогенний вплив на щурів

Сполуки вводять підшкірно щурам-самкам протягом 8-14 днів вагітності На 20-й день після запліднення щурам здійснюють кесарів розтин і тварин умертвляють Плоди вивчають на наявність зовнішніх і внутрішніх вад

Синдром болі гончих (Beagle Pain Syndrome, BPS) Сполуки вводять внутрішньовенно гончим собакам Загальну дозу вводять протягом 5 послідовних днів Собак оцінюють на наявність клінічних та лабораторних ознак больового синдрому, наприклад, лихоманка, підвищення швидкості осідання еритроцитів, лужна фосфатаза, індукція протеїнів гострої фази та васкуліт

Переважаючими сполуками є N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-хлор-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід, N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-метокси-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід, N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-бром-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід та N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5,6-метилендіокси-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід, які далі будуть називатися відповідно Сполуками В, С, D та Е Рохінімекс, а також N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід та N-метил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-хлор-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід, які далі будуть називатися відповідно Сполуками F та G, були включені як сполуки порівняння

Інгибування гострого експериментального аутоімунного енцефаломієліту

Доза, мг/кг перорально	% інгибування гострого експериментального аутоімунного енцефаломієліту			
	Сполука В (винахід)	Сполука С (винахід)	Сполука F (винахід)	Рохінімекс
0,04	60	48	не вивчалася	не вивчався
0,2	74	71	не вивчалася	35
1	98	73	не вивчалася	40
5	96	90	63	69

Бали артриту (артрит, індукований колагеном II типу)

Сполука (доза 5 мг/кг перорально)	Захворюваність (%), 35-й день	Середній бал, 35-й день
D (винахід)	30	0,4
E (винахід)	10	0,1
Рохінімекс	50	1,7

Ембріотоксичність - зовнішні вади

Доза, мг/кг	% плодів з вадами (шлях введення)		
	Сполука В (винахід)	Сполука G	Рохінімекс
6	0 ^{a)}	37 ^{a)}	
10			9 ^{b)}
30	1 ^{a)}	не вивчалася	30 ^{b)}

a) підшкірний шлях введення

b) пероральний шлях введення

Ефективні кількості сполук формули (I) переважно вводять пацієнту, який потребує такого лікування, згідно загальноприйнятих способів введення та включеними у звичайні фармацевтичні композиції, які складаються з ефективною кількістю активного

інгредієнту та придатного фармацевтичного носія Такі композиції можуть набувати багатьох форм, наприклад розчини, суспензії, емульсії, таблетки, капсули і порошки для перорального введення, стерильні розчини для парентерального введення,

супозиторії для ректального введення або придатні рецептури для місцевого застосування. Загальноприйняті процедури вибору та виготовлення придатної фармацевтичної рецептури (формули) описані, наприклад, в "Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Design", M B Aulton, Churchill Livingstone, 1988.

Під придатною денною (добовою) дозою для використання в лікуванні розсіяного склерозу мається на увазі доза, яка знаходиться в межах від 0,0005мг/кг до приблизно 10мг/кг маси тіла, особливо між 0,005мг/кг та 1мг/кг маси тіла, в залежності від специфічних умов лікування, віку та ваги окремого пацієнта і індивідуальної відповіді (реакції) пацієнта на лікування. Точна індивідуальна доза, так само як і денна (добова) доза, визначається відповідно стандартних медичних принципів за призначенням лікаря. Мається на увазі використання різних добавок, які збільшують стабільність або полегшують введення лікарського засобу. Фармацевтична композиція може також містити додаткові терапевтичне корисні субстанції, інші, ніж сполуки формули (I).

Посилання

- 1 Talal, N. Autoimmune diseases. In: Rott, I. M. and Delves, P. J. (eds) *Encyclopedia of Immunology*, pp 195-198. Academic Press, 1992.
- 2 Prineas J. W. The neuropathology of multiple sclerosis. In: Koetsier, J. C. (ed) *Handbook of Clinical Neurology*, pp 213-257. Elsevier Science Publ., Amsterdam, 1985.
- 3 Tarkowski, A., Gunnarsson, K., Nilsson, L.-A., Lindholm, L. and Stalhandske, T. Successful treatment of autoimmunity in MRL/l mice with LS2616, a new immunomodulator. *Arthritis Rheum* 29(11): 1405-1409, 1986.
- 4 Larsson, E.-L., Joki, A.-L. and Stalhandske, T. Mechanism of action of the new immunomodulator LS2616 on T-cell responses. *Int J Immunopharmacol* 9(4): 425-31, 1987.
- 5 Wanders, A., Larsson, E., Gerdin, B. and Tufveson, G. Abolition of the effect of cyclosporine on rat cardiac allograft rejection by the new immunomodulator LS-2616 (Linomide). *Transplantation* 47(2): 216-217,

1989.

- 6 Kalland, T. Regulation of natural killer progenitors: studies with a novel immunomodulator with distinct effects at the precursor level. *J Immunol* 144(11): 4472-4476, 1990.

- 7 Gonzalo, J. A., Gonzalez-Garcia, A., Kalland, T., Hedlund, G., Martinez, C. and Kroemer, G. Linomide, a novel immunomodulator that prevents death in four models of septic shock. *Eur J Immunol* 23: 2372-2374, 1993.

- 8 Karussis, D. M., Lehmann, D., Slavin, S. et al. Treatment of chronic-relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis with the synthetic immunomodulator Linomide (quinoline-3-carboxamide). *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 6400-6404, 1993.

- 9 Gonzalo, J. A., Gonzalez-Garcia, A., Kalland, T. et al. Linomide inhibits programmed cell death of peripheral T-cells in vivo. *Eur J Immunol* 24: 48-52, 1994.

- 10 Gross, D. J., Sidi, H., Weiss, L., Kalland, T., Rosenmann, E. and Slavin, S. Prevention of diabetes mellitus in non-obese diabetic mice by Linomide, a novel immunomodulating drug. *Diabetologia* 37: 1195-1201, 1994.

- 11 Karussis, D. M., Lehmann, D., Brenner, T. et al. Immunomodulation of experimental autoimmune myasthenia gravis with Linomide. *J Neuroimmunol* 55(2): 187-193, 1994.

- 12 Bai, X. F., Shi, F. D., Zhu, J., Zhao, B. G., Hedlund, G. and Link, H. Linomide-induced suppression of experimental autoimmune neuritis is associated with down-regulated macrophage functions. *J Neuroimmunol* 76: 177-184, 1997.

- 13 Karussis, D. M., Meiner, Z., Lehmann, D. et al. Treatment of secondary progressive multiple sclerosis with the immunomodulator Linomide. *Neurology* 47: 341-346, 1996.

- 14 Andersen, O., Lycke, J., Tolleson, P. O. et al. Linomide reduces the rate of active lesions in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurology* 47: 895-900, 1996.

- 15 Kelly, D. F., Grimsell, C. S. G. and Kenyon, C. J. Polyarteritis in the dog: A case report. *Vet Record* 92: 363-366, 1973.
- 16 Harcourt, R. A. Polyarteritis in a colony of beagles. *Vet Record* 102: 519-522, 1978.