

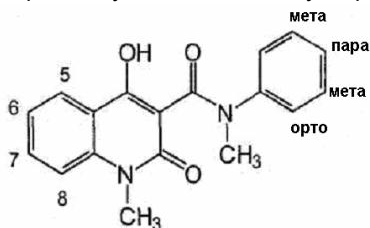
Даний винахід стосується нових похідних хіноліну з тіозамісником в положенні 5, способів їх одержання, композицій на їх основі, а також способів їх використання для клінічного лікування аутоімунних захворювань, таких як розсіяний склероз, інсулінзалежний цукровий діабет, системний червоний вовчак, ревматоїдний артрит, запальне захворювання кишечника (inflammatory bowel disease) та псоріаз і, крім того, захворювань, в яких головну роль відіграє патологічне запалення, таких як астма, атеросклероз, удар (stroke) 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 (inflammatory bowel disease) та псоріаз являють собою напади імунної 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 імунологічно активних клітин, таких як макрофаги та активовані Т-клітини (2).

В заявці WO 92/18483 заявлені похідні хіноліну, заміщені групою $R_nS(O)_n$ (R_n = нижчий алкіл або арил; $n=0-2$), як сполуки, які здійснюють імуномодулюючий, протизапальний та протираковий вплив. Однак, вказані замісники розкриті лише для положення 6 хінолінового кільця.

Далі, 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)

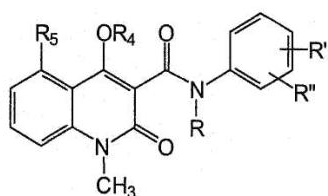
яка відома як рохінімекс (roquinimex, Merck Index 12th Ed., №8418). Рохінімекс виявив численні імуномодулюючі властивості, які не супроводжувалися загальною імуносупресією. Крім того, в Патенті США №5 580 882, Патенті США №5 594 005, заявках WO 95/24195 та WO 95/24196 похідні хінолін-3-карбоксаміду заявлені як сполуки, корисні в лікуванні станів, асоційованих з розсіяним склерозом, діабетом I типу, запальним захворюванням кишечника (inflammatory bowel disease) та псоріазом відповідно. Особлива перевага надається рохінімексу. Тип і послідовність заміщення у вищевказаних сполуках, які особливо зазначені у рівні техніки, виносить їх за межі даного винаходу.

В клінічних випробуваннях, які порівнювали рохінімекс з плацебо, рохінімекс виправдав надії на лікування станів, асоційованих з розсіяним склерозом (3, 4). Однак деякі похідні хінолін-3-карбоксаміду мають певні серйозні негативні риси. Зокрема рохінімекс 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.

Головною метою даного винаходу є створити структурно нові сполуки хінолінової структури, які завдяки перевагам їх фармакологічного профілю, високій 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, інсулінзалежний 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, такі, як астма, атеросклероз, удар (stroke) та хвороба Альцгеймера. Особливо даний винахід стосується нових похідних хіноліну, придатних для лікування, наприклад розсіяного склерозу та його проявів.

Термін "лікування", який використовується в даному винаході, включає профілактику, а також полегшення симптомів захворювання.

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



(I)

де

R обирається з групи: Me, Et, n-Pr, ізо-Pr, n-Bu, ізо-Bu, втор(sec)-Ви та аліл;

R' обирається з групи: водень, Me, MeO, фтор, хлор, бром, CF₃ та OCH_xF_y;

R'' обирається з групи: водень та фтор, за умови що R'' являє собою фтор, коли R' являє собою фтор, і далі, що коли R' та R'' обидва являють собою водень, то R не є метил.

R₄ обирається з групи: водень або фармацевтично прийнятні неорганічні катіони, такі як натрій, калій та кальцій, або органічні катіони, такі як моноетаноламін, діетаноламін, диметиламіноетанол, морфолін та подібні до них;

R₅ обирається з групи: MeS, EtS, n-PrS, ізо-PrS, MeSO, EtSO, MeSO₂ та EtSO₂;

де x=0-2;

y=1-3 за умови, що

x+y=3;

та Me - це метил, Et - етил, Pr - пропіл, Bu - бутил; є несподівано ефективними та виявляють специфічну активність в лікуванні осіб (individuals), які страждають на аутоімунні та запальні захворювання.

Сполуки загальної формули (I) можуть існувати в різних таутомерних формах і всі ці форми у випадках, коли вони існують, включені в даний винахід. Також оптичні ізомери та рацемати сполук загальної формули (I), в тих випадках, коли вони існують, включені в даний винахід.

В переважному втіленні винаходу R₄ являє собою водень або натрій та R₅ являє собою MeS або EtS;

R обирається з групи: метил, етил, пропіл;

R' обирається з групи: метокси, фтор, хлор та трифторметил, коли R'' являє собою водень та R являє собою метил;

R'' обирається з групи мета'- та пара-фтор, коли R' - це орто-фтор і R - це метил; і R' та R'' обидва являють собою водень, коли R являє собою етил або пропіл.

Серед найбільш переважних сполук загальної формули (I) згідно даного винаходу є:

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

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

N-метил-N-(4-хлорфеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід,

N-метил-N-(4-трифторметилфеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід,

N-метил-N-(2,4-дифторфеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід,

N-метил-N-(2,5-дифторфеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід,

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

N-n-пропіл-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-метилсульфініл-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід, та

N-метил-N-(2,4-дифторфеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-метилсульфініл-1-метил-2-оксохінолін-3-

карбоксамід.

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

Експериментальний аутоімунний енцефаломієліт (ЕАЕ), 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. Колаген-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 овальбуміном 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 (5, 6). 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 гострий ЕАЕ у мишей. Рохінімекс був використаний як контроль лікування і продемонстрував інгібування більш, ніж на 50% в дозі > 5мг/кг. Дивовижні та неочікувані результати були отримані при введенні відповідного замісника в положення 5 хінолінового кільця. Порівняно з рохінімексом, ефективність 5-тіометилзаміщеної сполуки зросла в 100 разів. Відповідне заміщення в положенні 6 привело до менш активних сполук, як це показано на прикладах. Крім того, відповідне ароматичне заміщення 3-карбоксамідної групи сполук загальної формули (I) значно зменшує або навіть усуває побічні ефекти рохінімексу, тобто тератогенний вплив і синдром болі гончих (Beagle Pain Syndrome). Таким чином, фізико-хімічні властивості замісника в положенні 5 хінолінового фрагмента і орто-, мета- та/або, в особливості, пара-замісника в 3-карбоксамідному фрагменті мають велике значення для

покращення співвідношення ризик/користь порівняно з рохінімексом. Також заміщення метильної групи при карбоксамідному азоті вищою алкільною групою значно зменшує побічні ефекти.

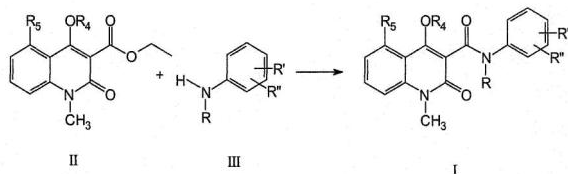
Тож, сполуки формули (I) несподівано виявилися хімічно та фармакологічно відмінними від тих лікарських засобів, які раніше застосовувалися для лікування розсіяного склерозу та його проявів.

Всі втілення винаходу, які розкриті в формулі, при цьому включені в специфікацію (опис).

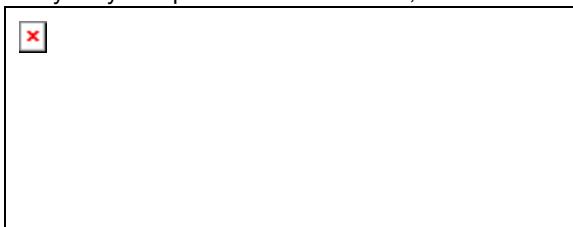
Наступні приклади покликані ілюструвати винахід, без обмеження його меж.

Сполуки загальної формули (I) можуть бути одержані за способами, відомими з літератури, а також за наступними способами:

Спосіб А:



Сполуки загальної формули (I) можуть бути одержані відомими методами і, наприклад, як показано вище, реакцією ефірного похідного хінолінкарбонової кислоти (II) з аніліном (III) в придатному розчиннику, такому як толуол, ксилол і подібних до них. Загальні методи отримання ефірних похідних хінолінкарбонової кислоти формули (II) описані нижче. N-Алкильовані аніліни формули (III) є комерційно доступними або відомі з літератури, наприклад з Johnstone et al., J.Chem. Soc, 1969, 2223-2224. Сполуки, які охоплює формула (III) можуть бути отримані за способами, які в основному аналогічні способам, описаним в літературі.



Сполуки формули (I) можуть також бути одержані реакцією хінолінкарбонової кислоти формули (IV) 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 зв'язування 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, наприклад, коли анілін містить електроноакцепторні замісники. Хінолінкарбонові кислоти формули (IV) можуть бути одержані з відповідних ефірів формули (II) шляхом кислотного гідролізу, як описано нижче.

Приклад 1

1,2-Дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбонової кислоти етиловий ефір

2,6-Дифторбензонітрил (13,2г, 0,10моль) повільно додають до розчину натрію сульфата наонагідрату (26,4г, 0,11моль) в 300мл N,N-диметилформаміду. Після перемішування розчину протягом ночі, його обробляють ефіром та 1М хлористоводневою кислотою.

Ефірну фазу обробляють 1М натрію гідроксидом і після цього водну фазу підкислюють хлористоводневою кислотою, після чого екстрагують ефір. Ефірну фазу обережно висушують і видаляють розчинник. Залишок (12,5г) додають порціями до розчину натрію

гідриду (3,8г, 0,12моль) в 300мл охолодженого N,N-диметилформаміду і після цього додають метилйодид (10мл, 0,15моль). Суміш перемішують протягом 6 годин при температурі навколишнього середовища, виливають на суміш води з льодом і одержаний осад, 2-фтор-6-тіометилбензонітрил, відфільтровують і висушують. Осад нагрівають до 40°C в 200мл безводного метиламіну в автоклаві і витримують в цих умовах протягом двох днів. Надлишку метиламіна дають можливість випаритися і одержану тверду речовину жовтого кольору (16г) розчиняють в 200мл дихлорметану разом з 4-амінопіридином (0,1г, 0,001моль) і триетиламіном (5,6мл, 0,045моль). До цього охолодженого розчину повільно додають етилмалонілхлорид (15г, 0,10моль). Розчин перемішують протягом 4 годин і продовжують перемішування до одержання жовтуватого сиропу. Сироп розчиняють в 100мл безводного етанолу і додають натрію метоксид (7,5г, 0,1 моль). Суміш витримують 1 годину, після чого видаляють розчинник і залишок обробляють дихлорметаном і водою. Похідне хіноліну, яке утворилося, суспендують в 250мл охолодженого безводного тетрагідрофурану і повільно додають натрію гідрид (5,3г, 0,175моль), після чого додають метилйодид (13мл, 0,21моль). Суміш нагрівають із зворотнім холодильником протягом 6 годин, охолоджують водою і обробляють діетиловим ефіром. Розчинники видаляють і залишок (17,3г) розчиняють в суміші 100мл етанолу та 5мл концентрованої хлористоводневої кислоти. Розчин нагрівають до 80°C і витримують при цій температурі 4 години, охолоджують, збирають осад і очищують його за допомогою хроматографії на силікагелі з одержанням названої сполуки (4г).

¹H NMR (CDCl₃) δ 1,46 (3H, t), 2,48 (3H, s), 3,62 (3H, s), 4,48 (2H, q), 6,98 (1H, d), 7,05 (1H, d), 7,52 (1H, t), 15,5 (1H, s).

Приклад 2

N-Етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

N-Етиланілін (3,0г, 0,025моль) розчиняють в 80мл толуолу і випарюють близько 30мл розчинника з метою одержання сухого розчину. Етиловий ефір 1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксильної кислоти (2,9г, 0,01моль) додають до киплячого розчину. Етанол, який утворюється в ході

реакції, випарюють разом з певною кількістю толуолу на протязі 4 годин. Суміш охолоджують до кімнатної температури. Осад збирають, промивають холодним толуолом і гексаном та висушують з одержанням названої сполуки (2,1г), вихід 57%.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1,22 (3H, t), 2,47 (3H, s), 3,35 (3H, s), 3,96 (2H, q), 7,06 (1H, d), 7,09 (1H, d), 7,14-7,26 (5H, m), 7,45 (1H, t).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ 13,0 (CH_3), 18,5 (CH_3), 29,7 (CH_3), 45,4 (CH_2), 105,2 (C), 112,1 (CH), 113,1 (C), 121,8 (CH), 126,7 (CH), 126,9 (CH), 128,5 (CH), 131,4 (CH), 138,7 (C), 142,3 (C), 158,5 (C), 165,5 (C), 168,4 (C).

ESI MS/MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 369, фрагменти 248 та 122.

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

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

N-метил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід (не включений в формулу винаходу)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2,45 (3H, s), 3,38 (3H, s), 3,48 (3H, s), 7,04 (1H, d), 7,06 (1H, d), 7,11-7,25 (5H, m), 7,43 (1H, t).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ 18,3 (CH_3), 29,8 (CH_3), 38,4 (CH_3), 104,6 (C), 112,0 (CH), 113,2 (C), 121,5 (CH), 125,7 (CH), 126,8 (CH), 128,7 (CH), 131,5 (CH), 139,1 (C), 142,3 (C), 144,2 (C), 158,7 (C), 166,0 (C), 169,1 (C).

ESI MS/MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 355, фрагменти 248 та 108.

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

N-метил-N-(4-хлорфеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід,

N-етил-N-(4-метоксифеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід,

N-метил-N-(4-метоксифеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2,43 (3H, s), 3,39 (3H, s), 3,40 (3H, s), 3,72 (3H, s), 6,72 (2H, широкий сигнал), 7,01-7,21 (4H, m), 7,44 (1H, t).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ 18,6 (CH_3), 29,9 (CH_3), 38,4 (CH_3), 55,4 (CH_3), 112,3 (CH), 113,3 (C), 113,9 (CH), 123,0 (CH), 127,1 (CH), 131,4 (CH), 137,0 (C), 138,0 (C), 142,3 (C), 158,2 (C), 158,7 (C), 169,0 (C).

ESI MS/MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 385, фрагменти 248 та 138.

Приклад 3

N-Метил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-метилсульфініл-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід (не включений в формулу винаходу)

N-Метил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід (0,14г, 0,32ммоль) розчиняють в 5мл дихлорметану. Розчин охолоджують на льодяній бані і повільно додають 70% розчин 3-хлорпероксibenзойної кислоти (83,3мг, 0,34ммоль) в 2мл дихлорметану. Після перемішування протягом 4 годин розчин розтирають з 3мл гептану і після цього осад перекристалізують з суміші етилацетату і пентану з одержанням названої сполуки (25мг).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2,79 (3H, s), 3,39 (3H, s), 3,50 (3H, s), 7,15-7,29 (5H, m), 7,35 (1H, d), 7,75 (1H, t), 8,06 (1H, d).

ESI MS/MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 371, фрагмент 264.

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

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

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

N-метил-N-(4-метоксифеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-метилсульфініл-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід,

N-метил-N-(4-хлорфеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-метилсульфініл-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід.

Приклад 4

N-Метил-N-(4-трифторметилфеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід (Спосіб B)

До охолодженого льодом розчину 1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбонової кислоти (8,5г, 0,032ммоль), триетиламіну (15,5мл, 0,11ммоль) і 4-трифторметил-N-метиланіліну (6,1г, 0,035ммоль) в 150мл метиленхлориду по краплях протягом 0,5 годин додають розчин хлористого тіонілу (3,0мл, 0,042ммоль) в 10мл метиленхлориду. Перемішування продовжують при 4°C протягом 4 годин. Розчин розводять 10мл метиленхлориду, промивають холодною 1М сірчаною кислотою і екстрагують 1М натрію гідроксидом. pH водної фази доводять до 8-8,5, її просвітлюють шляхом фільтрації і після цього підкислюють розчином хлористоводневої кислоти до pH 4. При постійні утворюється кристалічний осад, який відфільтровують, промивають водою і висушують з одержанням названої сполуки (8,5г), вихід 72%. Практично в той самий спосіб одержані з відповідних вихідних матеріалів наступні сполуки:

N-етил-N-(4-трифторметилфеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід,

N-метил-N-(4-трифторметоксифеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід,

N-етил-N-(2,4-дифторфеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід,

N-метил-N-(2,4-дифторфеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2,46 (3H, s), 3,33 (3H, s), 3,37 (3H, s), 6,63 (1H, широкий сигнал), 6,83 (1H, широкий сигнал), 6,95-7,15 (3H, m широкий сигнал), 7,45 (1H, t).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ 17,7 (CH_3), 29,8 (CH_3), 37,2 (CH_3), 103,2 (C), 104,6+104,8+105,0 (CH), 110,5 (CH), 111,3 (CH), 112,7 (C), 120,1 (CH), 128,4 (C), 128,5 (CH), 131,9 (CH), 140,6 (C), 142,6 (C), 156,9+157,0+159,0+159,1 (C), 158,4 (C), 160,6+162,6 (C), 168,0 (C), 170,4 (C); деякі піки являють собою мультиплети внаслідок F-зчеплення.

ESI MS/MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 391, фрагмент 248.

N-метил-N-(2,5-дифторфеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід та

N-метил-N-(4-трифторметилфеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-метилсульфініл-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід та

N-метил-N-(2,4-дифторфеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-метилсульфініл-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід.

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 холодній слині, буферизованій 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 хвосту. Токсин коклюшу вводять внутрішньочеревинно 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 слину. 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 слину.

Колаген-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 тиждень. 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 досяжного 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, прищепленим 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 бронхо-альвеолярний лаваж шляхом двократної 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 гістохімічними методами на заморожених секціях легенів з використанням діамінобензидину тетрагідрохлориду.

Тератогенний вплив на щурів

Сполуки вводять підшкірно щурам-самкам протягом вагітності, наприклад на 8-14-й день 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 зідання еритроцитів, лужна фосфатаза, індукція протеїнів гострої фази та васкуліт.

Серед переважних сполук — N-етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід, N-метил-N-(2,4-дифторфеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід, які далі називаються Сполуки А та В, відповідно. N-Етил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-6-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід та N-метил-N-(2,4-дифторфеніл)-1,2-дигідро-4-гідрокси-6-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід включені як сполуки порівняння і далі називаються Сполуки С та D, відповідно.

Таблиця

Інгібування гострого експериментального аутоімунного енцефаломієліту

Доза, мг/кг перорально	% інгібування гострого експериментального аутоімунного енцефаломієліту			
	Сполука А (винахід)	Сполука В (винахід)	Сполука С	Сполука D
0,04	28		0	
0,2	49	67	23	0
1		97		66

Тератогенний вплив на щурів

Незважаючи на те, що в дозі 6мг/кг/день N-метил-N-феніл-1,2-дигідро-4-гідрокси-5-тіометил-1-метил-2-оксохінолін-3-карбоксамід виявив тератогенний вплив на щурів, Сполуки А і В виявилися нетератогенними.

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, аерозолі для інгаляцій, 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) доза 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, а також від 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 терапевтично корисні субстанції, інші, ніж сполуки формули (I).

Посилання:

1. Talal, N.: Autoimmune diseases. In: Roitt, 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. Karussis, D.M., Meiner, Z., Lehmann, D. et al. Treatment of secondary progressive multiple sclerosis with the immunomodulator Linomide. Neurology 47: 341-346, 1996.
4. 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.
5. Kelly, D.F., Grimsell, C.S.G. and Kenyon, C.J. Polyarteritis in the dog: A case report. Vet Record 92: 363-366, 1973.
6. Harcourt, R.A. Polyarteritis in a colony of beagles. Vet Records 102: 519-522, 1978.