



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

233445

(11)

(B1)

(22) Přihlášeno 26 10 83
(21) (PV 7872-83)

(51) Int. Cl.³

C 07 D 471/04

(40) Zveřejněno 17 07 84

(45) Vydáno 15 08 86

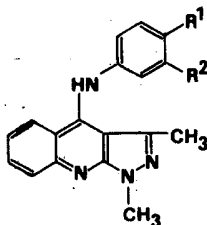
(75)

Autor vynálezu

ŽIKÁN VIKTOR ing.CSc., RÁDL STANISLAV ing.,
ŠMEJKAL FRANTIŠEK RNDr.CSc., ZELENÁ DANA RNDr., PRAHA

(54) Substituované 4-anilino-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinoliny
a způsoby jejich přípravy

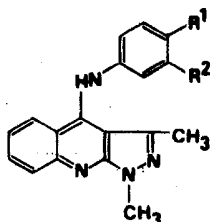
Vynález se týká substituovaných
4-anilino-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/
chinolinů obecného vzorce I



(I)

ve kterém R^1 značí hydroxyskupinu, methoxyskupinu, propyloxyskupinu, cetyloxyskupinu, ethoxykarbonylmethoxyskupinu, dimethylaminoskupinu, karboxyskupinu nebo fenylskupinu a R^2 značí atom vodíku, nebo R^1 je atom vodíku a R^2 je methoxyskupina, nebo R^1 i R^2 je methoxyskupina, nebo R^1 je acetamidoskupina a R^2 je methylskupina, nebo R^1 a R^2 spolu tvoří methylenedioxykupinu. Tyto nové, dosud nepopsané látky vykazují protivirovou aktivitu proti viru chřipky A2-Honkong, proti viru encefalomyokarditidy a proti viru vakcinie u myši.

Vynález se týká substituovaných 4-anilino-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/ chinolínů obecného vzorce I



(I)

ve kterém R^1 značí hydroxyskupinu, methoxyskupinu, propyloxyskupinu, cetyloxyskupinu, ethoxykarbonylmethoxyskupinu, dimethylaminoskupinu, karboxyskupinu nebo fenylskupinu a R^2 značí atom vodíku, nebo R^1 je atom vodíku a R^2 je methoxyskupina, nebo R^1 i R^2 je methoxyskupina, nebo R^1 je acetamidoskupina a R^2 je methylskupina, nebo R^1 a R^2 spolu tvoří methylenedioxykupinu. Vynález se rovněž týká způsobu přípravy substituovaných 4-anilino-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/ chinolínů obecného vzorce I.

Tyto nové, dosud nepopsané látky, vykazují protivirovou aktivitu proti viru chřipky A2-Honkong, proti viru encefalomyokarditidy a proti viru vakcinie u myši.

Sloučeniny obecného vzorce I lze podle vynálezu připravit reakcí o sobě známého 4-chlor-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/-chinolinu [Stein R. G., Biel J. H.: J. Med. Chem. 13, 153 (1973)] s příslušným derivátem anilinu ve fenolu při teplotě 80 °C až 120 °C, výhodně při teplotě 100 °C. Sloučeniny obecného vzorce I, kde R^1 je propyloxyskupina nebo cetyloxyskupina a R^2 je atom vodíku, lze podle vynálezu připravit alkylací sloučeniny obecného vzorce I, kde R^1 je hydroxyskupina a R^2 je atom vodíku, odpovídajícím alkylbromidem v acetonu za přítomnosti bezvodého uhlíčitánu draselného a výhodně za přítomnosti jodidu draselného.

Uvedené sloučeniny podle vynálezu patří do skupiny látek s protivirovými účinky. Uvedené sloučeniny byly hodnoceny ve formě hydrochloridů proti viru A2-Honkong a proti viru encefalomyokarditidy (EMC) u myši. U některých sloučenin byla zjišťována i účinnost proti viru vakcinie u myši.

Hodnocení účinnosti proti viru chřipky A2-Honkong u myši:

Byly užity samice bílých myši SPF (Velaz) o hmotnosti 10 až 11 g. Virus byl aplikován myším v lehké etherové narkóze intranásálně. Množství LD_{50} viru bylo stanoveno v samostatném pokuse a bylo vypočítáno podle REEDA a MUENCHA / Reed L. J., Muench H.: Amer. J. Hyg. 27, 493 (1938)/. Pro každou koncentraci viru bylo užito 7 myši. Neléčené myši hynuly na pneumonii podle použité koncentrace viru 3 až 10 dní po infekci. Zkoušené látky byly suspendovány pomocí monoesteru kyseliny olejové s tripolyethylenglykolanhydrosorbiterem (Tween 80). Zvířatům byly látky aplikovány per os sondou, nebo byly podávány subkutánně do řasy kůže na hřbetu vždy v objemu 0,2 ml. Myši byly léčeny perorálně nebo subkutánně 2 x denně po dobu 5 dní (1 den před a 4 dny po infekci). Denní dávka byla 2 x 150 mg/kg. Účinnost byla posuzována podle prodloužení průměrné doby přežití v porovnání s neléčenou kontrolou.

Po perorálním podání byly účinné sloučeniny obecného vzorce I, kde R^1 je methoxyskupina a R^2 je atom vodíku (prodlužuje dobu přežití myši proti 5 LD_{50} viru o 50 %), kde R^1 hydroxyskupina a R^2 je atom vodíku (prodlužuje dobu přežití myši proti 5 LD_{50} viru o 66 % a proti 50 LD_{50} viru o 15 %) a kde R^1 a R^2 spolu tvoří methylenedioxykupinu (prodlužuje dobu přežití myši proti 50 LD_{50} viru o 25 %).

Sloučeniny obecného vzorce I, které mají účinnost proti viru chřipky A2-Honkong u myši po subkutánním podání, jsou shrnuty v tabulce I a jsou uvedeny v prodloužení průměrné doby přežití v %.

Tabulka I

R ¹	R ²	0,5 LD ₅₀ (%)	5 LD ₅₀ (%)	50 LD ₅₀ (%)
OCH ₃	H	59	-	46
N(CH ₃) ₂	H	-	-	105
COOH	H	-	35	49
OH	H	-	46,5	70
OC ₃ H ₇	H	-	61	-
OC ₁₆ H ₃₃	H	-	63	-
-O-CH ₂ -O-	-	-	44	-
OCH ₂ COOC ₂ H ₅	H	-	75	-
H	OCH ₃	60	60	0
OCH ₃	OCH ₃	49	44	0
C ₆ H ₅	H	21	37,5	0

Vysvětlivky k tabulce I:

-..... nebylo zkoušeno

Hodnocení proti viru EMC u myši:

Byly užity samice bílých myši SPF (Velaz) o hmotnosti 10 až 11 g. Virus byl myším aplikován subkutánně v objemu 0,2 ml do záhybu kůže zad. Neléčené myši hynuly podle koncentrace použitého viru 3 až 7 dní po infekci. Subkutánní léčba byla prováděna čtyřmi dávkami po 100 mg/kg vždy 28, 22, 2 hodiny před a 2 hodiny po infekci. Perorální léčba byla provedena 24 hodin před infekcí jednorázovou dávkou 400 mg/kg. Stanovení množství použitého viru a vyhodnocení účinnosti látek provedeno stejně jako při hodnocení účinnosti proti viru chřipky A2-Honkong.

Účinnost sloučenin obecného vzorce I proti viru EMC u myši po perorálním (p. o.) a subkutánním (s. c.) podání těchto látek je uvedena v tabulce II v prodloužení průměrné doby přežití myši v % po aplikaci dávky 5 LD₅₀ viru.

Tabulka II

R ¹	R ²	p. o. (%)	s. c. (%)
OH	H	0	66
OC ₃ H ₇	H	32	33
OC ₁₆ H ₃₃	H	47	83
-O-CH ₂ -O-	-	47	95
OCH ₂ COOC ₂ H ₅	H	50	100
NHCOCH ₃	CH ₃	0	40
C ₆ H ₅	H	0	36

Hodnocení proti viru vakcinie u myší:

Virus vakcinie jako lyofilisovaná vakcína Sevac (ÚSOL Praha). Vakcína obsahuje 5×10^7 jednotek viru v 1 ml. Byly užity samice bílých myší SPF (Velaz) o hmotnosti 15 g. Virus byl myším aplikován intravenózně, v objemu 0,1 ml bylo podáno $1,25 \times 10^5$ jednotek viru, které způsobily u neléčených myší tvorbu přibližně 100 nekrotických lesí na ocasy 6 až 8 dní po infekci. Pro snadnější počítání lesí byly ocasy barveny roztokem obsahujícím 1 % fluoresceinu a 0,5 % methylenové modři, který barvil nekrotickou tkáň. Kožní lese se po 14 dnech samovolně hojily a příznaky onemocnění mizely. Léčba byla prováděna stejným způsobem jako u hodnocení účinnosti proti viru EMC. Účinnost byla hodnocena podle procenta snížení počtu nekrotických lesí v porovnání s neléčenou kontrolou.

Účinnost proti viru vakcinie u myší byla stanovena u sloučenin obecného vzorce I, kde R^1 je methoxyskupina a nebo dimethylaminoskupina a R^2 je atom vodíku. Sloučenina obecného vzorce I, kde R^1 je dimethylaminoskupina a R^2 je atom vodíku, snižuje počet lesí po perorálním podání o 82 % a po subkutánním podání o 74 %.

Jak plyne z uvedených údajů, jsou sloučeniny obecného vzorce I účinné proti viru A2-Honkong, proti viru EMC a proti viru vakcinie u myší. Způsob přípravy je jednoduchý a poskytuje žádané produkty v uspokojivých výtěžcích. Bližší podrobnosti vyplývají z následujících příkladů provedení. Uvedené příklady vynález pouze ilustrují, nikoliv omezují.

P ř í k l a d 1

4-(4-methoxyanilino)-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolin

Směs 2,32 g 4-chlor-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolinu (10 mmol), 1,35 g 4-methoxyanilinu (11 mmol) a 15 g fenolu byla míchána 1 hodinu při teplotě 100 °C. Reakční směs byla vlita do 100 ml 2M roztoku hydroxidu sodného, nerozpustný podíl byl odsát, promyt vodou a poté za varu rozpuštěn ve 200 ml 10% kyseliny octové. Filtrát po odfiltrování nerozpustného podílu byl ochlazen a zalkalizován 2M roztokem hydroxidu sodného. Vyloučená látka byla odsáta, promyta vodou a překrystalována z 30% vodného dimethylformamidu. Bylo získáno 2,2 g látky (69,2 %) o t.t. 154,4 až 155,4 °C. Po rozpuštění v ethanolu byla látka běžným způsobem převedena na hydrochlorid o t. t. 201,1 až 202,4 °C.

P ř í k l a d 2

4-(4-Dimethylaminoanilino)-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolin

Směs 1,16 g 4-chlor-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolinu (5 mmol), 0,75 g 4-dimethylaminoanilinu (5,5 mmol) a 7 g fenolu byla 1 hodinu míchána při teplotě 100 °C. Po zředění 25 ml ethanolu byl roztok sražen etherem, sraženina byla promyta etherem a rozpuštěna ve vodě okyselené několika kapkami kyseliny chlorovodíkové. Nerozpustný podíl byl odfiltrován a filtrát byl zalkalizován 2M roztokem hydroxidu sodného na pH 10. Vyloučená látka byla odsáta a promyta vodou. Po rozpuštění v ethanolu byl modrý roztok prolit sloupcem 100 g silikagelu (Kieselgel 60 Merck). Žlutý roztok prošlý sloupcem byl odpařen k suchu, bylo získáno 1,33 g látky (80,3 %) o t.t. 79,6 °C až 81,3 °C. Odparek byl rozpuštěn za horka v 10 ml ethanolu a roztok byl okyselen několika kapkami ethanolického chlorovodíku. Krystaly vyloučené po ochlazení byly odsáty a překrystalovány z ethanolu. Bylo získáno 1,52 g látky (75,2 %) o t.t. 237,9 °C až 239,7 °C.

P ř í k l a d 3

Hydrochlorid 4-(4-hydroxyanilino)-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo-/3,4-b/chinolinu

Směs 2,32 g 4-chlor-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolinu (10 mmol), 1,21 g 4-aminofenolu (11 mmol) a 15 g fenolu byla míchána 1 hodinu při teplotě 100 °C. Po zředění 50 ml ethanolu byla směs srážena etherem. Nerozpustný podíl byl odsát, promyt etherem a překrystalován z ethanolu. Bylo získáno 3,1 g látky (91,0 %) o t. t. 346 °C až 352 °C (za rozkladu).

P ř í k l a d 4

Hydrochlorid 4-(4-ethoxykarbonylmethoxyanilino)-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolinu

Směs 2,78 g 4-chlor-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolinu (12 mmol), 2,55 g 4-ethoxykarbonylmethoxyanilinu (13 mmol) a 20 g fenolu byla míchána 2 hodiny při teplotě 100 °C. Stejným způsobem zpracování, jako je uvedeno v příkladu 3, bylo získáno 2,95 g látky (57,6 %) o t.t. 199,2 °C až 203,8 °C.

P ř í k l a d 5

Hydrochlorid 4-(4-karboxyanilino)-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo-/3,4-b/chinolinu

Směs 2,32 g 4-chlor-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolinu (10 mmol), 1,65 g 4-aminobenzoové kyseliny (12 mmol) a 15 g fenolu byla 8 hodin míchána při teplotě 100 °C. Po zředění 50 ml ethanolu byla směs srážena etherem. Nerozpustný podíl byl odsát, promyt etherem a povařen v acetonu. Bylo získáno 2,7 g látky (73,2 %) o t.t. 308 °C až 310 °C.

P ř í k l a d 6

Hydrochlorid 4-(4-bifenyldi-amino)-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/-chinolinu

Směs 1,85 g 4-chlor-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolinu (8 mmol), 1,49 g 4-aminobifenyldi-amino (8,8 mmol) a 10 g fenolu byla 4 hodiny míchána při teplotě 100 °C. Způsobem zpracování, uvedeným v příkladu 3, bylo získáno 1,8 g látky (56,1 %) o t.t. 207,3 °C až 211,8 °C.

P ř í k l a d 7

Hydrochlorid 4-(3-methoxyanilino)-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo-/3,4-b/chinolinu

Směs 0,46 g 4-chlor-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolinu (2 mmol), 0,26 g 3-methoxyanilinu (2,1 mmol) a 3 g fenolu byla míchána 2 hodiny při teplotě 100 °C. Stejným způsobem zpracování, jako je uvedeno v příkladu 3, bylo získáno 0,44 g látky o t.t. 151,0 až 154,7 °C.

P ř í k l a d 8

Hydrochlorid 4-(3,4-dimethoxyanilino)-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolinu

Směs 1,74 g 4-chlor-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolinu (7,5 mmol), 1,26 g 3,4-dimethoxyanilinu (8,25 mmol) a 10 g fenolu byla míchána 2 hodiny při teplotě 100 °C. Stejným způsobem zpracování, jako je uvedeno v příkladu 3, bylo získáno 1,82 g látky (63,0 %) o t.t. 208,6 °C až 218,7 °C (za rozkladu).

P ř í k l a d 9

Hydrochlorid 1,3-dimethyl-4-(3,4-methylenedioxyanilino)-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolinu

Směs 2,32 g 4-chlor-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolinu (10 mmol), 1,51 g 3,4-methylenedioxyanilinu (11 mmol) a 15 g fenolu byla míchána 1 hodinu při teplotě 100 °C. Stejným způsobem zpracování, jako je uvedeno v příkladu 3, bylo získáno 3,1 g látky (84,0 %) o t.t. 251,0 °C až 252,8 °C.

P ř í k l a d 10

Hydrochlorid 4-(4-acetamido-3-methylanilino)-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolinu

Směs 2,32 g 4-chlor-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolinu (10 mmol), 1,8 g 5-amino-2-acetamidotoluenu (11 mmol) a 15 g fenolu byla míchána 1 hodinu při teplotě 100 °C. Stejným způsobem, jako je uvedeno v příkladu 3, bylo získáno 2,32 g látky (58,6 %) o t.t. 238,6 °C až 241,8 °C.

P ř í k l a d 11

Hydrochlorid 1,3-dimethyl-4-(4-propoxyanilino)-1H-pyrazolo-/3,4-b/chinolinu

K suspensi 1,7 g hydrochloridu 4-(4-hydroxyanilino)-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolinu (5 mmol) ve 150 ml suchého acetonu bylo přidáno 2,05 g bezvodého uhličitanu draselného a 0,15 g jodidu draselného a 10,7 g propylbromidu (5,5 mmol). Směs byla 80 hodin vařena pod zpětným chladičem za míchání. Po odpaření k suchu byl odparek extrahován chloroformem po zředění 25 ml vody. Extrakt byl vytřepán 5% roztokem hydroxidu sodného a sušen síranem hořečnatým. Filtrát po odpaření k suchu byl rozpuštěn ve 2-propanolu a okyselen kyselinou chlorovodíkovou. Krystaly vyloučené po ochlazení byly odsáty a překrystalovány z ethanolu. Bylo získáno 0,97 g látky (50,7 %) o t.t. 199 °C až 202,6 °C.

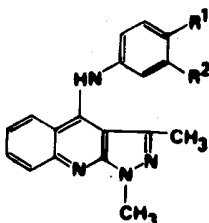
P ř í k l a d 12

Hydrochlorid 4-(4-cetyloxyanilino)-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolinu

Z 1,7 g hydrochloridu 4-(4-hydroxyanilino)-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolinu (5 mmol) a 1,7 g cetyl bromidu (5,5 mmol) bylo způsobem, popsaným v příkladu 11, získáno 1,15 g látky (40,6 %) o t.t. 170,1 °C až 176,5 °C. Látka byla získána srážením etherem z roztoku v ethylacetátu.

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

1. Substituované 4-anilino-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinoliny obecného vzorce I



(I)

kde R^1 je methoxyskupina, hydroxyskupina, propyloxyskupina, cetyloxyskupina, ethoxykarbonyl-methoxyskupina, dimethylaminoskupina, karboxyskupina nebo fenylskupina a R^2 je atom vodíku, nebo kde R^1 je atom vodíku a R^2 je methoxyskupina, nebo kde R^1 i R^2 je methoxyskupina, nebo kde R^1 je acetamidoskupina a R^2 je methylskupina, nebo kde R^1 a R^2 spolu tvoří methylenedioxykupinu.

2. Způsob přípravy sloučenin podle bodu 1 vzorce I, kde R^1 je methoxyskupina, hydroxyskupina, ethoxykarbonylmethoxyskupina, dimethylaminoskupina, karboxyskupina nebo fenylskupina a R^2 je atom vodíku, nebo kde R^1 je atom vodíku a R^2 je methoxyskupina, nebo kde R^1 i R^2 je methoxyskupina, nebo kde R^1 je acetamidoskupina a R^2 je methylskupina, nebo kde R^1 a R^2 spolu tvoří methylenedioxykupinu, vyznačující se tím, že se 4-chlor-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo/3,4-b/chinolin zahřívá s příslušným derivátem anilinu, výhodně s 0,1 molárním přebytkem, ve fenolu na teplotu 80 °C až 120 °C, výhodně na teplotu 100 °C.

3. Způsob přípravy sloučenin podle bodu 1 vzorce I, kde R^1 je propyloxyskupina nebo cetyloxyskupina a R^2 je atom vodíku, vyznačující se tím, že se sloučenina obecného vzorce I, kde R^1 je hydroxyskupina a R^2 je atom vodíku, alkyluje odpovídajícím alkyl-bromidem, kde alkyl je propyl nebo cetyl, výhodně v 0,1 molárním přebytku, v acetonu za přítomnosti bezvodého uhlíčitanu draselného, s výhodou za přítomnosti jodidu draselného.