



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(51) МПК

C07D 215/24 (2006.01)

A61K 31/4709 (2006.01)

C07D 215/26 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

C07D 215/28 (2006.01)

C07D 215/48 (2006.01)

C07D 401/04 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 409/04 (2006.01)

C07D 417/12 (2006.01)

C07D 417/14 (2006.01)

A61K 31/47 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2005100842/04, 16.07.2003

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
16.07.2003(30) Конвенционный приоритет:
16.07.2002 AU 2002950217

(43) Дата публикации заявки: 20.11.2005

(45) Опубликовано: 10.03.2009 Бюл. № 7

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: US 5952346 A, 14.09.1999. WO 00/23421
A1, 27.04.2000. WO 02/24701 A2, 28.03.2002.
WO 02/24702 A1, 28.03.2002. EP 1074257 A1,
07.02.2001. RU 2170730 C2, 20.07.2001. RU
2142454 C1, 10.12.1999. DE 3932338 A,
11.04.1991.(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу:
16.02.2005(86) Заявка РСТ:
AU 03/00914 (16.07.2003)(87) Публикация РСТ:
WO 2004/007461 (22.01.2004)Адрес для переписки:
198260, Санкт-Петербург, а/я 44,
Ю.Ю.Гендлиной, для 200501/LK,RU

(72) Автор(ы):

БАРНХАМ Кевин Джеффри (AU),
ГАУТИЕР Элизабет Колет Луис (AU),
КОК Гаик Бенг (AU),
КРИППНЕР Гай (AU)

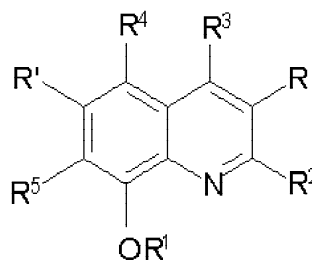
(73) Патентообладатель(и):

ПРАНА БИОТЕХНОЛОДЖИ ЛИМИТЕД (AU)

(54) ПРОИЗВОДНЫЕ 8-ГИДРОКСИХИНОЛИНА

(57) Реферат:

Изобретение относится к способу лечения, облегчения и/или профилактики неврологического состояния, в частности, нейродегенеративных расстройств, содержащему введение эффективного количества соединения формулы I:



Также изобретение относится к применению соединения формулы I, в качестве нейротерапевтического, нейрозащитного или антимилоидного агента, к фармацевтической или ветеринарной композиции для лечения, смягчения

и/или профилактики неврологического состояния, а также к соединениям формулы I, при следующих дополнительных условиях: (b) если R^3 , R и R' представляют собой H, а R^2 представляет собой $(CH_2)_2NR^9R^{10}$, то R^9 и R^{10} оба не являются этилом или метилом; (c) если R^3 , R и R' представляют собой H, а R^2 представляет собой $(CH_2)_2NR^9R^{10}$, то R^9 и R^{10} оба не являются водородом или этилом; (d) если R^3 , R и R' представляют собой H, а R^2 представляет собой $NR^{11}R^{12}$, то R^{11} и R^{12} оба не являются водородом; (e) если R^3 , R и R'

представляют собой H, а R^2 представляет собой COR^6 , то R^6 не является H, OH или CH_2Cl ; (f) если R^3 , R и R' представляют собой H, а R^2 не является CH_3 или CH_2Cl ; (g) если R^3 , R и R' представляют собой H, а R^2 представляет собой $HCNNR^9R^{10}$, то R^9 и R^{10} оба не являются H. Технический результат: описаны новые соединения, которые могут быть эффективны при лечении, облегчении и/или профилактике неврологического состояния, в частности, нейродегенеративных расстройств. 10 н. и 14 з.п. ф-лы, 16 табл., 14 ил.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

C07D 215/24 (2006.01)

A61K 31/4709 (2006.01)

C07D 215/26 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

C07D 215/28 (2006.01)

C07D 215/48 (2006.01)

C07D 401/04 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 409/04 (2006.01)

C07D 417/12 (2006.01)

C07D 417/14 (2006.01)

A61K 31/47 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 2005100842/04, 16.07.2003

(24) Effective date for property rights: 16.07.2003

(30) Priority:
16.07.2002 AU 2002950217

(43) Application published: 20.11.2005

(45) Date of publication: 10.03.2009 Bull. 7

(85) Commencement of national phase: 16.02.2005

(86) PCT application:
AU 03/00914 (16.07.2003)(87) PCT publication:
WO 2004/007461 (22.01.2004)Mail address:
198260, Sankt-Peterburg, a/ja 44,
Ju.Ju.Gendlinoj, dlja 200501/LK,RU

(72) Inventor(s):

BARNKHAM Kevin Dzheffri (AU),
GAUTIER Ehlizabet Kolet Luis (AU),
KOK Gaik Beng (AU),
KRIPPNER Gaj (AU)

(73) Proprietor(s):

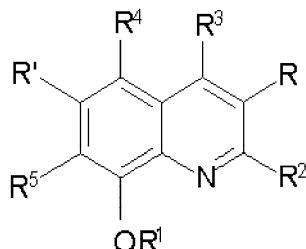
PRANA BIOTEKhnOLODZhi LIMITEhd (AU)

(54) 8-HYDROXYQUINOLINE DERIVATIVES

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention concerns method of treatment, alleviation and/or prevention of neurological state, particularly neurodegenerative disorders, involving administration of effective quantity of compound with formula I:



invention concerns application of compound of the formula I as neurotherapeutical, neuroprotective

or antimyloid agent, pharmaceutical or veterinary composition for treatment, alleviation and/or prevention of neurological states, and compounds of the formula I on the following additional terms: (b) if R³, R and R' are H, and R² is (CH₂)₂NR⁹R¹⁰, then both R⁹ and R¹⁰ are not ethyl or methyl; (c) if R³, R and R' are H, and R² is (CH₂)₂NR⁹R¹⁰, then both R⁹ and R¹⁰ are not hydrogen or ethyl; (d) if R³, R and R' are H, and R² is NR¹¹R¹², then both R¹¹ and R¹² are not hydrogen; (e) if R³, R and R' are H, and R² is COR⁶, then R⁶ is not H, OH or CH₂Cl; (f) if R³, R and R' are H, and R² is not CH₃ or CH₂Cl; (g) if R³, R and R' are H, and R² is HCNN R⁹R¹⁰, then both R⁹ and R¹⁰ are not H.

EFFECT: efficient treatment, alleviation and prevention of neurological state.

24 cl, 14 tbl, 21 ex, 14 dwg

Текст описания приведен в факсимильном виде.

Настоящее изобретение относится к производным 8-гидроксихинолина, способам их получения и их использованию в качестве фармацевтических или ветеринарных средств, в частности, для лечения неврологических состояний, более конкретно – нейродегенеративных состояний, таких как болезнь Альцгеймера.

Все документы, в том числе любые патенты или патентные заявки, на которые даются ссылки в данном документе, включены в него путем отсылки. При этом не предполагается, что какая-либо из ссылок представляет собой прототип. При обсуждении ссылок излагается то, что утверждают их авторы, а заявители оставляют за собой право оспаривать точность цитируемых документов и их связь с изобретением. Следует ясно понимать, что хотя в данном документе делаются ссылки на целый ряд прежних публикаций, такая ссылка не является допущением, что какой-либо из этих документов представляет собой часть общеизвестного для специалистов знания в Австралии или в любой другой стране.

Считается, что продолжительность жизни биологически фиксирована для каждого вида, а продолжительность человеческой жизни неопределенна, но может составлять до 120 лет. Поскольку ожидаемая продолжительность жизни в этом столетии существенно увеличилась, пожилые люди составляют все большую часть нашего населения, и здравоохранение пожилых будет развиваться еще многие десятилетия.

Хотя нормальное старение характеризуется умеренными снижениями массы и объема мозга человека, что может быть обусловлено атрофией и/или некрозом мозговых клеток, эти изменения гораздо более глубоки в мозге пациентов, страдающих нейродегенеративными состояниями. Большинство таких состояний носят спорадический

характер, и причины их неизвестны, однако было показано, что сотни различных мутаций во многих генах вызывают семейные (наследуемые) варианты нескольких нейродегенеративных состояний. Только за последние десять лет в поисках генетической основы нейродегенеративных состояний было выявлено несколько дюжин или более генов, в которых могут происходить такие мутации. Нейродегенеративные состояния развиваются постепенно, после долгого периода нормального функционирования мозга, вследствие прогрессирующей дегенерации (т.е. дисфункции и некроза нервных клеток) определенных областей мозга. Поскольку симптоматическое выражение заболевания возникает, когда потеря нервных клеток превышает некоторый "порог" для данной функции (например, памяти, движения), которая выполняется затронутой изменениями областью мозга, фактически дегенерация мозга может наступать на много лет раньше, чем появится ее клиническое проявление.

При неврологических состояниях, приводящих к деменции, интеллектуальные и высшие интеграционные мыслительные способности все более ухудшаются и мешают повседневной житейской деятельности. Точная доля деменции у пожилого населения неизвестна, но, как представляется, 15% людей старше 65 лет страдают ею, из них 5% сильной и 10% от слабой до умеренной. Доля сильной деменции увеличивается с 1% в 65 лет до 45% в 85 лет. Существует много причин деменции, но 50% случаев слабоумия у пациентов старше 65 лет объясняется болезнью Альцгеймера (БА).

БА является первичным дегенеративным заболеванием мозга. Она характеризуется прогрессирующим снижением интеллектуальных функций, таких как память, мышление, понимание, вычисления, язык, способность к обучению и умозаключениям. Деменция диагностируется тогда, когда заболевание прогрессирует настолько, что мешает выполнению повседневных житейских действий. Болезнь начинается незаметно, ухудшения происходят медленно. Это заболевание следует четко отличать от нормального возрастного ослабления интеллектуальных функций. Нормальное ослабление гораздо более умеренно, гораздо более постепенно и приводит к меньшей потере способностей. БА наступает обычно после 65 лет, хотя нередко и раньше. Ухудшение с возрастом происходит быстро (оно примерно удваивается каждые 5 лет). Из этого можно сделать вывод о росте количества людей, живущих с такими расстройствами, по мере увеличения продолжительности жизни.

Этиология БА неясна. Имеются существенные свидетельства наследственной предрасположенности к некоторым формам БА (обзор см. в St George-Hyslop, 2000); кроме того, появление некоторых изоформ аполипопротеина Е связывалось с повышенным риском заболевания БА (Corder et al, 1993; Czech et al 1994). Было высказано предположение, что одной из причин БА является накопление алюминия, хотя от этой гипотезы сейчас отказались. В мозге пациентов, страдающих БА, выявлены аномальные отложения, которые содержат β -амилоидный белок (А β).

Известно, что А β присутствует в мозге людей с некоторыми нейродегенеративными заболеваниями, но неизвестно, является ли это симптомом какого-либо скрытого болезненного процесса или действительно связано с этиологией болезни Альцгеймера. Например, некоторые авторы полагают, что отложения А β могут свидетельствовать о нормальном защитном механизме мозга, когда мозг пытается связать А β ; такие отложения могут присутствовать в мозге здоровых людей. Существует мутация *tau*-белка, при которой в мозге присутствуют нейрофибриллярные узлы, но нет амилоидных бляшек; такое состояние называется тауопатия.

Одним из предложенных подходов к терапии БА является ингибирование выработки А β в мозге. При протеолитическом расщеплении амилоидного белка-предшественника (APP) под действием BACE1 и γ -секретазы образуется А β полной длины, который затем высвобождается из клеток (Nunan and Small, 2000). С другой стороны, ряд исследований показал, что на выделение А β может влиять холестерин (Simons et al., 1998; Hartmann, 2001; Fassbender et al., 2001; Frears et al., 1999; Friedhoff et al., 2001). Однако среди специалистов есть разногласия относительно полезности снижения уровней холестерина; некоторые считают, что на самом деле холестерин действует благотворно. Например, в работе Ji et al. (2002) предполагается, что связывание А β холестерином может предотвращать токсичность А β , так как при этом ингибируется его олигомеризация.

Другой подход предполагает, что при расширении протеолитической переработки амилоидного белка-предшественника (APP), когда создается А β амилоидный мономер, можно достичь ряда терапевтических целей (Shearman et al., 2000; Sinha et al., 1999);], и этот подход находится на ранней стадии клинической разработки. Попытки усилить выделение А β из мозга путем иммунизации посредством А β , хотя и показали свою эффективность в отношении БА на трансгенной модели мыши (Schenk et al 1999),

выявили также существенные неблагоприятные эффекты (Brower, 2002).

Предполагалось также, что отложение амилоидоподобных фибрилл может иметь существенное значение для других нейродегенеративных заболеваний. К ним относятся болезнь Паркинсона, деменция с образованием тела Леви, многосистемная атрофия, болезнь Халлербодена-Шпатца и диффузная болезнь с телом Леви.

Одна из конкурирующих теорий этиологии БА состоит в том, что ее побудительный шаг (шаги) лежит на проводящем пути внутримозгового биогенеза и накопления амилоидного белка Аβ (см. последние обзоры Selkoe, 2001; Beyreuther et al., 2001; Bush, 2001). Однако до сих пор не были продемонстрированы какие-либо агенты или лекарства, нацеленные на этот проводящий путь и оказывающие продолжительное воздействие на изменение клинических проявлений болезни, или предотвращение либо улучшение мыслительных функций в связи с нейродегенеративными расстройствами, в том числе с болезнью Альцгеймера.

Еще одна гипотеза состоит в том, что БА вызывается токсическим накоплением Аβ амилоида, частично обусловленным избыточным связыванием ионов металлических меди и цинка, количество которых велико в наиболее затронутых областях. Более того, предполагается, что когда ионы Zn^{2+} и Cu^{2+} взаимодействуют с Аβ, происходит скопление Аβ в фибриллах и бляшках (Atwood et al., 1998; подтверждается недавно опубликованными данными о животных с дефицитом синаптического Zn^{2+} (Lee et al., 2002)). Высказано также предположение, что при окислительно-восстановительных взаимодействиях Cu^{2+} -Аβ может происходить образование H_2O_2 из O_2 (Huang et al., 1999). Было показано, что и Cu^{2+} , и Zn^{2+} влияют на мембранные взаимодействия Аβ-липид (Curtain et al., 2001). Мозг является органом, который концентрирует ионы металлов, и недавние исследования заставляют предположить, что нарушение гомеостаза металлов играет критически важную роль в различных нейродегенеративных заболеваниях, связанных с возрастом. Общие характеристики этих заболеваний включают отложение специфического белка (каждая болезнь имеет свой собственный амилоидный белок) и существенное клеточное повреждение в результате окислительного напряжения. Сейчас быстро накапливаются данные, показывающие, что металлохимические реакции могут быть общим знаменателем различных амилоидогенных неврологических расстройств, таких как болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз (ALS), прионные заболевания, в том числе болезнь Крейтцфельда-Якоба (CJD), трансмиссивные губчатые

энцефалопатии (TSE), катаракты, митохондриальные расстройства, болезнь Паркинсона и болезнь Геттингтона. В этих случаях патологическое накопление специфического белка усиливается аномальной окислительно-восстановительной активностью в физиологической среде, характеризующейся присутствием переходных металлов и восстанавливающих агентов [Bush, 2000 (Curr Opin Chem Biol. 2000 Apr; 4(2):184-91)].

В соответствии с этим, настоящее изобретение обеспечивает средство лечения неврологических состояний, в том числе характеризующихся аномальным взаимодействием между белками и металлами.

В патентах США № 5994323 и № 6001852, выданных P.N. Geromylatos S.A., а также в патентной заявке США № 09/972913, авторы Bush и др., раскрывается и заявляется способ лечения болезни Альцгеймера с использованием антибиотика йодохлоргидроксихинолин [известного также под названием клиохинол (CQ)]. CQ был изъят из применения в качестве антибиотика в 1970 году, так как с ним связывали возникновение необычного неврологического синдрома – подострой миело-оптической невропатией (SMON), которая наблюдалась только в Японии в 1960-х годах у пациентов, которые, как предполагалось, принимали это лекарство длительно и, вероятно, в более высоких дозах, чем рекомендовалось в то время (Shiraki, 1975). Однако недавно опубликованные данные позволяют предположить, что это заболевание вызывалось связанным с чрезмерным потреблением дефицитом витамина B12 у исключительно уязвимого населения, и, следовательно, данное средство можно реабилитировать и разрешить для исследований в клинических условиях (Yassin et al., 2000; Bush and Masters, 2001).

Однако в патентах Geromylatos и Bush не приводится никаких результатов исследований *in vivo* на животных или на людях. В патенте US 5994323 раскрывается композиция, содержащая CQ и витамин B12, а также ее использование для лечения "заболеваний или расстройств, реагирующих на прием CQ, с ингибированием вредных побочных эффектов" CQ. Эти заболевания включают болезнь Альцгеймера. В патенте US 6001852 описывается способ лечения БА с помощью CQ, предпочтительно вместе с витамином B12. В обоих патентах US 5994323 и US 6001852 предлагается дозировка 10-750 мг в день; в US 5994323 рекомендуется при длительном лечении давать CQ периодически, не более 3 недель подряд, за которыми должен следовать период "вымывания" продолжительностью 1-4 недели.

В заявке US 09/972913 о CQ говорится исключительно с точки зрения его способности разрушать отложения A β . Никакой другой механизм нейротоксичности не обсуждается. В заявке PCT/US99/05291 на имя General Hospital Corporation описывается использование CQ в комбинации со специфическими агентами, вызывающими образование хелатных комплексов меди и цинка с целью стимулирования растворения амилоидных бляшек и ингибирования формирования амилоидных бляшек и/или образования окислительно-восстановительных систем A β -белком.

US 6001852 предлагает также использовать состав, содержащий CQ и витамин B12, для лечения болезни Паркинсона; однако в этом случае предполагается, что CQ действует главным образом путем выведения железа из черной субстанции.

Эффективность CQ при лечении БА основывается на его способности входить в центральную нервную систему и затем захватывать переходные металлы Cu, Zn и Fe из различных форм A β , тем самым снижая токсичность A β и высвобождая его для выведения. Эффективность CQ ограничивается его плохой растворимостью в воде, что ограничивает его биодоступность при пероральном приеме. Известно также, что CQ подвергается значительному сопряженному метаболизму и имеет историю токсичности, о которой говорилось выше. Поскольку CQ является бидентатным лигандом металлов, то для захвата каждого металлического иона необходимы по крайней мере две его молекулы.

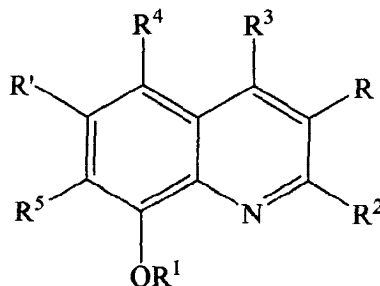
Мы разработали производные 8-гидроксихинолина, которые более эффективны, чем CQ, благодаря общей оптимизации одного или более из следующих свойств:

- (a) образование хелатов металлов (согласно приведенному ниже определению);
- (b) растворимость в воде;
- (c) сниженная токсичность для клеток;
- (d) свойства рассеивания амилоида;
- (e) проницаемость сквозь мембраны, необходимая для проникновения в ЦНС; и
- (f) стабильность в обмене веществ.

Эти производные включают примеры терапевтических средств, которые концентрируются в ЦНС вследствие активного переноса, имеют антиоксидантные

свойства в дополнение к свойству образовывать хелаты металлов, что в некоторых случаях приводит к усилению хелатообразующих свойств, и демонстрируют стратегию пролекарства, которая маскирует 8-гидроксигруппу, облегчая проникновение вещества в ЦНС и позволяя воспользоваться известной активностью эстеразы, которая постоянно находится на внутренней поверхности гематоэнцефалического барьера.

В соответствии с настоящим изобретением, предлагается способ лечения, облегчения и/или профилактики неврологического состояния, который содержит введения эффективного количества соединения, имеющего формулу I:



I

где

R^1 представляет собой H, замещенный или незамещенный алкил, замещенный или незамещенный алкенил, замещенный или незамещенный ацил, замещенный или незамещенный арил, замещенную или незамещенную гетероциклическую группу, антиоксидант или нацеливающую группу;

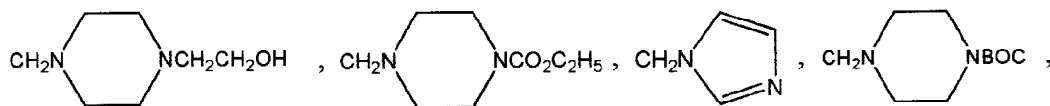
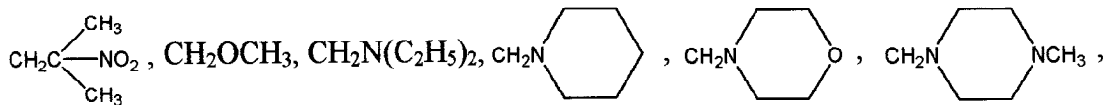
R^2 представляет собой H; замещенный или незамещенный алкил; замещенный или незамещенный алкенил; замещенный или незамещенный арил; замещенную или незамещенную гетероциклическую группу; замещенную или незамещенную алкоксигруппу; антиоксидант; нацеливающую группу; COR^6 или CSR^6 , где R^6 представляет собой H, замещенный или незамещенный алкил, замещенный или незамещенный алкенил, гидроксильную группу, замещенный или незамещенный арил, замещенную или незамещенную гетероциклическую группу, антиоксидант, нацеливающую группу, OR^7 , SR^7 или NR^7R^8 , где R^7 и R^8 одинаковы или различны и выбраны из H, замещенного или незамещенного алкила, замещенного или незамещенного алкенила, замещенного или незамещенного арила или замещенной или незамещенной гетероциклической группы; CN; $(CH_2)_nNR^9R^{10}$, $HCNOR^9$ или $HCNNR^9R^{10}$, где R^9 и R^{10}

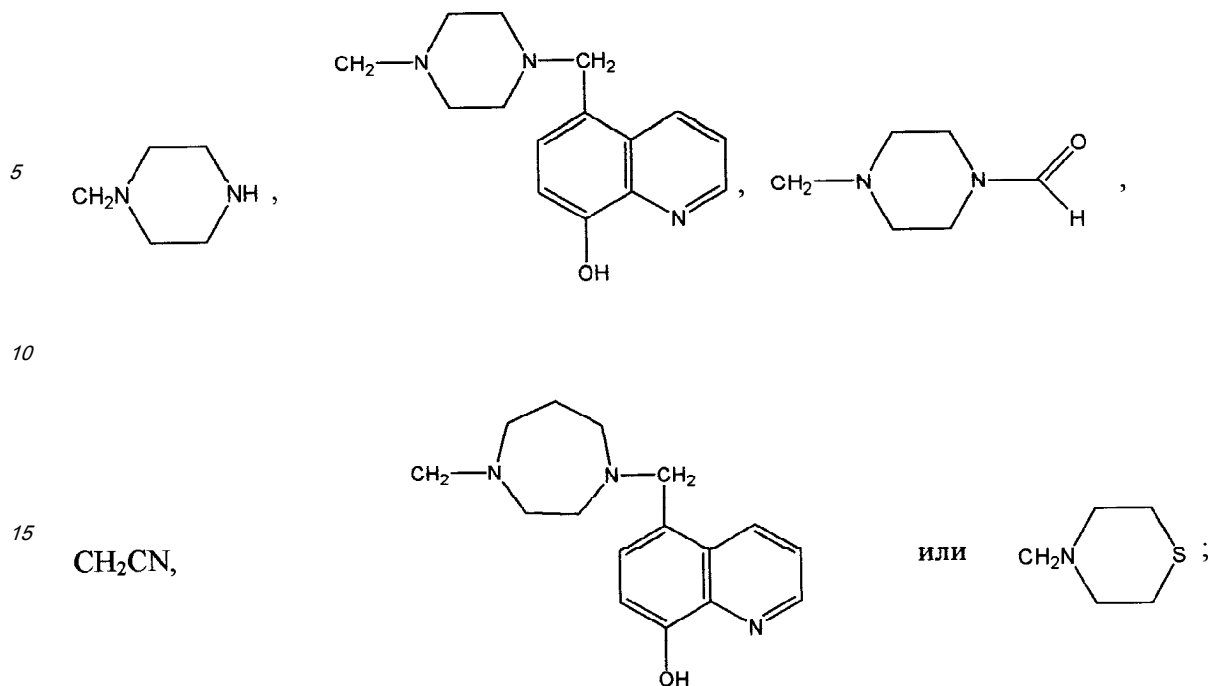
одинаковы или различны и выбраны из H, замещенного или незамещенного алкила, замещенного или незамещенного алкенила, замещенного или незамещенного арила или замещенной или незамещенной гетероциклической группы, а n составляет от 1 до 4; OR¹¹, SR¹¹ или NR¹¹R¹², где R¹¹ и R¹² одинаковы или различны и выбраны из H, замещенного или незамещенного алкила, замещенного или незамещенного алкенила, замещенного или незамещенного арила или замещенной или незамещенной гетероциклической группы, либо вместе образуют замещенную или незамещенную гетероциклическую группу; или SO₂NR¹³R¹⁴, где R¹³ и R¹⁴ одинаковы или различны и выбраны из H, замещенного или незамещенного алкила, замещенного или незамещенного алкенила, замещенного или незамещенного арила или замещенной или незамещенной гетероциклической группы; и R³, R⁴, R⁵, R и R' одинаковы или различны и выбраны из H, замещенного или незамещенного алкила, замещенного или незамещенного алкенила, замещенной или незамещенной алкоксигруппы, замещенного или незамещенного ацила, гидроксильной группы, замещенной или незамещенной аминогруппы, замещенной или незамещенной тиогруппы, замещенного или незамещенного сульфонила, замещенного или незамещенного сульфинила, замещенной или незамещенной сульфонаминогруппы, галогена, SO₃H, амина, CN, CF₃, замещенного или незамещенного арила, замещенной или незамещенной гетероциклической группы, антиоксиданта или нацеливающей группы, их соли, гидраты, сольваты, производные, пролекарства, таутомеры и/или изомеры –

при следующих условиях:

(a) если R¹ – R³, R и R' представляют собой H, то R⁴ не является Cl или I, а R⁵ не является I;

(b) если R¹ – R³, R, R' и R⁵ представляют собой H, то R⁴ не является CHO, CHONCCl₃,





(с) если R^1 , R^5 , R' и R представляют собой H , R^2 представляет собой CO_2H , а R^3 представляет собой OH , то R^4 не является бромом, метилом, фенилом, гидроксиметилом или трифторметилом;

(d) если R^1 , R^4 , R^5 и R представляют собой H , R^2 представляет собой CO_2H , а R^3 представляет собой OH , то R' не является бромом, йодом, метилом, фенилом, пропилом, фенэтилом, гептилом, бензиламинометилом, 3-аминопропилом, 3-гидроксипропилом, 4-метоксифенилом, 3-метилфенилом, 4-хлорфенилом, 3,4-дихлорфенилом, пиридин-3-илом, фуру-2-илом, 4-хлорфенилом, 3,4-дихлорфенилом, 2-хлорфенилом, 3-хлорфенилом, 2-хлорфенилом, 3-хлорфенилом, 2-метоксифенилом или пиперидин-2-илом;

(e) если R^1 , R^4 , R и R' представляют собой H , R^2 представляет собой CO_2H , а R^3 представляет собой OH , то R^5 не является фенилом, 3-гидроксипропилом, фенэтилом, 3-аминопроп-1-илом или гекс-1-илом;

(f) если R^1 , R^4 , R' и R^5 представляют собой H , R^2 представляет собой CO_2H , а R^3 представляет собой OH , то R не является N -морфолинометилом, бромом или фенилом;

(g) если R^1 , R и R' представляют собой H , R^2 представляет собой CO_2H , а R^3 представляет собой OH , то R^4 и R^5 не являются хлором;

(h) если R^1 , R^4 и R' представляют собой H , R^2 представляет собой

CO₂H, а R³ представляет собой OH, то R и R⁵ не являются бромом;

(i) если R¹, R, R' и R⁵ представляют собой H, R² представляет собой CO₂Me, а R³ представляет собой OH, то R⁴ не является гидроксиметилом, фенилом или бромом;

(j) если R¹, R, R⁴ и R⁵ представляют собой H, R² представляет собой CO₂Me, а R³ представляет собой OH, то R' не является 4-метоксифенилом, 3-метилфенилом, пиридин-3-илом, бензилом, бромом, 4-хлорфенилом, 3,4-дихлорфенилом, 3-гидроксипропилом или 3-трет-бутоксикарбониламинопропилом;

(k) если R¹, R, R⁴ и R' представляют собой H, R² представляет собой CO₂Me, а R³ представляет собой OH, то R⁵ не является фенилом от 3-трет-бутоксикарбониламинопроп-1-илом;

(l) если R¹, R, R⁴, R' и R⁵ представляют собой H, а R² представляет собой CO₂Me, то R³ не является толуол-4-сульфониламино, пиперазин-1-илом, морфолин-1-илом, пиперидин-1-илом, 4-метилпиперазин-1-илом, 3-бензоиламинопроп-1-илом, фенэтилом, 3-трет-бутоксикарбониламинопропилом, 3-гидроксипропилом, амино или гекс-1-илом;

(m) если R¹, R⁴, R' и R⁵ представляют собой H, R² представляет собой CO₂Na and R³ представляет собой OH, то R не является фенилом;

(n) если R¹, R, R⁴, R' и R⁵ представляют собой H, а R² представляет собой CO₂H, то R³ не является фенилом, 4-хлорфенилом, фенэтилом, 3-гидроксипропилом, амино, морфолин-1-илом, пиперидин-1-илом, 4-метилпиперазин-1-илом, толуол-4-сульфониламино, 3-бензоиламинопроп-1-илом, аминопроп-1-инилом, гекс-1-илом, 5-гидроксипент-1-илом, пиперазин-1-илом или 2-(1-пиперазинил)пиримидинилом;

(o) если R¹, R' и R представляют собой H, R² представляет собой CO₂Me, а R³ представляет собой OH, то R⁴ и R⁵ не являются хлором;

(p) если R¹, R⁴, R' и R⁵ представляют собой H, R² представляет собой CO₂Me, а R³ представляет собой OH, то R не является бромом;

(q) если R¹, R' и R⁴ представляют собой H, R² представляет собой CO₂Me, а R³ представляет собой OH, то R и R⁵ не являются бромом;

(r) если R¹, R, R³, R' и R⁵ представляют собой H, а R² представляет собой CO₂H, то R⁴ не является фенилом, 4-хлорфенилом или фенилэтилом;

(s) если R^1 , R^5 , R' , R^4 , R^3 и R представляют собой H, то R^2 не является 2Н-тетразол-1-илом;

(t) если R^1 , R^5 , R^4 и R представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2H , а R^3 представляет собой OH, то R' не является 3,5-дихлорфенилом или 4-фторфенилом; и

(u) по крайней мере один заместитель из $R^1 - R^5$, R и R' не является H, субъекту, который в этом нуждается.

Далее, в соответствии с настоящим изобретением, соединение формулы I используется при изготовлении лекарства для лечения, ослабления и/или профилактики неврологического состояния.

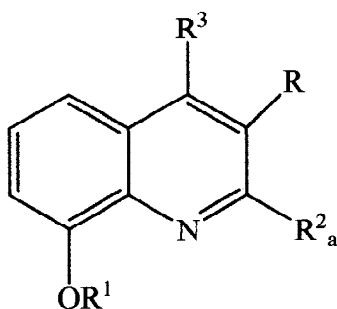
Изобретение предусматривает также использование соединения формулы I для лечения, ослабления и/или профилактики неврологического состояния.

Изобретение также обеспечивает соединение формулы I для использования при лечении, ослаблении и/или профилактике неврологического состояния..

Изобретение далее предусматривает использование соединения формулы I в качестве фармацевтического, предпочтительно нейротерапевтического или нейрозащитного средства, более предпочтительно в качестве антиамилоидогенного средства. Предпочтительно неврологическое состояние является нейродегенеративным состоянием, более предпочтительно – амилоидозом, таким как болезнь Альцгеймера.

Предпочтительными соединениями формулы I являются следующие:

(i) Формула Ia



Ia

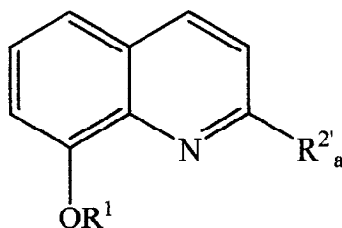
где:

R, R^1 и R^3 соответствуют определению в приведенной выше формуле I; и

R^2_a представляет собой H; замещенный или незамещенный C_{1-6} алкил;
 замещенный или незамещенный C_{1-6} алкенил; замещенный или незамещенный арил;
 замещенную или незамещенную гетероциклическую группу; антиоксидант;
 5 нацеливающую группу; COR^6_a или CSR^6_a , где R^6_a представляет собой H, замещенный или
 незамещенный C_{1-6} алкил, замещенный или незамещенный C_{2-6} алкенил, гидроксильную
 группу, замещенный или незамещенный арил, замещенную или незамещенную
 10 гетероциклическую группу или OR^7_a , SR^7_a или $NR^7_aR^8_a$, где R^7_a и R^8_a одинаковы или
 различны и выбраны из H, замещенного или незамещенного C_{1-6} алкила, замещенного или
 незамещенного C_{2-6} алкенила, замещенного или незамещенного арила или замещенной
 или незамещенной гетероциклической группы; CN; $CH_2NR^9_aR^{10}_a$, $HCONR^9_a$ или
 15 $HCCNR^9_aR^{10}_a$, где R^9_a и R^{10}_a одинаковы и различны и выбраны из H, замещенного или
 незамещенного C_{1-6} алкила, замещенного или незамещенного C_{2-6} алкенила, замещенного
 или незамещенного арила или замещенной или незамещенной гетероциклической
 20 группы; OR^{11}_a , SR^{11}_a or $NR^{11}_aR^{12}_a$, где R^{11}_a и R^{12}_a одинаковы или различны и выбраны из H,
 замещенного или незамещенного C_{1-6} алкила, замещенного или незамещенного C_{2-6}
 алкенила, замещенного или незамещенного арила или замещенной или незамещенной
 25 гетероциклической группы либо вместе образуют замещенную или незамещенную
 гетероциклическую группу; или $SO_2NR^{13}_aR^{14}_a$, где R^{13}_a и R^{14}_a одинаковы или различны и
 выбраны из H, замещенного или незамещенного C_{1-6} алкила, замещенного или
 незамещенного C_{2-6} алкенила, замещенного или незамещенного арила или замещенной
 30 или незамещенной гетероциклической группы.

Предпочтительными соединениями формулы Ia являются следующие:

- Формула IIa



IIa

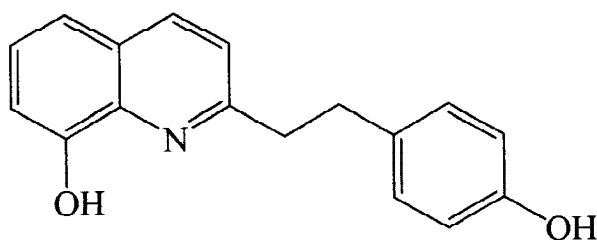
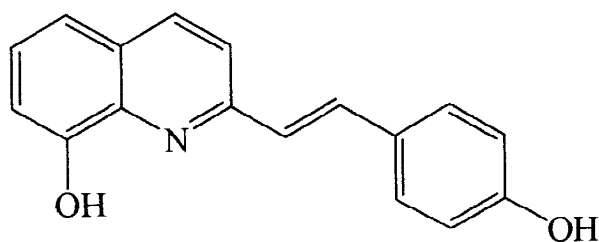
где:

R^1 соответствует определению в приведенной выше формуле I; и

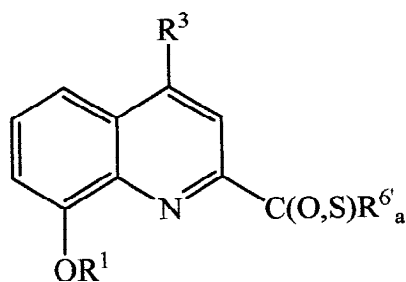
R^2_a представляет собой замещенный или незамещенный C_{1-6} алкил, замещенный или незамещенный C_{2-6} алкенил, замещенный или незамещенный арил либо замещенную или незамещенную гетероциклическую группу.

Формула IIa может обозначать соединения, в которых антиоксидантная группа присоединена к 8-гидроксихинолину в положении C2 таким образом, что воздействие ускоряющей окисление среды, то есть гидроксильных радикалов, приводит к возникновению молекулы с повышенными свойствами образовывать хелаты металлов.

Ниже приводятся репрезентативные примеры:



• Формула IIIa



IIIa

где:

R^1 и R^3 соответствуют определению в приведенной выше формуле I; и

R^6_a представляет собой замещенный или незамещенный C_{1-6} алкил,

замещенный или незамещенный C_{2-6} алкенил, гидроксильную группу, $OR^{7'}_a$, $SR^{7'}_a$,

$N_2R^{7'}_aR^{8'}_a$ или $NR^{7'}_aR^{8'}_a$, где $R^{7'}_a$ и $R^{8'}_a$ одинаковы или различны и выбраны из H,

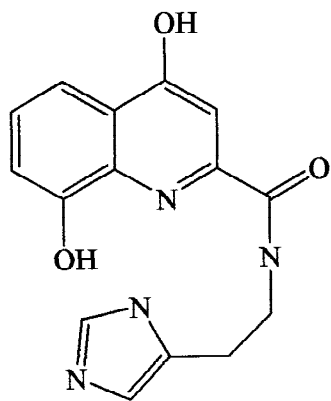
замещенного или незамещенного C_{1-6} алкила, замещенного или незамещенного арила
либо замещенной или незамещенной гетероциклической группы.

Формула IIIa обозначает соединения, в которых гидрофильная амидная
группа присоединена к 8-гидроксихинолину в положении C2, так что она увеличивает
растворимость и в то же время сохраняет проницаемость для мембран. Соединения

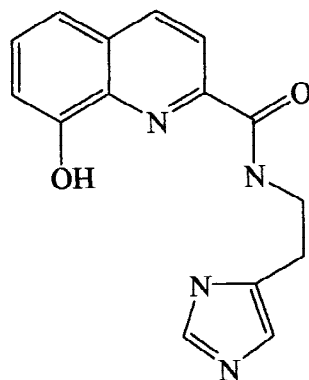
формулы IIIa также проявляют усиленные свойства образовывать хелаты металлов.

Ниже приводятся репрезентативные примеры:

5

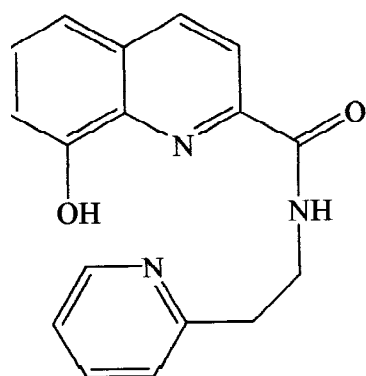


10

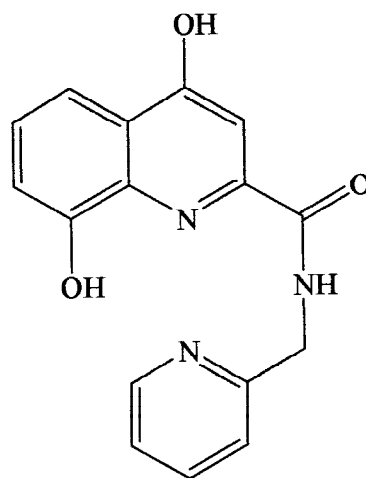


15

20

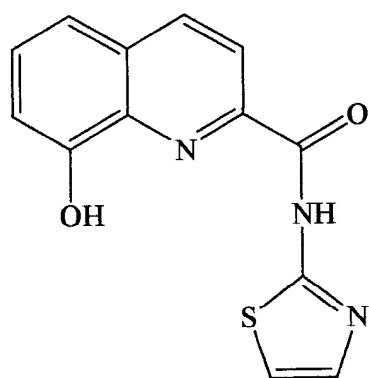


25

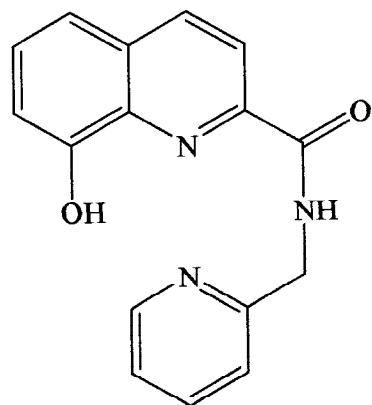


30

35



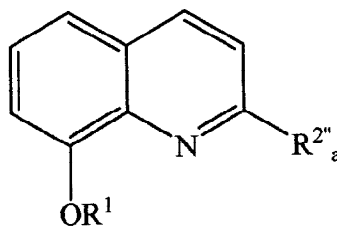
40



45

50

- Формула IVa



IVa

где:

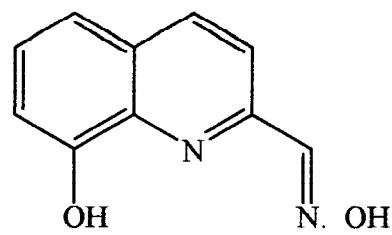
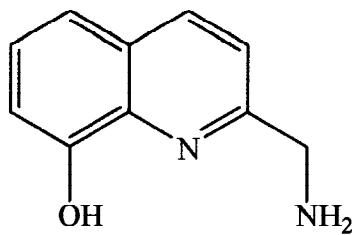
R^1 соответствует определению в приведенной выше формуле I; и

R^2_a представляет собой CN ; $CH_2NR^{9'}_aR^{10'}_a$, $HCNOR^{9'}_a$ или $HCNNR^{9'}_aR^{10'}_a$, где

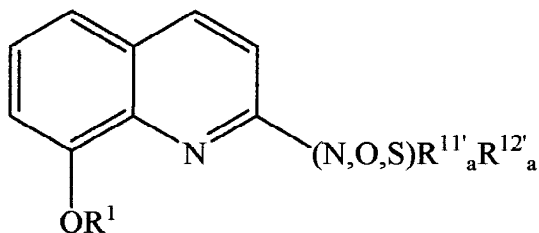
$R^{9'}_a$ и $R^{10'}_a$ одинаковы или различны и выбраны из H, замещенного или незамещенного C_{1-6} алкила, замещенного или незамещенного алкенила, замещенного или незамещенного арила либо замещенной или незамещенной гетероциклической группы.

Формула IVa обозначает соединения, которые имеют повышенные свойства образования хелатов металлов и оптимизированную активность в панели опытов, описанной ниже.

Ниже приводятся репрезентативные примеры:



• Формула Va



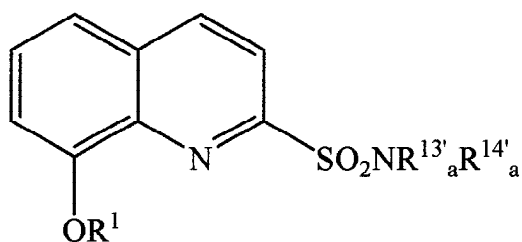
Va

где:

R^1 соответствует определению в приведенной выше формуле I; и

$R^{11'a}$ и $R^{12'a}$ одинаковы или различны и выбраны из H, замещенного или незамещенного C_{1-6} алкила, замещенного или незамещенного C_{2-6} алкенила, замещенного или незамещенного арила и замещенной или незамещенной гетероциклической группы, либо вместе образуют замещенную или незамещенную гетероциклическую группу.

• Формула VIa



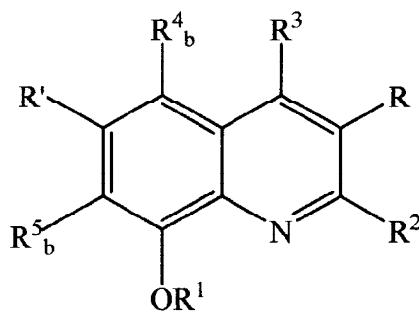
VIa

где:

R^1 соответствует определению в приведенной выше формуле I; и

R^{13}_a и R^{14}_a одинаковы или различны и выбраны из H, замещенного или незамещенного C_{1-6} алкила, замещенного или незамещенного C_{2-6} алкенила, замещенного или незамещенного арила либо замещенной или незамещенной гетероциклической группы.

(ii) Формула Ib



Ib

где:

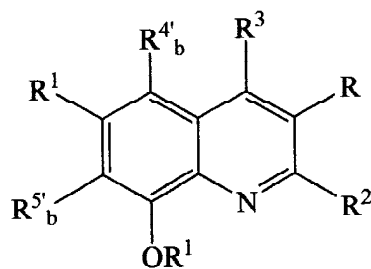
R^1 , R' , R, R^2 и R^3 соответствует определению в приведенной выше формуле I;

R^4_b и R^5_b одинаковы или различны и выбраны из H; замещенного или незамещенного C_{1-6} алкила; замещенного или незамещенного C_{2-6} алкенила; галогена; CN; CF_3 ; замещенного или незамещенного арила; замещенной или незамещенной гетероциклической группы; антиоксиданта; нацеливающей группы; SO_3H ; $SO_2NR^{13}_aR^{14}_a$, где R^{13}_a и R^{14}_a соответствуют определению в приведенной выше формуле Ia; либо OR^{15}_b , SR^{15}_b , $SO_2R^{15}_b$, $CONR^{15}_bR^{16}_b$ или $NR^{15}_bR^{16}_b$, где R^{15}_b и R^{16}_b одинаковы или различны и выбраны из H, замещенного или незамещенного C_{1-6} алкила, замещенного или незамещенного C_{2-6} алкенила, замещенного или незамещенного C_{1-6} ацила, замещенного или незамещенного арила либо замещенной или незамещенной гетероциклической группы,

включая указанные выше условия (a) – (c), (e), (g), (h), (I), (k), (o), (q), (r), и (u).

Предпочтительные соединения формулы Ib следующие:

- Формула IIb



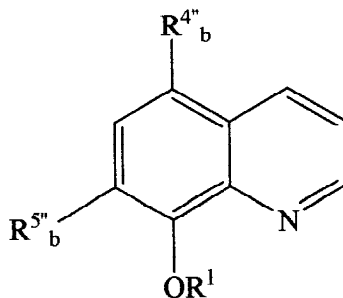
IIb

где:

R^1 , R^4 , R , R^2 и R^3 соответствуют определению в приведенной выше формуле I; и

$R^{4'}$ и $R^{5'}$ соответствуют определению в приведенной выше формуле Ib при условии, что по крайней мере один из них является галогеном, включая указанные выше условия (a), (c), (g), (h), (i), (o), (q) и (u).

- Формула IIIb



IIIb

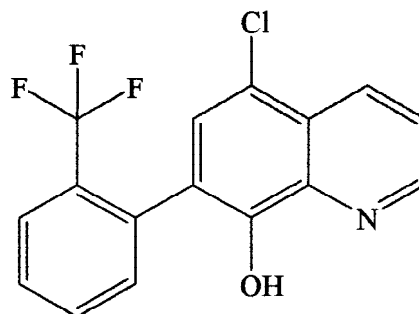
где:

R^1 соответствует определению в приведенной выше формуле I;

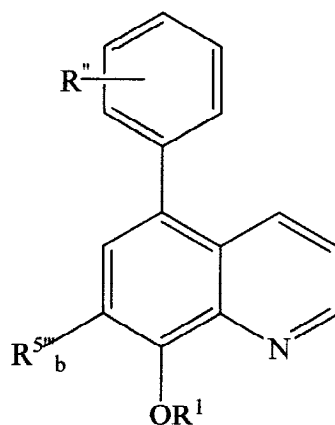
$R^{4''}$ представляет собой H или галоген; и

$R^{5''}$ представляет собой замещенный или незамещенный арил или замещенную или незамещенную гетероциклическую группу.

Ниже приводится репрезентативный пример.



- Формула IVb



IVb

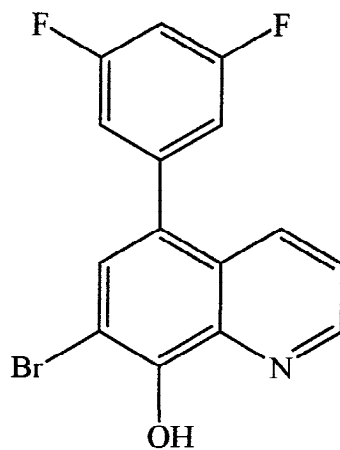
где:

R^1 соответствует определению в приведенной выше формуле I;

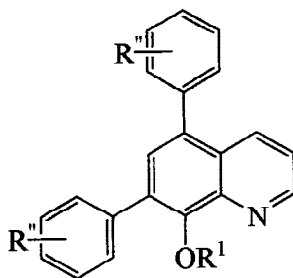
R'' представляет собой C_{1-6} алкоксигруппу, галоген, C_{1-6} алкил, C_{2-6} алкенил или C_{1-6} галогеналкил; и

R^{5b} представляет собой H или галоген.

Ниже приводится репрезентативный пример.



- Формула Vb

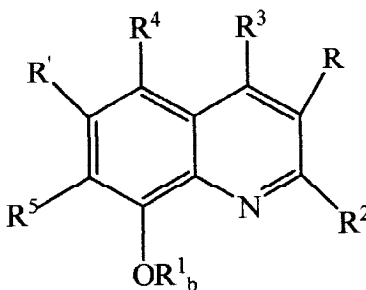


Vb

где:

R^1 соответствует определению в приведенной выше формуле I; и
 R'' соответствует определению в приведенной выше формуле IVb.

- Формула VIb



VIb

где:

$R^2 - R^5$, R и R' соответствуют определению в приведенной выше формуле I;

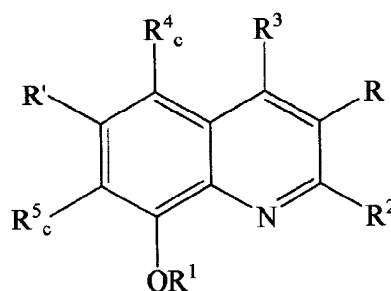
и

R^{1_b} представляет собой замещенный или незамещенный C_{1-6} алкил, замещенный или незамещенный арил, замещенный или незамещенный арилатил, C_{1-6} алкилатил либо замещенную или незамещенную гетероциклическую группу.

Формула VIb обозначает соединения, в которых 8-гидроксильная группа на хинолине блокируется с образованием пролекарства, в частности, эфирного пролекарства.

8-гидроксид является основным местом метаболизма для соединения формулы I: при сопряжении с глюкуроновой кислотой или сульфатом образуется гидрофильное вещество, готовое к выделению из организма. Такие сопряженные соединения, вероятно, не проходят гематоэнцефалический барьер. Эфирное пролекарство может защищать соединение формулы I от сопряжения. Эстеразы, присутствующие в гематоэнцефалическом барьере, могут затем высвободить C8-гидроксильную группу после прохождения барьера, активируя соединение, чтобы оно могло произвести свое действие в центральной нервной системе.

(iii) Формула Ic



Ic

где:

R^1 , R^2 , R^3 , R и R' соответствуют определению в приведенной выше формуле

I; и

по крайней мере один радикал из R^4_c и R^5_c является галогеном, а второй выбран из H, замещенного или незамещенного алкила, замещенного или незамещенного алкенила, замещенной или незамещенной алкоксигруппы, замещенного или незамещенного ацила, гидроксильной группы, замещенной или незамещенной аминогруппы, замещенной или незамещенной тиогруппы, замещенного или незамещенного сульфонилгруппы, замещенного или незамещенного сульфонила, замещенной или незамещенной сульфониламиногруппы, SO_3H , амина, CN, CF_3 , замещенного или незамещенного арила, замещенной или незамещенной гетероциклической группы, антиоксиданта и нацеливающей группы,

их соли, гидраты, сольваты, производные, пролекарства, таутомеры и/или изомеры –

при следующих условиях:

(a) если $R^1 - R^3$, R и R' представляют собой H, то R^4_c не является хлором или йодом, а R^5_c не является йодом;

(b) если R^1 , R^5_c , R' и R представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2H , а R^3 представляет собой OH, то R^4_c не является бромом;

(c) если R^1 , R и R' представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2H , а R^3 представляет собой OH, то R^4_c и R^5_c не являются хлором;

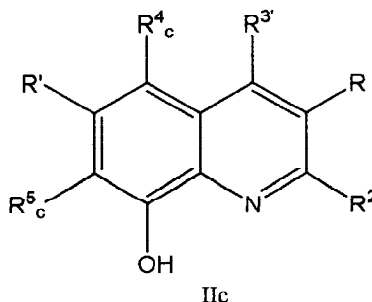
(d) если R^1 , R^4_c и R' представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2H или CO_2Me , а R^3 представляет собой OH, то R и R^5_c не являются бромом;

(e) если R^1 , R, R' и R^5_c представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2Me , а R^3 представляет собой OH, то R^4_c не является бромом; и

(f) если R^1 , R и R' представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2Me , а R^3 представляет собой OH, то R^4_c и R^5_c не являются хлором.

Предпочтительное соединение формулы Ic следующее:

• Формула Ic



где:

R^2 , R, R', R^4_c и R^5_c соответствуют определению, приведенному в формуле Ic;

и

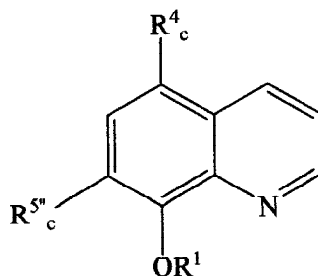
$R^{3'}$ представляет собой H, замещенный или незамещенный алкил, замещенный или незамещенный алкенил, замещенную или незамещенную алкоксигруппу, замещенный или незамещенный ацил, замещенную или незамещенную аминогруппу, замещенную или незамещенную тиогруппу, замещенный или незамещенный сульфонил, замещенный или незамещенный сульфинил, замещенную или незамещенную сульфоаминогруппу, галоген, SO_3H , амин, CN, CF_3 , замещенный или

незамещенный арил, замещенную или незамещенную гетероциклическую группу,
антиоксидант или нацеливающую группу,

при условии, что по крайней мере один из радикалов R , R^2 и $R^{3'}$ не является

H.

Ниже приведены репрезентативные примеры:



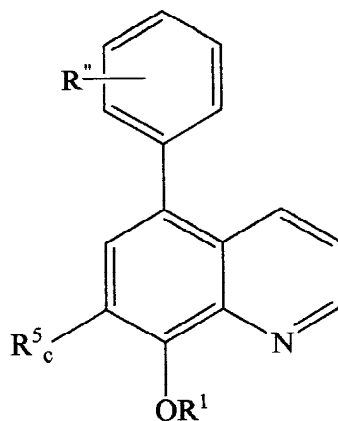
IIIc

где:

R^1 соответствует определению в формуле I, а R^4_c соответствует определению в формуле Ic; и

R^{5_c} представляет собой замещенный или незамещенный арил или замещенную или незамещенную гетероциклическую группу;

• Формула IVc

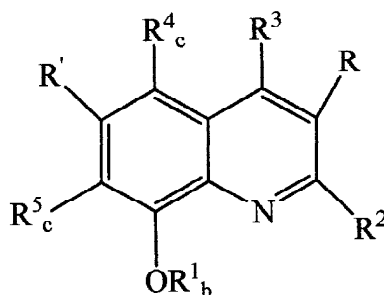


IVc

где:

R^1 соответствует определению в формуле I, R^5_c соответствует определению в формуле Ic и R'' соответствует определению в формуле IVb; и

• Формула Vc



Vc

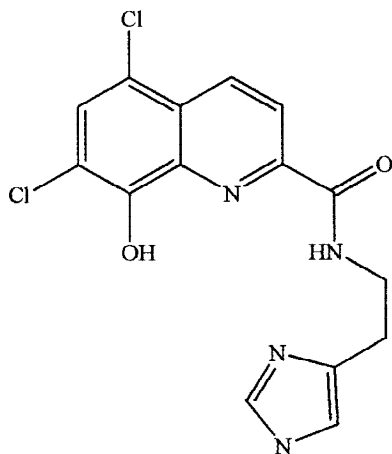
где:

R^2 , R^3 , R и R' соответствуют определению в формуле I, R^4_c и R^5_c соответствуют определению в формуле Ic, а R^1_b соответствует определению в формуле VIb.

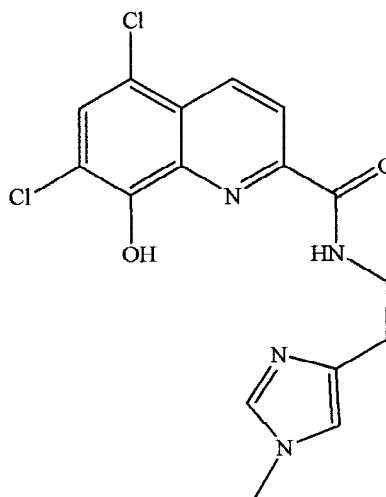
В особо предпочтительном варианте осуществления изобретения соединение формулы I является соединением формулы Ib, IIb или Ic, где R^4_b и R^5_b , $R^4_{b'}$ и $R^5_{b'}$ или R^4_c и R^5_c , соответственно, оба являются галогенами, предпочтительно хлором. Предпочтительно по крайней мере один из радикалов R^2 , R , R^3 и R' представляет собой замещенный или незамещенный алкил, замещенный или незамещенный арил, замещенную или незамещенную гетероциклическую группу, $(CH_2)_nNR^9R^{10}$, где R^9 и R^{10} соответствуют приведенному выше определению, а n составляет от 1 до 4, COR^6 , где R^6 представляет собой NR^7R^8 , OR^7 или SR^7 , где R^7 и R^8 соответствуют приведенному выше определению, или $NR^{11}R^{12}$, OR^{11} , SR^{11} , где R^{11} и R^{12} соответствуют приведенному выше определению.

Представляется, что заместители R , R^3 и R' оказывают ограниченное воздействие, электронное или стерическое, на хелатообразующие свойства соединений, соответствующих настоящему изобретению. Поэтому замещение в этих положениях может быть использовано для регулирования других параметров, таких как цитотоксичность и физико-химические свойства, в том числе количество доноров и

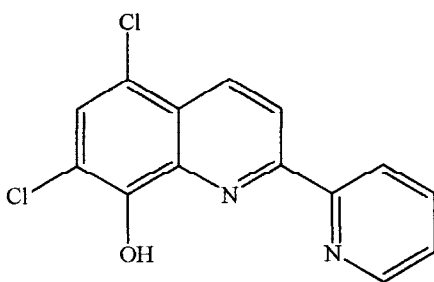
акцепторов водородной связи, липофильность (ClogP, ElogP и LogD), растворимость и площадь полярной поверхности. Изменение этих параметров влияет на оптимизацию фармакокинетического профиля соединений. Допускается также, что заместитель R^2 не только регулирует цитотоксичность и физико-химические свойства, но и может влиять на активность, если этот заместитель имеет хелатообразующие свойства. Примеры особо предпочтительных соединений с заместителями R^2 , обладающими свойствами образования хелатов, приводятся ниже.



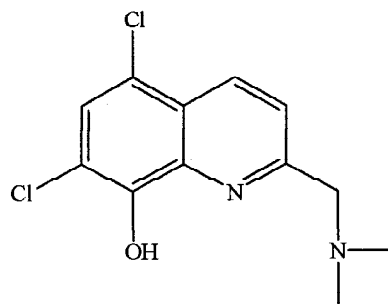
PBT 1038



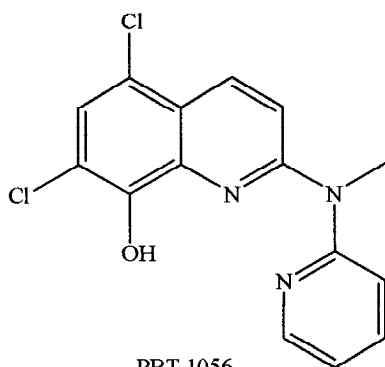
PBT 1050



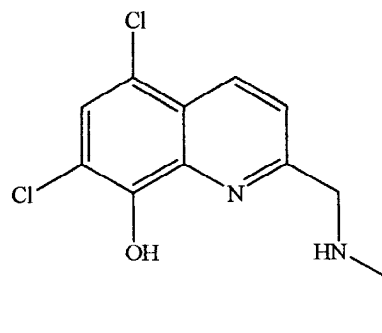
PBT 1052



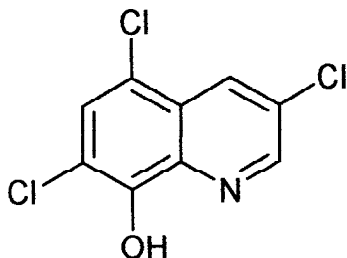
PBT 1033



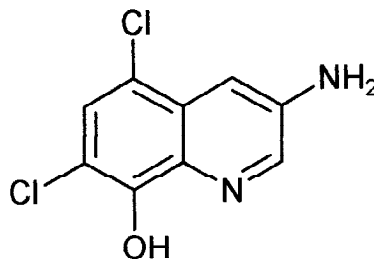
PBT 1056



PBT 1051



PBT 1058



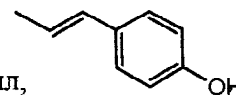
PBT 1060

Еще в одном аспекте настоящее изобретение предлагает фармацевтическую или ветеринарную композицию, содержащую соединение формулы I, определение которого дано выше, вместе с носителем, приемлемым с фармацевтической или ветеринарной точки зрения.

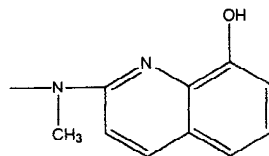
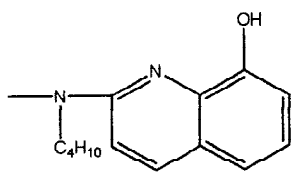
Некоторые из соединений формулы I являются новыми сами по себе.

Соответственно, изобретение обеспечивает соединение II, которое представляет собой соединение формулы I при соблюдении следующих условий:

(a) если R^1 и $R^3 - R^5$, R и R' замещены H, то R^2 не H, метил,



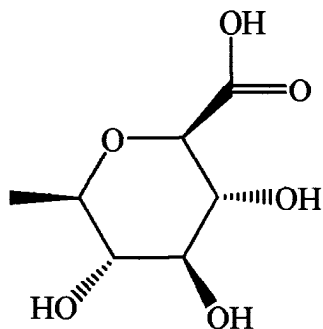
CO_2H , CN, $CONCH_2CO_2H$, $COCH_3$, CH_2NH_2 , CNOH, (пирид-2-ил), 2-гидроксифенил, $CHNHNH_2$, NH-(пирид-2-ил),



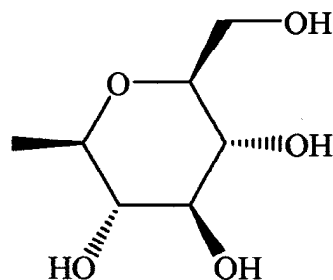
или SO_3H ;

(b) если R^1 и $R^4 - R^7$ представляют собой H, то R^3 не является OH, а R^2 не является CO_2H ;

(c) если $R^1 - R^3$, R^6 и R^7 представляют собой H, то (i) если R^5 представляет собой I, R^4 не является Cl, SO_3H или I; (ii) если R^5 представляет собой H, R^4 не является SO_3H , NH_2 или Cl; (iii) R^4 и R^5 оба не являются Cl, Br или CH_3 ; и (iv) если $R^2 - R^7$ представляют собой H, то R^1 не является

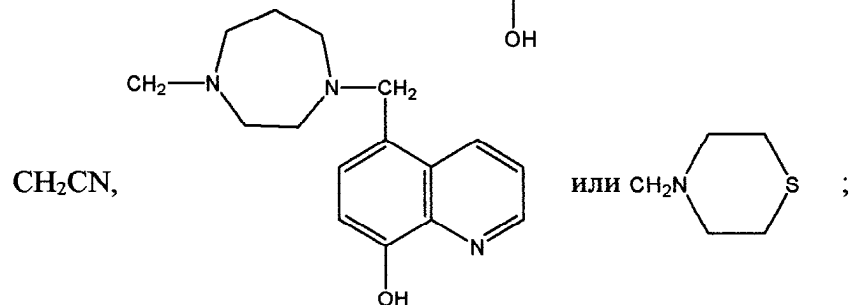
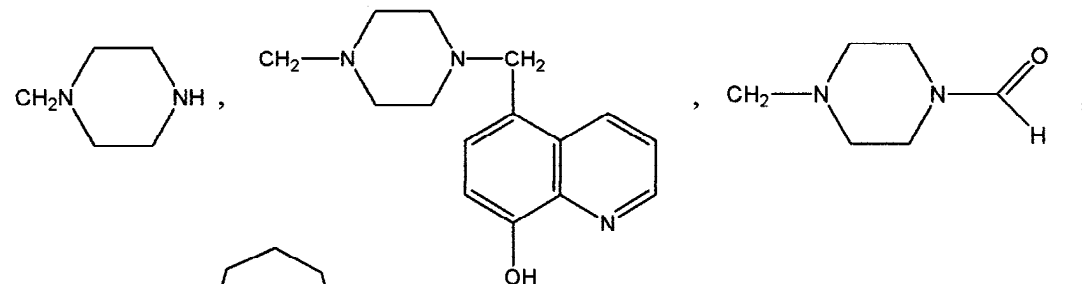
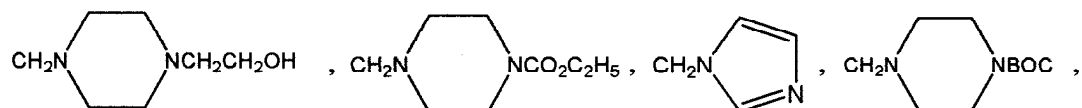
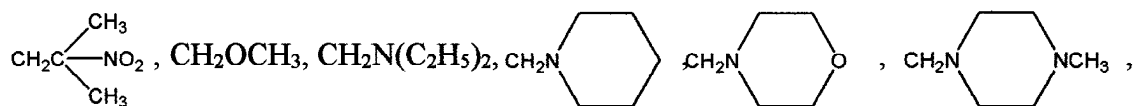


или



(d) если $R^1 - R^3$, R и R' представляют собой H , то R^4 не является Cl или I , а R^5 не является I ;

(e) если $R^1 - R^3$, R , R' и R^5 представляют собой H , то R^4 не является CHO , $CHONCCl_3$,



(f) если R^1 , R^5 , R' и R представляют собой H , R^2 представляет собой CO_2H , а R^3 представляет собой OH , то R^4 не является бромом, метилом, фенилом, гидроксиметилом или трифторметилом;

(g) если R^1 , R^4 , R^5 и R представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2H , а R^3 представляет собой OH, то R' не является бромом, йодом, метилом, фенилом, пропилом, фенэтилом, гептилом, бензиламинометилом, 3-аминопропилом, 3-гидроксипропилом, 4-метоксифенилом, 3-метилфенилом, 4-хлорфенилом, 3,4-дихлорфенилом, пиридин-3-илом, фууро-2-илом, 4-хлорфенилом, 3,4-дихлорфенилом, 2-хлорфенилом, 3-хлорфенилом, 2-метоксифенилом или пиперидин-2-илом;

(h) если R^1 , R^4 , R и R' представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2H , а R^3 представляет собой OH, то R^5 не является фенилом, 3-гидроксипропилом, фенэтилом, 3-аминопроп-1-илом или гекс-1-илом;

(i) если R^1 , R^4 , R' и R^5 представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2H , а R^3 представляет собой OH, то R не является N-морфолинометилом, бромом или фенилом;

(j) если R^1 , R и R' представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2H , а R^3 представляет собой OH, то R^4 и R^5 не являются хлором;

(k) если R^1 , R^4 и R' представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2H , а R^3 представляет собой OH, то R и R^5 не являются бромом;

(l) если R^1 , R, R' и R^5 представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2Me , а R^3 представляет собой OH, то R^4 не является гидроксиметилом, фенилом или бромом;

(m) если R^1 , R, R^4 и R^5 представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2Me , а R^3 представляет собой OH, то R' не является 4-метоксифенилом, 3-метилфенилом, пиридин-3-илом, бензилом, бромом, 4-хлорфенилом, 3,4-дихлорфенилом, 3-гидроксипропилом или 3-трет-бутоксикарбониламинопропилом;

(n) если R^1 , R, R^4 и R' представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2Me , а R^3 представляет собой OH, то R^5 не является фенилом или 3-трет-бутоксикарбониламинопроп-1-илом;

(o) если R^1 , R, R^4 , R' и R^5 представляют собой H, а R^2 представляет собой CO_2Me , то R^3 не является толуол-4-сульфаниламиногруппой, пиперазин-1-илом, морфолин-1-илом, пиперидин-1-илом, 4-метилпиперазин-1-илом, 3-бензоиламинопроп-1-илом, фенэтилом, 3-трет-бутоксикарбониламинопропилом, 3-гидроксипропилом, аминогруппой или гекс-1-илом;

(p) если R^1 , R^4 , R' и R^5 представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2Na , а R^3 представляет собой OH, то R не является фенилом;

(q) если R^1 , R, R^4 , R' и R^5 представляют собой H, а R^2 представляет собой CO_2H ,

то R^3 не является фенилом, 4-хлорфенилом, фенэтилом, 3-гидроксипропилом, аминогруппой, морфолин-1-илом, пиперидин-1-илом, 4- метилпиперазин-1-илом, толуол-4-сульфаниламиногруппой, 3- бензоиламинопроп -1-илом, аминпроп-1-инилом, гекс-1-илом, 5-гидроксипент-1-илом, пиперазин-1-илом или 2-(1-пиперазинил)пиримидинилом;

(r) если R^1 , R' и R представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2Me , а R^3 представляет собой OH, то R^4 и R^5 не являются хлором;

(s) если R^1 , R^4 , R' и R^5 представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2Me , а R^3 представляет собой OH, то R не является бромом;

(t) если R^1 , R' и R^4 представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2Me , а R^3 представляет собой OH, то R и R^5 не являются бромом;

(u) если R^1 , R , R^3 , R' и R^5 представляют собой H, а R^2 представляет собой CO_2H , то R^4 не является фенилом, 4-хлорфенилом или фенилэтилом;

(v) если R^1 , R^5 , R' , R^4 , R^3 и R представляют собой H, то R^2 не является 2H-тетразол-1-илом;

(w) если R^1 , R^5 , R^4 и R представляют собой H, R^2 представляет собой CO_2H , а R^3 представляет собой OH, то R' не является 3,5-дихлорфенилом или 4-фторфенилом; и

(x) по крайней мере один из заместителей $R^1 - R^5$, R и R' не является H;

(y) если $R^1 - R^3$, R^5 , R' и R представляют собой H, то R^4 не является хлором, NH_2 или SO_3H ; и

(z) если R^1 , $R^3 - R^5$, R и R' представляют собой H, то R^2 не является CH_3 .

Предпочтительным вариантом изобретения является соединение Ic при следующих дополнительных условиях:

(g) если $R^1 - R^3$, R и R' представляют собой H, то ни один из R^4_c и R^5_c не является хлором или бромом; и

(h) если $R^1 - R^3$, R^5_c , R и R' представляют собой H, то R^4_c не является хлором, причем более предпочтительно соединение формулы IIc.

Определенное выше соединение формулы II можно получить способами, подробно описанными ниже.

Следует ясно понимать, что в данном описании слово "содержащий" означает "включающий, но не только", а слово "содержит" имеет соответствующее значение.

Термин "алкил", используемый самостоятельно или в сложных словах и

словосочетаниях, таких как "замещенный или незамещенный алкил", "галогеналкил" или "алкилацил", обозначает углеводородные группы с неразветвленной цепью, разветвленной цепью или циклические, имеющие от 1 до 10 атомов углерода, предпочтительно от 1 до 6 атомов углерода, еще более предпочтительно от 1 до 4 атомов углерода. Примером таких алкильных групп являются метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, пентил, неопентил, гексил, циклопропил, циклобутил, циклопентил или циклогексил.

Термин "алкенил", используемый самостоятельно или в сложных словах и словосочетаниях, таких как "замещенный или незамещенный алкенил", обозначает линейные, разветвленные или моно- либо полициклические радикалы по крайней мере с одной углерод-углерод двойной связью, имеющие от 2 до 20 атомов углерода, предпочтительно от 2 до 14 атомов углерода, еще предпочтительнее от 2 до 6 атомов углерода. Примерами алкенильных радикалов являются аллил, этенил, пропенил, бутенил, изобутенил, 3-метил-2-бутенил, 1-пентенил, циклопентенил, 1-метилциклопентенил, 1-гексенил, 3-гексенил, циклогексенил, 1-гептенил, 3-гептенил, 1-октенил, циклооктенил, 1-ноненил, 2-ноненил, 3-ноненил, 1-деценил, 3-деценил, 1,3-бутадиенил, 1,4-пентадиенил, 1,3-циклопентадиенил, 1,3-гексадиенил, 1,4-гексадиенил, 1,3-циклогексадиенил, 1,4-циклогексадиенил, 1,3-циклогептадиенил, 1,3,5-циклогептатриенил, 1,3,5,7-циклооктатетраенил и т.п.

Термин "ацил", используемый самостоятельно или в сложных словах и словосочетаниях, таких как "замещенный или незамещенный ацил", "арилацил" или "алкилацил", означает карбамоил, алифатическую ацильную группу, ацильную группу, содержащую ароматическое кольцо, которую называют ароматическим ацилом, или ацильную группу, содержащую гетероциклическое кольцо, которую называют гетероциклическим ацилом, имеющие от 1 до 20 атомов углерода, предпочтительно от 1 до 14 атомов углерода. Примеры ацилов включают карбамоилы; алканоилы с неразветвленной или разветвленной цепью, такие как формил, ацетил, пропаноил, бутаноил, 2-метилпропаноил, пентаноил, 2,2-диметилпропаноил, гексаноил, гептаноил, октаноил, нонаноил, деканоил, ундеканоил, додеканоил, тридеканоил, тетрадеканоил, пентадеканоил, гексадеканоил, гептадеканоил, октадеканоил, нонадеканоил или икосаноил; алкоксикарбонилы, такие как метоксикарбонил, этоксикарбонил, трет-бутоксикарбонил, трет-пентилоксикарбонил или гептилоксикарбонил; циклоалкилкарбонилы, такие как циклопропилкарбонил, циклобутилкарбонил,

циклопентил, карбонил или циклогексилкарбонил; алкилсульфони́лы, такие как метилсульфонил или этилсульфонил; алкоксисульфони́лы, такие как метоксисульфонил или этоксисульфонил; ароилы, такие как бензоил, толуоил или нафтоил; аралканоилы, такие как фенилалканоил, например, фенилацетил, фенилпропаноил, фенилбутаноил, фенилизобутил, фенилпентаноил или фенилгексаноил, или нафтилалканоил, например, нафтилацетил, нафтилпропаноил или нафтилбутаноил; аралкеноилы, такие как фенилалкеноил, например, фенилпропеноил, фенилбутеноил, фенилметакрилил, фенилпентеноил или фенилгексеноил, или нафтилалкеноилы, например, нафтилпропеноил, нафтилбутеноил или нафтилпентеноил; аралкоксикарбони́лы, такие как фенилалкоксикарбонил, например, бензилоксикарбонил; арилоксикарбони́лы, такие как феноксикарбонил или нафтилоксикарбонил, арилоксиалканоилы, такие как феноксиацетил или феноксипропионил, арилкарбамоилы, такие как фенилкарбамоил; арилкарбамоилы, такие как фенилкарбамоил; арилтиокарбамоилы, такие как фенилтиокарбамоил; арилглиоксилоилы, такие как фенилглиоксилоил или нафтиглиоксилоил; арисульфони́лы, такие как фенилсульфонил или нафтилсульфонил; гетероциклические карбони́лы; гетероциклические алканоилы, такие как тиенилацетил, тиенилпропаноил, тиенилбутаноил, тиенилпентаноил, тиенилгексаноил, тиазолилацетил, тиадиазолилацетил или тетразолилацетил; гетероциклические алкеноилы, такие как гетероциклический пропеноил, гетероциклический бутеноил, гетероциклический пентеноил или гетероциклический гексеноил; или гетероциклические глиоксилоилы, такие как тиазолилглиоксилоил или тиенглиоксилоил.

Термин "гетероциклическая группа", используемый самостоятельно или в сложных словах и словосочетаниях, таких как "замещенный или незамещенный гетероцикл", обозначает моноциклические или полициклические гетероциклические группы, содержащие, по крайней мере, один гетероатом, выбранный из азота, серы и водорода.

Пригодные для использования в настоящем изобретении гетероциклические группы включают N-содержащие гетероциклические группы, такие как ненасыщенные 3-6-членные гетеромоноциклические группы, содержащие от 1 до 4 атомов азота, например, пирролил, пирролинил, имидазолил, пиразолил, пиридил, пиримидинил, пиазинил, пиридазинил, триазолил или тетразолил;

насыщенные 3-6-членные гетеромоноциклические группы, содержащие от 1

до 4 атомов азота, такие как пирролидинил, имидазолидинил, пиперидил или пиперазинил;

ненасыщенные конденсированные гетероциклические группы, содержащие от 1 до 5 атомов азота, такие как индолил, изоиндолил, индолизинил, бензимидазолил, хинолил, изохинолил, индазолил, бензотриазолил или тетразолопиридазинил;

ненасыщенные 3-6-членные гетеромоноциклические группы, содержащие атом кислорода, такие как пиранил или фурил;

ненасыщенные 3-6-членные гетеромоноциклические группы, содержащие от 1 до 2 атомов серы, такие как тиенил;

ненасыщенные 3-6-членные гетеромоноциклические группы, содержащие от 1 до 2 атомов кислорода и от 1 до 3 атомов азота, такие как оксазолил, изоксазолил или оксадиазолил;

насыщенные 3-6-членные гетеромоноциклические группы, содержащие от 1 до 2 атомов кислорода и от 1 до 3 атомов азота, такие как морфолинил;

ненасыщенные конденсированные гетероциклические группы, содержащие от 1 до 2 атомов кислорода и от 1 до 3 атомов азота, такие как бензоксазолил или бензоксадиазолил;

ненасыщенные 3-6-членные гетеромоноциклические группы, содержащие от 1 до 2 атомов серы и от 1 до 3 атомов азота, такие как тиазолил или тиадиазолил;

насыщенные 3-6-членные гетеромоноциклические группы, содержащие от 1 до 2 атомов серы и от 1 до 3 атомов азота, такие как тиазолидинил; и

ненасыщенные конденсированные гетероциклические группы, содержащие от 1 до 2 атомов серы и от 1 до 3 атомов азота, такие как бензотиазолил или бензотиадиазолил.

Предпочтительно гетероцикл представляет собой ненасыщенную 5-6-членную гетеромоноциклическую группу, содержащую от 1 до 3 атомов азота, такую как имидазолил, триазолил, пиразолил или пиридинил; ненасыщенную конденсированную гетероциклическую группу, такую как хинолил или бензотиадиазолил; ненасыщенную 5-членную, гетеромоноциклическую группу, содержащую от 1 до 2 атомов серы, такую как тιοфенил; или ненасыщенную 5-6-членную гетеромоноциклическую группу, содержащую от 1 до 2 атомов серы и от 1 до 2 атомов азота, такую как тиазолил.

Термин "арил", используемый самостоятельно или в сложных словах и словосочетаниях, таких как "замещенный или незамещенный арил" или "арилацил",

означает карбоциклическую ароматическую систему, содержащую одно, два или три разнесенных или конденсированных кольца. Термин "арил" охватывает ароматические радикалы, такие как фенил, нафтил, тетрагидронафтил, индан и бифенил.

Термин "галоген" означает фтор, хлор, бром или йод.

Термин "замещенный или незамещенный тио" означает такие варианты заместителей, как радикалы, содержащие линейный или разветвленный алкил, имеющий от 1 до 10 атомов углерода, предпочтительно от 1 до 6 атомов углерода, еще более предпочтительно от 1 до 4 атомов углерода, присоединенный к атому двухвалентной серы. Среди примеров алкилтиорадикалов можно назвать метилтио, этилтио, пропилтио, бутилтио и гексилтио.

Термин "замещенный или незамещенный сульфинил" означает такие варианты заместителей, как радикалы, содержащие линейный или разветвленный алкильный радикал, имеющий от 1 до 10 атомов углерода, предпочтительно от 1 до 6 атомов углерода, еще более предпочтительно от 1 до 4 атомов углерода, присоединенный к двухвалентному радикалу $-S(=O)-$. Среди примеров можно назвать метилсульфинил, этилсульфинил, бутилсульфинил и гексилсульфинил.

Термин "замещенный или незамещенный сульфонил" означает такие варианты заместителей, как радикалы, содержащие линейный или разветвленный алкильный радикал, имеющий от 1 до 10 атомов углерода, предпочтительно от 1 до 6 атомов углерода, еще более предпочтительно от 1 до 4 атомов углерода, присоединенный к двухвалентному радикалу $-SO_2-$. Среди примеров можно назвать метилсульфонил, этилсульфонил, и пропилсульфонил.

Термин "алкокси" означает кислородсодержащие радикалы с неразветвленной или разветвленной цепью, каждый из которых предпочтительно имеет алкильные группы, содержащие от 1 до 5 атомов углерода. Примеры алкокси включают метокси, этокси, пропокси, бутокси и *трет*-бутокси.

Термин "замещенный или незамещенный" относится к группе, которая может или не может быть далее замещена одной или несколькими группами, выбранными из следующих: алкил, алкенил, алкинил, арил, альдегидная группа, галоген, галогеналкил, галогеналкенил, галогеналкинил, галогенарил, гидроксид, алкокси, алкенилокси, арилокси, бензилокси, галогеналкокси, галогеналкенилокси, галогенарилокси, нитро, нитроалкил, нитроалкенил, нитроалкинил, нитроарил, нитрогетероцикл, амино, алкиламино, диалкиламино, алкениламино, алкиниламины, ариламины, диариламины, бензиламины,

дибензиламино, ацил, алкенилацил, алкинилацил, арилацил, ациламино, диациламино, ацилокси, алкилсульфонилокси, арилсульфенилокси, гетероцикл, гетероциклокси, гетероцикламино, галогенгетероцикл, алкилсульфенил, арилсульфенил, карбоалкокси, карбоарилокси, меркапто, алкилтио, бензилтио, ацилтио, циано, фосфорсодержащие группы и т.п. Предпочтительно заместителем является C₁₋₆ алкил, более предпочтительно C₁₋₄ алкил; CF₃; фтор; хлор; йод; циано; C₁₋₆ алкокси, более предпочтительно C₁₋₄ алкокси; арил; гетероарил; амино; или алкиламино.

Термин "антиоксидант" используется здесь в его самом широком смысле и обозначает группу, способную реагировать с реактивными видами кислорода, такими как гидроксильный радикал, с образованием нетоксичного продукта. Среди примеров можно назвать фенолы, такие как 3,4,5-триметилксифенил и 3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил, индоламины, такие как мелатонин, и флавоноиды. Другие примеры можно найти в литературе (Wright, 2001; Karbownik, 2001; Gilgun-Sherki, 2001).

Термин "нацеливающая группа" используется здесь в его самом широком смысле и относится к группе, которая облегчает доставку лекарства в мозг посредством активного механизма транспортировки. Нацеливающая группа распознается особыми транспортирующими ферментами, являющимися частью гематоэнцефалического барьера, и такие ферменты при этом обеспечивают механизм поступления лекарства в мозг. Как правило, такие транспортировщики являются натрийзависимыми, и их субстраты содержат карбоксильные кислоты, такие как аскорбиновая кислота и L-глутамат. Объединение нацеливающей группы с лекарством осуществляется таким образом, что ее кислотная составляющая сохраняется. Примеры можно найти в литературе (Manfredini, 2002, Tamia, 1999).

Термин "хелатообразователь" используется здесь в его самом широком смысле и относится к соединениям, имеющим два или более донорных атома, способных образовывать связи с атомом металла, предпочтительно Cu, Zn или Fe, когда, по крайней мере, два донорных атома способны одновременно соединяться с атомом металла, причем термодинамическая стабильность образующегося комплекса больше или равна стабильности иона металла: биологический лигандный комплекс. Использование хелатообразователей как средств лечения неврологических расстройств в соответствии с настоящим изобретением отличается от известной концепции "хелатотерапии". "Хелатотерапия" – это термин, клинически относящийся к выведению металлов, например, при болезни Уилсона, В-таллессемии и гемохроматозе. Нарушение гомеостаза

металлов при этих болезнях можно описать как катастрофическое событие, похожее на прорыв плотины, который приводит к затоплению проблемным металлом. Механизм действия таких соединений заключается в том, что металл захватывается хелатообразователями и выводится через пути выделения. По сравнению с этим нарушение гомеостаза металлов, связанное с неврологическими состояниями, к которым относится настоящее изобретение, больше похоже на постоянное капание из протекающего крана, которое, если продолжается достаточно долго, в конце концов вызывает местное повреждение. Цель "хелатообразователя" в настоящем изобретении – прервать аномальное взаимодействие между металлом и белком, чтобы достичь тонкого перераспределения металлов и последующей нормализации распределения металлов; тогда произойдет короткое замыкание токсического цикла, и эндогенные процессы очищения смогут более эффективно справляться с накапливающимся амилоидогенным белком.

Соли соединения по формуле I или II предпочтительно являются фармацевтически приемлемыми, но следует понимать, что фармацевтически неприемлемые соли также входят в объем настоящего изобретения, поскольку они могут использоваться как промежуточные соединения при получении фармацевтически приемлемых солей. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают соли фармацевтически приемлемых катионов, таких как натрий, калий, литий, кальций, магний, аммоний и алкиламмоний; соли фармацевтически приемлемых неорганических кислот, например, соляной, ортофосфорной, серной, фосфорной, азотной, угольной, борной, сульфаминовой и бромистоводородной кислоты; или соли фармацевтически приемлемых органических кислот, таких как уксусная, пропионовая, масляная, винная, малеиновая, гидроксималеиновая, фумаровая, лимонная, молочная, слизевая, глюконовая, бензойная, янтарная, щавелевая, фенилуксусная, метансульфокислота, тригалометансульфокислота, толуолсульфокислота, бензолсульфокислота, салициловая, сульфаниловая, аспарагиновая, глютаминовая, этилендиаминтетрауксусная, стеариновая, пальмитиновая, олеиновая, лауриновая, пантотеновая, дубильная, аскорбиновая и валериановая кислоты.

Кроме того, некоторые из соединений, соответствующих настоящему изобретению, могут образовывать сольваты с водой или обычными органическими растворителями. Такие сольваты входят в объем настоящего изобретения.

Под термином "фармацевтически приемлемое производное"

подразумевается любая фармацевтическая соль, гидрат, эфир, амид, активный метаболит, аналог, радикал или любое другое соединение, которое не является нежелательным в биологическом или ином отношении и вызывает желаемый фармакологический и/или физиологический эффект.

Термин "пролекарство" используется здесь в его самом широком смысле и включает те соединения, которые *in vivo* преобразуются в соединения формулы I или II. Использование стратегии пролекарства оптимизирует доставку лекарства на место его воздействия, например, в мозг. В одном аспекте этот термин означает присутствие C₁₋₆ алкильной или арилэфирной группы, которая должна противостоять гидролизу, пока пролекарство не пересечет гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), после чего эстеразы на внутренней поверхности ГЭБ гидролизуют эфир и высвобождают C₈ гидроксил из соединений формулы I или II. Во втором аспекте этот термин относится к присоединению к 8-гидроксинолиновой основе, в положении C2, антиоксидантной группы, в частности, 3,4,5-триметоксифенила или его производных. Затем воздействие ускоряющей окисление среды мозга приводит к гидроксильрованию 3,4,5-триметоксифенильной группы с образованием 2-гидрокси-3,4,5-триметоксифенильного заместителя, гидроксильная группа которого усиливает хелатообразующие свойства соединений формулы I или II.

Термин "таутомер" используется здесь в его самом широком смысле и включает соединения формулы I или II, способные существовать в состоянии равновесия между двумя изомерными формами. Такие соединения могут отличаться друг от друга связями, соединяющими два атома или группы, а также положением этих атомов или групп в соединении.

Термин "изомер" используется здесь в его самом широком смысле и включает структурные, геометрические и стереоизомеры. Поскольку соединение I или II может иметь один или несколько хиральных центров, оно способно существовать в энантиомерических формах.

Композиции, соответствующие настоящему изобретению, содержат по крайней мере одно соединение формулы I или II вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями и, возможно, другими терапевтическими агентами. Каждый носитель, разбавитель, вспомогательный ингредиент и/или наполнитель должен быть фармацевтически "приемлемым", то есть быть совместимым с другими ингредиентами композиции и не быть вредным для пациента. Композиции включают составы, пригодные для перорального, ректального, назального, местного

(включая зашеечное и подъязычное), вагинального или парентерального (включая подкожное, внутримышечное, внутривенное и внутрикожное) введения.

Композиции удобно вводить в форме единичной дозы, и их легко приготовить методами, хорошо известными фармацевтам. Такие методы включают объединение активного ингредиента с носителем, который представляет собой один или несколько вспомогательных ингредиентов. Как правило, композиции приготавливаются путем введения активного ингредиента в равномерный и тесный контакт с жидкими носителями, разбавителями, вспомогательными средствами и/или наполнителями, или с тонко измельченными твердыми носителями, или с тем и другим вместе, и затем при необходимости придания формы продукту.

Термин "неврологическое состояние" используется здесь в его самом широком смысле и относится к состояниям, когда различные типы клеток нервной системы дегенерируют и/или повреждены в результате нейродегенеративных нарушений, травм или воздействий. В частности, соединения формулы I или II можно использовать для лечения состояний, при которых повреждение клеток нервной системы возникло вследствие хирургических вмешательств, инфекций, воздействия токсичных агентов, опухолей, дефицита питания или нарушений обмена веществ. Кроме того, соединения формулы I или II можно использовать для лечения последствий нейродегенеративных расстройств, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, рассеянный склероз, боковой амиотрофический склероз, эпилепсия, токсикомания или наркомания (алкоголь, кокаин, героин, амфетамин и т.п.), расстройства и/или травмы спинного мозга, дистрофия или дегенерация сетчатки (ретинопатии) и периферийные невропатии, такие как диабетическая невропатия и/или периферийные невропатии, вызванные токсинами.

Термин "нейродегенеративное расстройство" в том смысле, в каком он здесь используется, означает аномалию, угрожающую целостности нервных клеток. Она может находиться под угрозой, когда нервные клетки проявляют сниженную способность к выживанию или когда нейроны не могут больше распространять сигнал.

Нейродегенеративные расстройства, которые можно лечить соединениями, соответствующими настоящему изобретению, включают острую перемежающуюся порфирию; вызванную доксорубицином кардиомиопатию; деменцию при СПИД и обусловленную ВИЧ-1 нейротоксичность; болезнь Альцгеймера; боковой амиотрофический склероз; атеросклероз; катаракту; церебральную ишемию; церебральный паралич; церебральные опухоли; повреждения органов, вызванные

химиотерапией; почечную токсичность, вызванную цисплатином; последствия хирургического шунтирования коронарной артерии; болезнь Крейцфельда-Якоба и ее новый вариант, связанный с "коровьим бешенством"; диабетическую невропатию; синдром Дауна; утонутье; эпилепсию и посттравматическую эпилепсию; атаксию Фридриха; лобно-височную деменцию; глаукому; гломерулопатию; гемохроматоз; гемодиализ; гемолиз; гемолитический уремический синдром (болезнь Вейла) геморрагический удар; болезнь Халлербодена-Шпатца; травму после сердечного приступа и реперфузии; болезнь Гентингтона; болезнь тела Леви; перемежающуюся хромоту; ишемический удар; воспалительное заболевание кишечника; дистрофию желтого пятна; малярию; последствия отравления метанолом; менингит (асептический и туберкулезный; двигательную невропатию; рассеянный склероз; многосистемную атрофию; ишемию миокарда; неоплазию; болезнь Паркинсона; перинатальную асфиксию; болезнь Пика; прогрессирующий супрануклеарный паралич; повреждение органов вследствие радиотерапии; рестеноз после ангиопластики; ретинопатию; старческое слабоумие; шизофрению; сепсис; септический шок; губчатые энцефалопатии; субаррахноидное кровоизлияние/спазм церебральных сосудов; хирургическую травму, в том числе при нейрохирургии; талассемию; преходящие ишемические нарушения; травматическое повреждение мозга; травматическое повреждение спинного мозга; трансплантацию; мультиинфарктную деменцию; вирусный менингит и вирусный энцефалит.

Кроме того, соединения, соответствующие настоящему изобретению, могут применяться для усиления эффектов других способов лечения, например, для усиления нейрозащитных эффектов полученного из мозга нервно-ростового фактора.

Изобретение, в частности, направлено на состояния, которые вызывают окислительное повреждение центральной нервной системы, в том числе острые и хронические неврологические расстройства, такие как травматическое повреждение мозга, повреждение спинного мозга, церебральная ишемия, удар (ишемический и геморрагический), субаррахноидное кровоизлияние/спазм церебральных сосудов, опухоль мозга, болезнь Альцгеймера, болезнь Крейцфельда-Якоба и ее новый вариант, так называемое "коровье бешенство", болезнь Гентингтона, болезнь Паркинсона, атаксия Фридриха, катаракта, деменция с образованием тела Леви, многосистемная атрофия, болезнь Халлербодена-Шпатца, диффузная болезнь тела Леви, боковой амиотрофический склероз, двигательная невропатия, множественный склероз, семейная смертельная инсомния, болезнь Герцманна Штраусслера Шайнкера и наследственное кровоизлияние в

мозг амилоидозно-голландского типа.

Более конкретно, изобретение направлено на лечение нейродегенеративного амилоидоза. Нейродегенеративный амилоидоз может быть любым состоянием, при котором неврологическое повреждение является результатом аномального взаимодействия между биологическим лигандом, таким как белок, и активными в окислительно-восстановительном отношении ионами металлов, что стимулирует образование реактивных видов кислорода, радикализацию и/или отложение амилоида. Амилоид может образовываться из различных предшественников белков или полипептидов, включая, но не ограничительно, Аβ, синуклеин, гентингтин, SOD, амилоидный белок-предшественник (APP) или прионный белок.

Таким образом, состояние предпочтительно выбирается из группы, состоящей из sporadic или семейной болезни Альцгеймера, бокового амиотрофического склероза, двигательной невропатии, катаракты, болезни Паркинсона, болезни Крейтцфельда-Якоба и ее нового варианта, так называемое "коровье бешенство", болезни Гентингтона, деменции с образованием тела Леви, многосистемной атрофии, болезни Халлербодена-Шпатца и диффузной болезни тела Леви.

Более предпочтительно, нейродегенеративный амилоидоз представляет собой связанное с Аβ состояние, такое как болезнь Альцгеймера, или деменция с синдромом Дауна, или один из нескольких видов аутомных доминантных форм семейной болезни Альцгеймера (обзор которых дается в публикации St George-Hyslop, 2000). Наиболее предпочтительно, связанное с Аβ состояние представляет собой болезнь Альцгеймера.

В особо предпочтительном варианте осуществления всех аспектов изобретения, пациент перед лечением имеет умеренно или сильно нарушенную интеллектуальную функцию, оцениваемую посредством теста по Шкале оценки болезни Альцгеймера (ADAS-cog), например, с величиной по ADAS-cog 25 баллов или больше.

Методы и соединения, соответствующие настоящему изобретению, кроме того что они замедляют или прекращают ослабление мышления субъекта, могут быть использованы также для лечения или предупреждения нейродегенеративных состояний, или могут быть пригодны для облегчения симптомов нейродегенеративных состояний. Эти соединения могут обеспечить по крайней мере частичную обратимость ослабления мышления, испытываемого пациентами. Если эти методы и соединения применяются к субъекту, у которого выявлен повышенный риск предрасположенности к

нейродегенеративным состояниям или имеются доклинические проявления ослабления мышления, такие как "Мягкое ухудшение интеллекта" или минимальное прогрессивное ухудшение интеллекта, то они могут быть способны предотвратить или задержать наступление клинических симптомов, помимо эффекта замедления или снижения скорости ослабления интеллекта.

В настоящее время болезнь Альцгеймера и другие деменции, как правило, диагностируются только тогда, когда появился один или несколько предупреждающих симптомов. Эти симптомы образуют синдром, известный под названием "Мягкое ухудшение интеллекта" (MCI), который был недавно определен Американской Академией Неврологии и который относится к клиническому состоянию людей, у которых наблюдается ухудшение памяти, но в других отношениях они функционируют нормально и не соответствуют клиническим критериям деменции (Petersen et al., 2001). MCI включает следующие симптомы:

- (1) Потеря памяти, которая влияет на профессиональную квалификацию
- (2) Трудности при выполнении знакомых задач
- (3) Проблемы с языком
- (4) Дезориентация относительно времени и места (люди теряются)
- (5) Слабая или пониженная способность к умозаключениям
- (6) Проблемы с абстрактным мышлением
- (7) Потери вещей, так как они кладутся не на место
- (8) Изменения в настроении или поведении
- (9) Изменения личности
- (10) Потеря инициативы

Синдром MCI может быть обнаружен с помощью обычных скрининговых тестов на мышление, таких как "Мини-обследование психического состояния" и "Скрининговый тест на ухудшение памяти", а также нейропсихологических скрининговых комплексов.

Термин "субъект" в том смысле, в каком он здесь используется, относится к любому животному, имеющему заболевание или состояние, требующее лечения фармацевтически активным агентом. Субъект может быть млекопитающим, предпочтительно человеком, или он может быть домашним животным. Хотя соединения, соответствующие изобретению, рассчитаны на применение в медицинском лечении людей, изобретение применимо также к ветеринарии, в том числе к лечению животных-компаньонов, таких как собаки и кошки, к лечению домашних животных, таких как

лошади, пони, ослы, мулы, ламы, альпаки, свиньи, крупный рогатый скот и овцы, или животных, содержащихся в зоопарке, таких как приматы, кошачьи, псовые, полорогие и копытные.

Пригодные для лечения млекопитающие включают членов отрядов приматов, грызунов, зайцеобразных, китообразных, хищных, непарнокопытных и парнокопытных. Особенно предпочтительны члены животные отрядов непарнокопытных и парнокопытных из-за их похожей биологии и экономического значения.

Например, отряд парнокопытных содержит около 150 ныне живущих видов, распределенных по девяти семействам: свиньи (Suidae), пекари (Tayassuidae), гиппопотамы (Hippopotamidae), верблюды (Camelidae), оленьки (Tragulidae), жирафы и окапи (Giraffidae), олени (Cervidae), вилороги (Antilocapridae), а также крупный рогатый скот, овцы, козы и антилопы (Bovidae). Многие из этих животных используются в пищу в различных странах. Что более важно, многие из животных, имеющих экономическое значение, например, козы, овцы, крупный рогатый скот и свиньи, имеют очень похожую биологию и высокую степень геномной гомологичности.

Отряд непарнокопытных содержит лошадей и ослов, которые имеют существенное экономическое значение и являются близкими родственниками. Действительно, хорошо известно, что лошади и ослы скрещиваются.

Термин "терапевтически эффективное количество" в том смысле, в каком он здесь используется, означает количество соединения, соответствующего настоящему изобретению, которое дает желаемую терапевтическую реакцию, заключающуюся, например, в предупреждении или лечении неврологического состояния.

Конкретное содержание термина "терапевтически эффективное количество", очевидно, может меняться в зависимости от таких факторов, как конкретное состояние, в отношении которого ведется лечение, физическое состояние субъекта, тип субъекта, длительность лечения, характер сопутствующей терапии (если она имеется), а также конкретные применяемые составы и структура соединения или его производных.

Соединения, соответствующие настоящему изобретению, могут дополнительно сочетаться с другими медикаментами, чтобы обеспечить действующую комбинацию. Они могут включать любую химически совместимую и фармацевтически приемлемую комбинацию активных агентов, если эта комбинация не ингибирует активности соединения формулы I или II. Следует понимать, что изобретенное

соединение и другое лекарственное средство можно вводить отдельно, последовательно или одновременно.

Другие лекарственные средства могут включать, например, если речь идет о состоянии, связанном с β -амилоидом, в частности, о болезни Альцгеймера, ингибитор активной ацетилхолинэстеразы, например, фензерин, галантамин или такрин; антиоксидант, такой как витамин Е или витамин С; противовоспалительный агент, например, флорбипрофен или ибупрофен, который может быть модифицирован для выделения оксида азота (например, NCX-2216, производимый NicOx), или эстрогенный агент, такой как 17- β -эстрадиол.

Методы и фармацевтические носители для приготовления фармацевтических составов хорошо известны специалистам и изложены в учебниках, таких как "Фармацевтические науки" Ремингтона (Remington, Pharmaceutical Sciences, 20е издание, изд-во Williams & Wilkins, Пенсильвания, США).

Термин "фармацевтический носитель" в том смысле, каком он здесь используется, обозначает фармацевтически приемлемый растворитель, суспендирующий агент или средство доставки соединения формулы I или II в организм пациента. Носитель может быть жидким или твердым и выбирается с учетом планируемого метода введения. Каждый носитель должен быть фармацевтически "приемлемым" в смысле совместимости с другими ингредиентами состава и не должен вредить пациенту.

Соединение формулы I или II может вводиться перорально, местно или парентерально в лекарственных формах, содержащих обычные нетоксичные, фармацевтически приемлемые носители, вспомогательные средства и наполнители. Термин парентеральный в используемом здесь смысле включает подкожные инъекции, аэрозоль для введения в легкие или носовую полость, внутривенные, внутримышечные, спинномозговые, внутричерепные инъекции или вливания.

Настоящее изобретение предлагает также фармацевтические составы для местного, перорального или парентерального введения, пригодные для использования в новых методах лечения, соответствующих настоящему изобретению. Соединения, соответствующие изобретению, могут вводиться перорально в виде таблеток, водных или масляных суспензий, лепешек, пилюль, порошков, гранул, эмульсий, капсул, сиропов или эликсиров. Состав для перорального применения может содержать один или более агентов, выбранных из группы подсластителей, вкусовых добавок, окрашивающих добавок и консервирующих добавок, с тем, чтобы получить фармацевтически изящные и

приятные препараты. Пригодные подсластители включают сахарозу, лактозу, глюкозу, аспартам или сахарин. Пригодные дезинтегрирующие агенты включают кукурузный крахмал, метилцеллюлозу, поливинилпирролидон, ксантановую смолу, бентонит, альгиновую кислоту или агар. Пригодные вкусовые добавки включают масло перечной мяты, винтергреновое масло, вишневые, апельсиновые или малиновые вкусовые вещества. Пригодные консерванты включают бензоат натрия, витамин Е, альфатокоферол, аскорбиновую кислоту, метилпарабен, пропилпарабен или бисульфит натрия. Пригодные смазывающие добавки включают стеарат магния, стеариновую кислоту, олеат натрия, хлорид натрия или тальк. Пригодные задерживающие агенты включают моностеарат глицерина или дистеарат глицерина. Таблетки содержат активный ингредиент в смеси с нетоксичными фармацевтически приемлемыми наполнителями, пригодными для изготовления таблетки.

Таковыми наполнителями могут быть, например, (1) инертные разбавители, такие как карбонат кальция, лактоза, фосфат кальция или фосфат натрия; (2) гранулирующие и дезинтегрирующие агенты, такие как кукурузный крахмал или альгиновая кислота; (3) связывающие агенты, такие как крахмал, желатин или гуммиарабик; и (4) смазывающие агенты, такие как стеарат магния, стеариновая кислота или тальк. Эти таблетки могут не иметь покрытия или иметь покрытие, выполненное известными методами, для задержки дезинтеграции и поглощения в желудочно-кишечном тракте, что приводит к более длительному действию. Например, можно применять вещества, обеспечивающие задержку, такие как моностеарат глицерина или дистеарат глицерина. Покрытие можно также выполнять с помощью методов, описанных в патентах США №№ 4256108, 4160452 и 4265874, с получением осмотических терапевтических таблеток с контролируемым высвобождением.

Соединение формулы I или II, а также фармацевтически активный агент, используемый в изобретенном методе, могут вводиться при использовании *in vivo* парентерально путем инъекции или постепенного вливания, независимо или совместно. Введение может быть внутривенным, внутриартериальным, внутрибрюшинным, внутримышечным, подкожным, внутриполостным, чрескожным, или это может быть вливание, например, с помощью осмотического насоса. Для исследований *in vitro* агенты могут растворяться в соответствующем биологически приемлемом буферном растворе или добавляться к клетке или ткани.

Препараты для парентерального использования включают стерильные водные или не водные растворы, суспензии и эмульсии. В качестве примера не водных растворителей можно назвать пропиленгликоль, растительные масла, такие как оливковое, и пригодные для инъекции органические эфиры, такие как этилолеат. Водные носители включают воду, спиртово-водные растворы, эмульсии или суспензии, в том числе солевые и буферные среды. Наполнители парентеральных средств включают раствор хлористого натрия, декстрозу Рингера, декстрозу и хлористый натрий, лактатные растворы Рингера; наполнители для внутривенного введения включают жидкостные и питательные добавки, электролитические добавки (например, на основе декстрозы Рингера) и тому подобное. Могут присутствовать также консерванты и другие добавки, например, антимикробные, антиокислительные, комплексообразующие агенты, факторы роста, инертные газы и тому подобное.

Используемый здесь термин "лечение" означает воздействие на пациента, ткань или клетку для получения желаемого фармакологического и/или физиологического эффекта. Эффект может быть профилактическим в том смысле, что он полностью или частично предупреждает появление болезни или ее признака или симптома, и/или он может быть терапевтическим в смысле частичного или полного излечения от болезни. "Лечение" в том смысле, в каком этот термин здесь используется, охватывает любое излечение, или ослабление, или предупреждение болезни у позвоночного, млекопитающего, в особенности человека, и включает: (а) предупреждение заболевания у субъекта, который может быть предрасположен к этому заболеванию, но у которого оно еще не диагностировано; (b) ингибирование заболевания, т.е. прекращение его развития; или (с) ослабление или облегчение проявлений заболевания, т.е. регресс эффектов болезни.

Изобретение включает различные фармацевтические композиции, полезные для ослабления заболевания. Фармацевтические композиции, соответствующие одному из вариантов осуществления изобретения, приготавливаются путем приведения соединения формулы I или II, его аналогов, производных, солей или комбинаций соединения формулы I или II и одного или более фармацевтически активных агентов в форму, пригодную для введения субъекту, с использованием носителей, наполнителей и добавок или вспомогательных средств. Часто применяемые носители или вспомогательные средства включают карбонат магния, диоксид титана, лактозу, маннитол или другие сахара, тальк, молочный белок, желатин, крахмал, витамины, целлюлозу и ее

производные, животные и растительные масла, полиэтиленгликоли и растворители, такие как стерильная вода, спирты, глицерин и многоатомные спирты. Наполнители для внутривенного введения включают жидкостные и питательные добавки. Консерванты включают антимикробные, антиокислительные, хелатообразующие агенты и инертные газы. Другие фармацевтически приемлемые носители включают водные растворы, нетоксичные наполнители, в том числе соли, консерванты, буферные добавки и тому подобное, как описано, например, в книге Ремингтона "Фармацевтические науки" (Remington, Pharmaceutical Sciences, 20-е издание, изд-во Williams and Wilkins (2000) и в Британской Национальной Фармакопее, 43-е изд. (Британская Медицинская Ассоциация и Королевское Фармацевтическое Общество Великобритании, 2002; <http://bnf.rhn.net>), содержание которых включено сюда путем отсылки. Показатель pH и точная концентрация различных компонентов фармацевтического состава регулируются методами, известными специалистам. См. Goodman and Gilman, "Фармакологическая основа терапевтических средств" (7-е изд., 1985).

Фармацевтические составы предпочтительно приготавливаются и вводятся пациенту в виде дозированных лекарственных форм. Твердые лекарственные формы могут представлять собой таблетки, капсулы и суппозитории. Для лечения субъекта могут применяться различные дневные дозы, в зависимости от активности соединения, способа его введения, природы и степени расстройства, возраста и веса тела субъекта. Однако при определенных обстоятельствах могут использоваться более высокие или более низкие дневные дозы. Дневные дозы могут вводиться за один прием в виде отдельной лекарственной формы или нескольких лекарственных форм с меньшими дозами, а также путем многократного введения разделенных доз с определенными интервалами.

Фармацевтические композиции, соответствующие изобретению, могут вводиться локально или систематически в терапевтически эффективной дозе. Эффективные количества для данного применения зависят, естественно, от степени заболевания, а также от веса и общего состояния пациента. Как правило, дозировки, используемые *in vitro*, могут служить полезным ориентиром для определения эффективных количеств фармацевтических композиций при введении *in situ*, а модели в виде животных можно использовать для определения эффективных дозировок для лечения цитотоксических побочных эффектов. Различные соображения по этому вопросу приводятся, например, в работе Langer, Science, 249: 1527, (1990). Составы для перорального использования могут иметь форму твердых желатиновых капсул, в которых

активный ингредиент смешивается с инертным твердым разбавителем, например, карбонатом кальция, фосфатом кальция или каолином. Они могут также иметь форму мягких желатиновых капсул, в которых активный ингредиент смешан с водой или масляной средой, например, кокосовым маслом, жидким парафином или оливковым маслом.

Водные суспензии обычно содержат активные вещества в смеси с наполнителями, пригодными для получения водной суспензии. Такими наполнителями могут быть (1) суспендирующий агент, такой как натрийкарбоксиметилцеллюлоза, метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, альгинат натрия, поливинилпирролидон, трагакантовая камедь и аравийская камедь; (2) диспергирующие или смачивающие агенты, которые могут быть (а) встречающимся в природе фосфатидом, таким как лецитин; (б) продуктом конденсации оксида алкилена с жирной кислотой, таким как полиоксиэтиленстеарат; (с) продуктом конденсации оксида этилена с длинноцепочечным алифатическим спиртом, таким как гептадекаэтиленоксицетанол; (d) продуктом конденсации оксида этилена с неполным эфиром, полученным из жирной кислоты и гексита, таким как полиоксиэтиленсорбитолмоноолеат, или (е) продуктом конденсации оксида этилена с неполным эфиром, полученным из жирной кислоты и ангидридов гексита, таким как полиоксиэтиленсорбитанмоноолеат.

Фармацевтические композиции могут иметь форму стерильной, пригодной для инъекции водной или масляной суспензии. Такая суспензия может быть получена известными методами с использованием тех пригодных диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов, которые были здесь упомянуты. Стерильный пригодный к инъекции препарат может также быть стерильным пригодным к инъекции раствором или суспензией в нетоксичном, парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например, раствором в 1,3-бутандиоле. Примерами приемлемых носителей и растворителей являются вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлористого натрия. Кроме того, в качестве растворителя или суспендирующей среды обычно используются стерильные нелетучие масла. Для этой цели можно применять любое мягкое нелетучее масло, в том числе синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, в приготовлении препаратов для инъекций находят применение жирные кислоты, такие как олеиновая кислота.

Соединения формулы I или II могут также вводиться в форме липосомных систем доставки, таких как однослойные везикулы, большие однослойные везикулы и

многослойные везикулы. Липосомы могут образовываться из различных фосфолипидов, таких как холестерин, стеариламин или фосфатидилхолины.

Соединения формулы I или II могут также быть представлены в виде ветеринарных составов, которые можно приготавливать, например, известными специалистам методами. Примеры таких ветеринарных составов включают композиции, предназначенные для:

(а) перорального введения, внешнего нанесения, например, жидкие формы для вливания в рот (т.е. водные и не водные растворы и суспензии); таблетки или шарики; порошки, гранулы или мелкие шарики для примешивания к корму; пасты для нанесения на язык;

(b) парентерального введения, например, посредством подкожных, внутримышечных или внутривенных инъекций, например, в виде стерильного раствора или суспензии; или (когда это уместно) внутримаммарных инъекций, когда суспензия или раствор вводятся в вымя через сосок;

(с) местного нанесения, например, в виде крема, мази или спрея, наносимых на кожу; или

(d) интравагинального использования, например, в виде pessaria, крема или пены.

Уровни дозировки соединений формулы I или II, соответствующих настоящему изобретению, составляют приблизительно от 0,5 мг до 20 мг на килограмм веса тела, причем предпочтительный диапазон дозировки составляет приблизительно от 0,5 мг до 10 мг на килограмм веса тела в день (от 0,5 г до 3 г одному пациенту в день). Количество активного ингредиента, которое можно объединять с веществами-носителями для получения одной дозировки, может быть различным в зависимости от организма, лечение которого проводится, и способа введения лекарства. Например, состав, используемый для перорального введения человеку, может содержать от 5 мг до 1 г активного соединения с соответствующим удобным количеством материала-носителя, которое может составлять от 5 до 95% всего состава. Дозированные лекарственные формы обычно содержат приблизительно от 5 мг до 500 мг активного ингредиента.

По выбору, соединения, соответствующие изобретению, можно вводить пациенту по разделенной схеме, содержащей не менее двух приемов. Лекарство вводится предпочтительно не реже чем с интервалами от двух до четырех часов или больше; например, соединение может вводиться каждый час или каждые полчаса. В одном

предпочтительном варианте режим разделенной дозы содержит второй прием соединения с перерывом после первого приема, достаточно большим для того, чтобы уровень активного соединения в крови снизился до приблизительно 5-30% максимального уровня в плазме, достигнутого после первого приема, чтобы поддерживать эффективное содержание активного агента в крови. Можно также одно или более последующих введений производить с соответствующим интервалом после каждого предыдущего введения, предпочтительно, когда уровень в плазме упадет приблизительно до 10-50% от немедленно достигнутого максимума.

Следует, однако, понимать, что конкретный уровень дозы для любого конкретного пациента будет зависеть от разнообразных факторов, в том числе от активности применяемого соединения, возраста, веса тела, общего состояния здоровья, пола, диеты, времени введения, способа введения, скорости выделения из организма, комбинации лекарств и тяжести заболевания, которое лечат.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Фиг. 1 – график рассеяния, иллюстрирующий уровни растворимой и нерастворимой фракций Аβ, полученных из мозга трансгенных мышей после лечения РВТ 1 и РВТ 1038 [методика согласно испытанию 11];

Фиг. 2 – график рассеяния, иллюстрирующий уровни растворимой и нерастворимой фракций Аβ, полученных из мозга трансгенных мышей после лечения РВТ 1033 и РВТ 1051 [методика согласно испытанию 11];

Фиг. 3 – график рассеяния, иллюстрирующий уровни растворимой и нерастворимой фракций Аβ, полученных из мозга трансгенных мышей после лечения РВТ 1052 [методика согласно испытанию 11];

Фиг. 4(а) – график, иллюстрирующий нормированные по дозе концентрации РВТ 1033 в плазме после внутривенного (2 мг/кг) и перорального (30 мг/кг) введения крысам;

Фиг. 4(б) – график, иллюстрирующий нормированные по дозе концентрации РВТ 1038 в плазме после внутривенного (2 мг/кг) и перорального (30 мг/кг) введения крысам;

Фиг. 4(с) – график, иллюстрирующий нормированные по дозе концентрации РВТ 1050 в плазме после внутривенного (2 мг/кг) и перорального (30 мг/кг) введения крысам;

Фиг. 4(d) – график, иллюстрирующий нормированные по дозе концентрации PBT 1051 в плазме после внутривенного (2 мг/кг) и перорального (30 мг/кг) введения крысам;

Фиг. 5 – сводный график воздействия CQ (PBT 1), PBT 1033, PBT 1038, PBT 1051 и PBT 1052 на растворимый и нерастворимый A β в мозге трансгенных мышей [методика согласно испытанию 11];

Фиг. 6 – график, иллюстрирующий иммуногистохимию PBT 1033, PBT 1038, PBT 1051 и PBT 1052 в отношении количества амилоидных бляшек в мозге трансгенных мышей [методика согласно испытанию 15];

Фиг. 7 – схема прохождения испытания пациентами;

Фиг. 8 – графики, иллюстрирующие среднее изменение ($\pm$ стандартная ошибка) интеллектуальных способностей (оцениваемых по шкале ADAS-cog) во времени по сравнению с базисной линией в (A) группах, получавших CQ и плацебо, и (B) в подгруппах внутри этих групп, разделенных по степени тяжести заболевания [менее тяжелые (ADAS-cog < 25), более тяжелые (ADAS-cog $\geq$ 25) (*p $\leq$ 0.05; ** p $\leq$ 0.01);

Фиг. 9 – графики, иллюстрирующие среднее изменение ($\pm$ стандартная ошибка) во времени по сравнению с базисной линией уровней A β ₄₂ в плазме в (A) группах, получавших CQ и плацебо, и (B) в подгруппах внутри этих групп, разделенных по степени тяжести заболевания, как показано на фиг. 8. (***)p $\leq$ 0.001);

Фиг. 10 – графики, иллюстрирующие среднее изменение ($\pm$ стандартная ошибка) во времени по сравнению с базисной линией (A) уровня Zn в плазме и (B) уровня Cu в плазме у двух групп, получавших CQ и плацебо; и

Фиг. 11 – график, иллюстрирующий поведенческие (ADAS-cog) и биохимические (уровни A β в плазме и цереброспинальной жидкости) изменения в течении болезни Альцгеймера.

ПРИМЕРЫ.

Ниже подробно описывается изобретение со ссылкой на следующие примеры, которые не носят ограничительного характера.

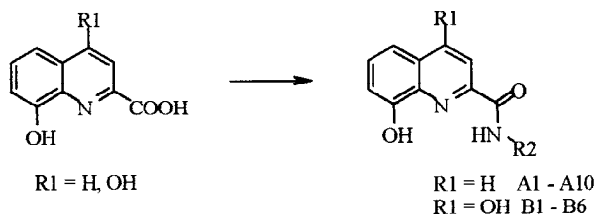
Общие сведения

8-гидроксихинолин-2- карбоновая кислота 1 (Shrader *et al*, 1988),
 8- гидроксихинолин-2-карбонитрил 2 (Shrader *et al*, 1988), 2-хлор-8-гидроксихинолин 3
 (Wang *et al*, 1996; Fleming *et al*, 1971), 2-аминометилтиазол 4 (Dondoni *et al*, 1987, 1996),
 5, 2,5,7-трихлор-8-гидроксихинолин 10 (Островская *и др.*, 1986), 5,7-дихлор-8-бензилокси-
 хинолин-2-карбоновая кислота 18 (Carissimi, M., 1972), 7-хлор-5-йод-8-гидроксихинолин
 20 (Gershon *et al*, 1971), этиловый эфир 4-хлор-8-метоксихинолин-3-карбоновой кислоты
 25 (Richard *et al*, 1997) и 1-метил-1*H*-гистамин гидрохлорид (Durant *et al*, 1976) были
 синтезированы в соответствии с литературой. Следующие соединения/реагенты были
 закуплены готовыми: хинолины: 2-метилхинолин-8-ол, 8- гидроксихинолин (8-HQ) и 5,7-
 дибром-8- гидроксихинолин были приобретены у фирмы Fluka; 4,8-дигидроксихинолин-2-
 карбоновая кислота, 5-хлор-7-йод-8- гидроксихинолин, 5,7-дихлор-2-метилхинолин-8-ол и
 5,7-дийод-8-гидроксихинолин были приобретены у фирмы Aldrich; амины: гистамин, 2-
 аминоэтилпиридин, 2-аминотиазол, 2-(2-аминоэтил)пиридин, 2-(аминометил)пиридин, 5-
 метил-2-аминотиазол, 2-аминофенол, 1,2-диаминоэтан, глицин, 1,2-фенилендиамин, ди-(2-
 пиколил)амин и 2-(2-метиламиноэтил)пиридин были приобретены у фирмы Aldrich;
 альдегиды: 4-имидазолкарбоксальдегид, 2-тиазолкарбоксальдегид и 2-
 пиридинкарбоксальдегид были приобретены у фирмы Aldrich; азолы: пиразол, имидазол,
 метилимидазол и 1*H*-1,2,3-триазол были приобретены у фирмы Aldrich; борные кислоты:
 2-(трифторметил)фенилборная кислота, 2-метоксифенилборная кислота, *o*-толилборная
 кислота, 2-фторфенилборная кислота, 3-метоксифенилборная кислота, 4-
 метоксифенилборная кислота, *m*-толилборная кислота, 4-(диметиламино)фенилборная
 кислота, 2-формилфенилборная кислота, тианафтен-2-борная кислота, 3,5-
 дифторфенилборная кислота, 2,4- дифторфенилборная кислота, 3-тиофенборная кислота,
 3-фторфенилборная кислота, 4-фторфенилборная кислота и 3-нитрофенилборная кислота
 были приобретены у фирмы Aldrich; и цинкорганические реагенты: 2-
 пиридилцинкбромид, 2-(метилтио)фенилцинкйодид, 2-(токсикарбонил)фенилцинкйодид и
 6-метилпиридилцинкбромид (0.5-молярный раствор в тетрагидрофуране (ТГФ)) имелись
 на рынке (Aldrich). 3-пиридилборная кислота была куплена у Frontier Scientific.
 Растворители были аналитической чистоты и использовались в том виде, в каком были
 поставлены. ТГФ очищали от натрия и бензофенона перегонкой в аргоновой атмосфере.
¹H ЯМР спектры (δ , относительно ТМС (тетраметилсилана) регистрировались на
 спектрометре Varian Unity 300, если не указано иное; величины *J* даются в герцах. Масс-
 спектрометрические данные регистрировались на масс-спектрометре Micromass Quattro II.

Пример 1 - Получение амидов 8-
(Схема 1)

гидроксихинолин-2-карбоновой кислоты

Схема 1



Методика А:

1,3-дициклогексилкарбодиимид (182 мг, 0,87 ммоль) добавляли при перемешивании к раствору 1-гидроксibenзотриазолгидрата (119 мг, 0,87 ммоль) и 8-гидроксихинолин-2-карбоновой кислоты 1 (150 мг, 0,87 ммоль) в ДМФ (диметилформамиде) и дихлорметане (1:1, 10 мл). Через 30 мин. добавляли гистамин (182 мг, 0,87 ммоль), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 16 час. Летучие составляющие отгоняли в вакууме, а остаток, после очистки методом колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/*i*-PrOH/2 N NH₄OH, 6:2:1), дал 8-гидроксихинолин-2-карбоновой кислоты [2-(1*H*-имидазол-4-ил)-этил]-амид А1 в виде твердого вещества кремового цвета.

Описанная выше реакция была повторена с использованием аминов с 1 или 4,8-дигидроксихинолин-2-карбоновой кислоты: с использованием гистамина получили В1; с использованием 2-(2-аминоэтил)пиридина получили А2, с использованием 2-(аминометил)пиридина получили А5/В2, с использованием 2-аминотиазола получили А3, с использованием 5-метил-2-аминотиазола получили А4, с использованием 2-аминофенола получили А6, с использованием 1,2-диаминоэтана получили А7, с использованием глицина получили А8/В3, с использованием 1,2-фенилендиамин получили В4 и с использованием ди-(2-пиколил)амин получили А10.

При использовании А8 в качестве исходной кислоты при соединении с аминами, 2-(аминометил) пиридин дал В5, а гистамин дал В6. Выходы и данные приведены в табл. 1.

Методика В:

8-гидроксихинолин-2-карбоновую кислоту 1 (100 мг, 0,59 ммоль) или 4,8-дигидроксихинолин-2-карбоновую кислоту (121 мг, 0,59 ммоль) и хлороксид фосфора (5

мл) нагревали с обратным холодильником в течение 1 часа, охлаждали и концентрировали. К остатку добавляли ТГФ (20 мл), смесь охлаждали (0 °С), а затем добавляли Et₃N (0,5 мл) и амин (1,18 ммоль). Смеси дали нагреться до комнатной температуры. Через 16 час. летучие составляющие отогнали в вакууме, а из остатка, после очистки методом колоночной хроматографии на силикагеле, получили амид 8-гидроксихиолин-2-карболовой кислоты. Выходы и данные приведены в табл. 1.

Пример 2 – Получение 2-ацетил-8-гидроксихиолина C1 (Схема 2)



Схема 2

Бромметилмагний (1,2 мл 3-молярного раствора в диэтилэфире, 3,5 ммоль) добавляли капельно, при перемешивании, в раствор 8-гидроксинолин-2-карбонитрила 2 (100 мг, 0,588 ммоль) в диэтиловом эфире (10 мл) при –15 °С. Полученный раствор оставляли нагреваться до комнатной температуры в течение 2 часов и перемешивали при комнатной температуре еще 4 часа. Затем реакционную смесь гасили насыщенным NH₄Cl и экстрагировали этилацетатом (10 мл x 3). Экстракты объединяли, сушили (Na₂SO₄) и концентрировали до получения указанного в заглавии соединения в виде бледно-оранжевого твердого вещества (108 мг, 98%) C1. Спектральные данные этого соединения приведены в табл. 1.

Пример 3 – Получение оксима 8-гидроксихиолин-2-карбоксальдегида D1 (Схема 3)

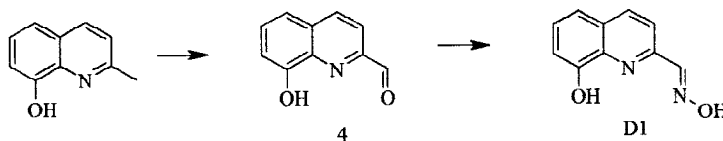


Схема 3

Раствор 2-метилхинолин-8-ола (536 мг, 3,37 ммоль) в диоксане (8 мл) добавляли
 капельно в течение 3 часов в перемешиваемую смесь SeO_2 (665 мг, 5,99 ммоль) в диоксане
 (25 мл) при 50 – 55 °С. Затем полученную смесь прогревали при 80 °С в течение 16 часов,
 охлаждали и отфильтровывали твердые частицы. Фильтрат концентрировали, а осадок
 очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан/MeOH, 1:0 –
 40:1). В результате получили 8-гидроксихинолин-2-карбоксальдегид 4 в виде твердого
 вещества соломенного цвета (358 мг, 61%). 4: ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 10.24 (s, 1 H), 8.34 (d,
 $J=8.6$, 1 H), 8.22 (br, 1 H), 8.07 (d, $J=8.6$, 1 H), 7.64 (dd, $J=7.5$ and 8.0, 1 H), 7.44 (d, $J=8.0$, 1
 H), 7.30 (d, $J=7.5$, 1 H). Смесь 4 (100 мг, 0,578 ммоль), NaOAc (63 мг, ммоль),
 гидроксилламин гидрохлорида (60 мг, 0,863 ммоль) и воды (5 мл) прогревали при 100 °С в
 течение 15 мин. Осадок отделяли фильтрованием. В результате был получен указанный в
 заглавии оксим (ID 969) D1 в виде твердого беловатого вещества (87 мг, 80%);
 спектральные данные этого соединения приведены в табл.2.

Пример 4 - 2-аминометилхинолин-8-ол E1 (Схема 4)

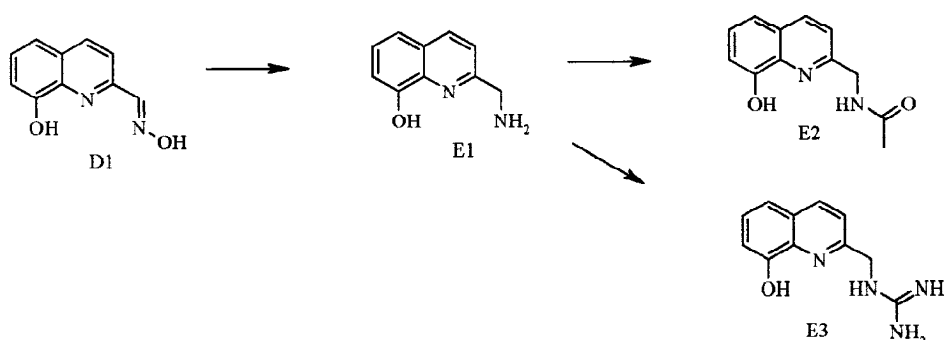


Схема 4

Оксим 8-гидроксихинолин-2-карбоксальдегида D1 (167 мг, 0,888 ммоль) и MeOH (50 мл)
 гидрировали (атмосферный H_2 , катализатор 10% Pd/уголь) при комнатной температуре.
 Через 4 часа отфильтровали катализатор и отогнали летучие компоненты, что дало 2-
 аминометилхинолин-8-ол E1 в виде светло-коричневого твердого вещества (126 мг, 82%);
 спектральные данные соединения приведены в табл. 2.

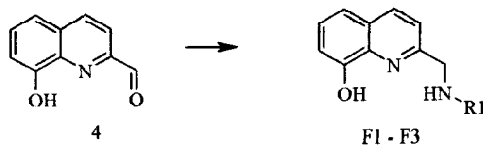
N-(8-гидроксихинолин-2-илметил)-гуанидин ЕЗ (Схема 4)

N,N'-бис(*трет*-бутоксикарбонил)-1*H*-пиразол-1-карбоксамидин (54 мг, 0,174 ммоль) добавляли при перемешивании к смеси 2-аминометилхинолин-8-ола Е1 (25 мг, 0,144 ммоль) в тетрагидрофуране (5 мл). После выдержки в течение 16 часов при комнатной температуре летучие компоненты отгоняли под вакуумом, а полученный остаток, после колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан, 1:2), представлял собой (Вос)₂-производное *N*-(8-гидроксихинолин-2-илметил)-гуантадина в виде бесцветного твердого вещества (52 мг, 87%). Раствор этого твердого вещества (47 мг, 0,113 ммоль) и концентрированной соляной кислоты (0.5 мл) в диоксане (1 мл) затем перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов и упаривали. Затем добавляли H₂O (2 мл), pH доводили до 8 (конц. NH₄OH), смесь упаривали. Твердое вещество растворяли в MeOH и высаживали этилацетатом. Полученное твердое вещество отфильтровывали, фильтрат упаривали до твердого вещества. Последнее, после колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/*i*-PrOH/H₂O, 12:4:1), дало указанное в заглавии соединение Е3 в виде беловатого твердого вещества (23 мг, 94%); спектральные данные приведены в табл. 2.

2-ацетамидометил-хинолин-8-ол Е2 (Схема 4)

Раствор 2-аминометил-хинолин-8-ола E1 (30 мг, 0,172 ммоль) и As_2O (1 мл) в пиридине (2 мл) перемешивали в течение ночи и концентрировали. После колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат) был получен 2-ацетамидо-8-ацетоксихинолин в виде бесцветного твердого вещества (35 мг, 79%). Раствор 2-ацетамидо-8-ацетоксихинолина (33 мг, 0,128 ммоль) и K_2CO_3 (50 мг, 0,362 ммоль) в MeOH (1 мл) и H_2O (0,5 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов. Летучие компоненты отгоняли в вакууме, затем добавляли H_2O (2 мл). pH смеси довели до 7 (2 N HCl), твердое вещество отделили фильтрованием, промыли H_2O (1 мл x 2) и просушили. Указанное в заглавии соединение E2 было выделено в виде твердого вещества кремового цвета (21 мг, 76 %); спектральные данные приведены в табл 2.

Пример 5 – Восстановительное аминирование 8-гидроксихинолин-2-карбоксальдегида



(Схема 5)

Схема 5

Триацетоборогидрид натрия (225 мг, 1,061 ммоль) добавляли при перемешивании к раствору 8-гидроксихиолин-2-карбоксальдегида 4 (200 мг, 1,156 ммоль) и гистамина (128 мг, 1,152 ммоль) в дихлорэтано (10 мл). Смесь оставили перемешиваться при комнатной температуре на 16 часов, нейтрализовали (водный раствор NaHCO_3) и упарили.

Полученный остаток, после колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/*i*-PrOH/2 N NH_4OH , 6:2:1), представлял собой 2-{[2-(1*H*-имидазол-4-ил)-этиламино]-метил}-хиолин-8-ол F1 в виде твердого вещества соломенного цвета (190 мг, 61%).

Описанный выше метод был повторен с использованием других аминов: 2-(аминометил)пиридин дал F2, а 2-(2-метиламиноэтил)пиридин дал F3, данные приведены в табл. 2.

Пример 6 – Восстановительное аминирование аминами из примера 5 (Схема 6)

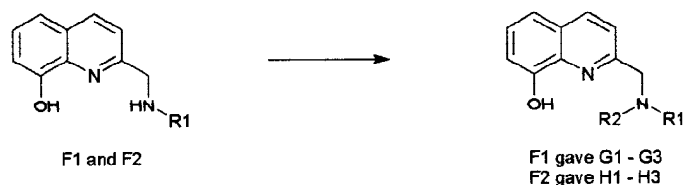


Схема 6

По методике, описанной в примере 5, при обработке альдегидов соединениями F1 (серия G) или F2 (серия H) были получены: из 2-имидазолкарбоксальдегида - G1/H1, из 2-пиридинкарбоксальдегида - G2/H2 и из 2-тиазолкарбоксальдегида - H3. Результаты и спектральные данные приведены в табл. 2.

Пример 7 -2-(азол)-8-гидроксихиолины II – I4 (Схема 7)



Схема 7

Смесь 2-хлорхинолин-8-ола 3 (80 мг, 0,447 ммоль) и пиразола (152 мг, 2,233 ммоль) прогревали при 175 °С в стальном автоклаве в течение 48 часов. Затем продукт очистили методом колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан, 1:1), получив на выходе 2-пиразол-1-ил-хинолин-8-ол (соединение № 964) I1 в виде белого твердого вещества (68 мг, 72%).

Описанную выше процедуру повторили с использованием имидазола, 2-метилимидазола и 1H-1,2,3-триазола, что позволило получить I2, I3 и I4. Неочищенный продукт для соединения I4 промыли MeOH (10 мл x 3), что дало 2-[1,2,3]триазол-1-ил-хинолин-8-ол (соединение № 994) I4 в виде беловатого твердого вещества (67 мг, 71%). Спектральные данные этих продуктов приведены в табл. 3.

Пример 8 - Получение 5-хлор-7-арил-8-гидрохинолинов K1 – K17 (Схема 8)

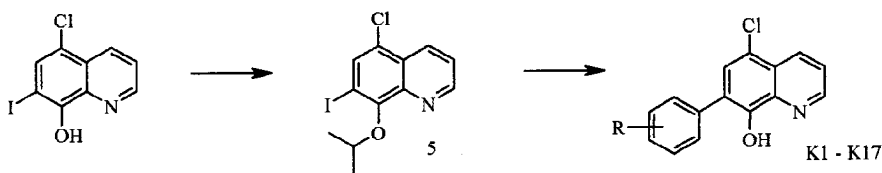


Схема 8

2-бромпропан (0,46 мл, 4,90 ммоль) добавляли при перемешивании в смесь 5-хлор-7-йод-хинолин-8-ола (1,00 г, 3,27 ммоль), K_2CO_3 (1,86 г, 13,5 ммоль) и ДМСО (диметилсульфоксида) (10 мл). После выдержки в течение 16 часов при комнатной температуре, добавляли насыщенный NH_4Cl (10 мл), и смесь экстрагировали дихлорметаном (10 мл x 3). Экстракты объединяли и упаривали. К остатку добавляли диэтилэфир (40 мл), полученную смесь промывали последовательно 2 N NaOH, H_2O и соляным раствором и сушили (Na_2SO_4). После колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан, 1:1) получили 5-хлор-7-йод-8-изопропоксихинолин 5 в виде твердого вещества (1,06 г, 93%). 5: 1H ЯМР ($CDCl_3$): δ 8.93 (dd, $J=1.5$ и 4.2, 1 H), 8.52 (dd, $J=1.5$ и 8.4, 1 H), 7.98 (s, 1 H), 7.53 (dd, $J=4.2$ и 8.4, 1 H), 5.38 (m, 1 H), 1.43 (d, $J=6.0$, 6 H). К перемешиваемой смеси 5-хлор-7-йод-8-изопропоксихинолина 5 (200 мг, 0,58 ммоль), фенилборной кислоты (77 мг, 0,62 ммоль), 2 N Na_2CO_3 (7,2 мл), EtOH (1,2 мл) и бензола (6 мл) добавляли, под аргоновым одеялом, $Pd(PPh_3)_4$ (20 мг). Смесь перемешивали с обратным холодильником 16 часов, охлаждали и упаривали. Это позволило получить, после колоночной хроматографии на силикагеле, (этилацетат/гексан, 1:9), 5-хлор-7-фенил-

8- изопропоксихинолин в виде твердого желтого вещества. К перемешиваемому раствору 8- изопропоксихинолина (0,339 ммоль) в дихлорметане (2 мл) при -78°C добавляли BCl_3 (1.36 мл 1-молярного раствора в дихлорметане, 1,36 ммоль). Через два часа реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали еще 2 часа. Добавляли MeOH (5 мл) и упаривали смесь до сухости. Этот процесс повторяли четыре раза. После дальнейшей промывки остатка диэтиловым эфиром (2 мл x 3) было получено соединение K1 с выходом 91%. Данные приведены в табл. 4.

Аналогичным образом была проведена реакция 5 с борными кислотами: 2- (трифторметил)фенилборной кислотой, 2-метоксифенилборной кислотой (Обратите внимание на расщепление до 2-гидроксифенильного производного), *o*-толилборной кислотой, 2-фторфенилборной кислотой, 3-метоксифенилборной кислотой, 4-метоксифенилборной кислотой, *m*-толилборной кислотой, 4-(диметиламино)фенилборной кислотой, 2-формилфенилборной кислотой, тианафтен-2-борной кислотой, 3,5-дифторфенилборной кислотой, 2,4- дифторфенилборной кислотой, 3-тиофенборной кислотой, 3-фторфенилборной кислотой, 4- фторфенилборной кислотой и 3- нитрофенилборной кислотой; в результате отщепления изопропоксигруппы посредством BCl_3 были получены 5-хлор-7-арил-8-гидроксихинолины K2-K17. Данные приведены в табл. 4.

Пример 9 - Получение 5-арил-7-бром-8-гидроксихинолинов L1 – L2 (Схема 9).

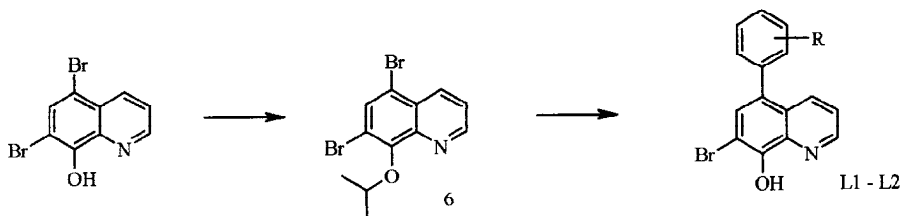


Схема 9

Реакция 5,7-дибромхинолин-8-ола с 2-бромпропаном, проведенная по методу, описанному в примере 8, позволила получить 5,7-дибром-8-изопропоксихинолин 6 (97%): ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8.94 (dd, $J=1.5$ и 4.2 , 1 H), 8.48 (dd, $J=1.5$ и 8.4 , 1 H), 8.00 (s, 1 H), 7.52 (dd, $J=4.2$ и 8.4 , 1 H), 5.22 (m, 1 H), 1.43 (d, $J=6.1$, 6 H); масс-спектр: m/z 344, 346, 348 ($\text{M}^+ + 1$, 50, 100 и 50%, соответственно). Реакция 6 с арилбромными кислотами и отщепление

изопропоксигруппы по методу, описанному в примере 8, дали соединения L1 and L2 (данные см. в табл. 4).

Пример 10 - Получение 5,7-диарил-8-гидроксихинолинов M1 – M5 и 5-арил-7-йод-8-гидроксихинолинов N2 – N5 (Схема 10)

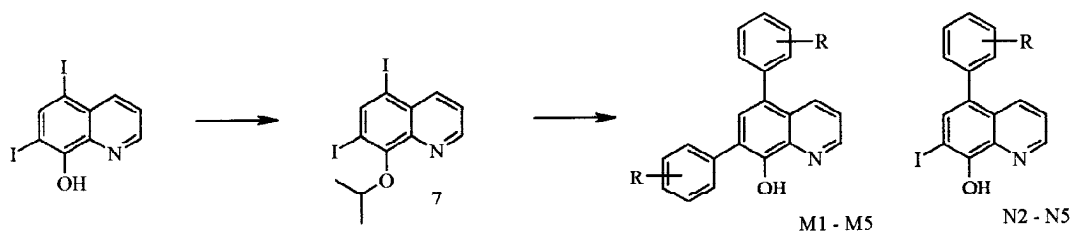


Схема 10

Получение 5,7-диарил-8-гидроксихинолинов M1 – M5 и 5-арил-7-йод-8-гидроксихинолинов N2 – N5 (Схема 10) .

Реакция 5,7-дийодхинолин-8-ола с 2-бромпропаном по методу, описанному в примере 8, дала 5,7-дибром-8-изопропоксихинолин 7 (93%): ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8.86 (dd, $J=1.5$ и 4.4 , 1 H), 8.46 (s, 1 H), 8.33 (dd, $J=1.5$ и 8.5 , 1 H), 7.49 (dd, $J=4.4$ и 8.5 , 1 H), 5.40 (m, 1 H), 1.43 (d, $J=6.1$, 6 H). К перемешиваемой смеси 7 (200 мг, 0,51 ммоль), фенилборной кислоты (143 мг, 1,17 ммоль), 2 N Na_2CO_3 (7,2 мл), EtOH (1,2 мл) и бензола (6 мл) добавляли, под аргоновым одеялом, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (21 мг). Смесь перемешивали с обратным холодильником 16 часов, затем охлаждали и концентрировали. В результате был получен, после колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан, 1:9), 5,7-дифенил-8-изопропоксихинолин в виде желтого твердого вещества (157 мг, 91%). Отщепление изопропоксигруппы по методу, описанному в примере 8, дало 5,7-дифенил-8-гидроксихинолин M1 с выходом 91%. (Данные см. в табл. 4).

Реакция 7 с арилборными кислотами и отщепление изопропоксигруппы по методу, описанному в примере 8, позволили получить соединения M2 – M5 (данные приведены в табл. 4). В тех случаях, когда борная кислота содержала *ortho* заместитель, реакция Сузуки давала смесь 5-арил-7-йод-8-изопропоксихинолинов и 5,7-диарил-8-изопропоксихинолина, которые можно было разделить до отщепления изопропокси-

группы с получением как 5-арил-7-йод-8- гидроксихинолинов N2 - N5, так и 5,7-диарил-8- гидроксихинолинов M2 - M5.

5 Пример 11 - Получение 5,5'-дихлор-8,8'-дигидрокси-7,7'-бихинолина O1 (Схема 11)

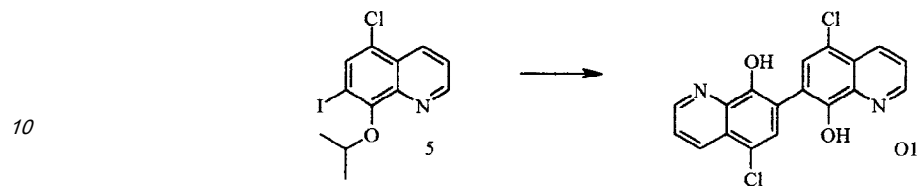


Схема 11

15 Раствор соединения 5 (0,576 ммоль), бис(пинаколато)дибора (1,1 эквив.), 2 N Na₂CO₃ (2 мл) и KOAc (3 эквив.) перемешивали в присутствии каталитического количества PdCl₂ в диметилформамиде (10 мл) при 80 °С в течение 3 часов. Затем реакционную смесь гасили насыщенным NH₄Cl, экстрагировали диэтиловым эфиром (10 мл x 3), сушили (Na₂SO₄) и концентрировали. Колоночная хроматография остатка (силикагель; этилацетат /гексан, 1:1) дала 5,5'-дихлор-8,8'-диизопропокси-7,7'-бихинолин (соединение № 971) в виде
20 твердого вещества (56 мг, 22%). Отщепление изопропоксигруппы с помощью BCl₃ по методике, описанной в примере 8, дало O1 с выходом 22%.

Пример 12 - Получение 2-арил-8-гидроксихинолинов P1 – P4 (Схема 12)

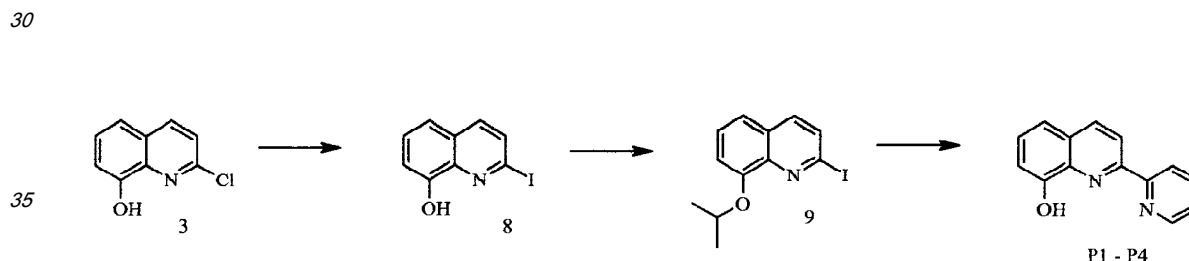


Схема 12

40 2-йодхинолин-8-ол 8

Ацетилхлорид (0,422 мл, 5,95 ммоль) добавляли капельно в течение 20 мин., при перемешивании, в суспензию 2-хлорхинолин-8-ола 3 (500 мг, 2,79 ммоль), NaI (649 мг, 4,33 ммоль) и AcCN (3 мл) при комнатной температуре.⁵ Смесь перемешивали при 35 – 40
45 °С в течение 3 часов, затем оставляли перемешиваться на ночь при 70 °С и концентрировали. После этого добавляли H₂O (10 мл), и смесь экстрагировали

50

дихлорметаном (10 мл х 3). Экстракты объединяли и промывали последовательно раствором 1:1 насыщенного NaHCO_3 и тиосульфата натрия (5 мл х 2) и H_2O (10 мл х 2), затем сушили (Na_2SO_4). Остаток, полученный после удаления растворителя, дал, после
 5 колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан, 1:8 – 1:3), 2-йодхинолин-8-ол 8 в виде белого твердого вещества (268 мг, 35%) и неразделимую смесь 1:2 8-ацетокси-2-йодхинолина и 8-ацетокси-2-хлорхинолина (360 мг) 8: ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7.80 – 7.77 (m, 2 H), 7.49 (dd, $J=8.1$ и 8.1 , 1 H), 7.73 (d, $J=8.1$, 1 H), 7.21 (d, $J=8.1$, 1 H), 1.77 (br, 1 H); масс-спектр: m/z 272 ($\text{M}^+ + 1$, 100%).

2-(пирид-2-ил)-8-гидроксихинолин M1.

15 В результате реакции 2-йодхинолин-8-ола 8 с 2-бромпропаном по методу, описанному в примере 8, был получен 2-йод-8-изопропоксихинолин 9 с выходом 84%. 9: ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7.75 – 7.67 (m, 2 H), 7.45 (dd, $J=7.0$ и 8.0 , 1 H), 7.33 (dd, $J=1.2$ и 8.0 , 1 H), 7.12 (dd, $J=1.2$ и 7.0 , 1 H), 4.80 (m, 1 H), 1.49 (d, $J=5.9$, 6 H). К раствору 9 (29 мг, 0,093 ммоль) и $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (5 мг) в ТГФ (2,5 мл), при перемешивании в аргоновой атмосфере при комнатной температуре добавляли капельно в течение 5 мин. 2-пиридилцинкбромид
 20 (0,370 мл 0,5-молярного раствора в ТГФ, 0,185 ммоль). Через 2 часа добавляли насыщенный NH_4Cl (5 мл), и смесь экстрагировали дихлорметаном (10 мл х 3). Экстракты объединяли, промывали H_2O (10 мл) и соляным раствором (10 мл), сушили (Na_2SO_4) и концентрировали. После колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан/MeOH, 19:1) был получен 2-(пирид-2-ил)-8-изопропилоксихинолин в виде желтого твердого
 25 вещества. Изопропиловый эфир отщеплялся по методике, описанной в примере 8, с получением 2-(пирид-2-ил)-8-гидроксихинолина P1 (22 мг, 89%) (данные см. в табл. 5).

35 Эта реакцию повторяли с использованием: 2-(метилтио)фенилцинкйодида, 2-(этоксикарбонил)фенилцинкйодида и 6-метилпиридилцинкбромид, в результате чего были получены P2, P3 и P4. Спектральные данные приведены в таблице (табл. 5).

Пример 13 – Получение 5,7-дихлор-2-метиламино-8-гидроксихинолина (PBT 1047) и 5,7-дихлор-2-(метилпиридин-2-ил-амино)-хинолин-8-ола (PBT 1056) (Схема 13)

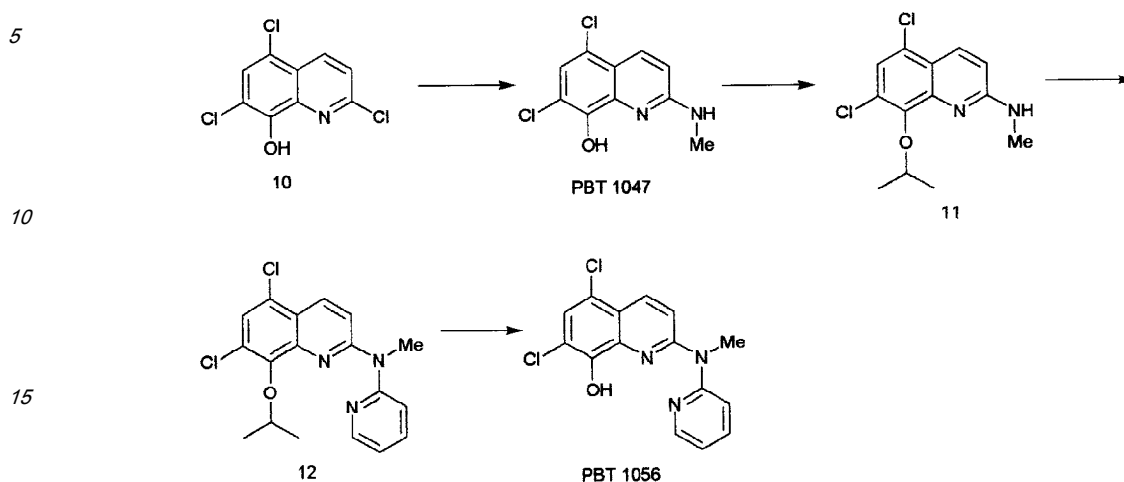


Схема 13

5,7-дихлор-2-метиламино-8-гидроксихинолин (PBT 1047)

2,5,7-трихлор-8-гидроксихинолин 10 (200 мг, 0,805 ммоль) и раствор метиламина в этаноле (12 мл 33% раствора) нагревали в герметически закрытом сосуде при 90°C в течение 26 часов, затем охлаждали. После этого выделяли осадок путем
 30 фильтрования и промывали его диэтиловым эфиром. В результате был получен чистый 5,7-дихлор-2-метиламино-8-гидроксихинолин (PBT 1047) в виде твердого вещества желтого цвета (186 мг, 95%). ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): δ 8.80 (br, 1 H), 7.98 (d, J=9.1, 1 H), 7.48 (br, 1 H), 7.25 (s, 1 H), 6.90 (d, J=9.1, 1H), 2.98 (d, J=4.8, 3 H); масс-спектр: m/z 243, 245 (M⁺ + 1, 100 и 66%, соответственно).

5,7-дихлор-8-гидрокси-2-(метилпиридин-2-ил-амино)-хинолин (PBT 1056)

40 Раствор 5,7-дихлор-2-метиламино-8-гидроксихинолина (1,02 г, 4,21 ммоль), безводного карбоната калия (2,4 г) и 2-бромпропана (0,6 мл) в диметилсульфоксиде (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 дней. Затем добавляли насыщенный раствор хлорида аммония, и смесь экстрагировали дихлорметаном (30 мл х
 45 3). Экстракты объединяли, сушили и концентрировали. Из остатка, после колоночной хроматографии (силикагель, дихлорметан), был получен 5,7-дихлор-2-метиламино-8-

изопропоксихинолин 11 в виде беловатого твердого вещества (938 мг, 78%). ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8.13 (d, $J=9.0$, 1 H), 7.28 (s, 1 H), 6.69 (d, $J=9.0$, 1 H), 5.10 (m, 1 H), 4.90 (br, 1 H), 3.11 (d, $J=5.0$, 3 H), 1.43 (s, 3 H), 1.41 (s, 3 H).

К раствору 5,7-дихлор-2-метиламино-8-изопропоксихинолина 11 (200 мг, 0,701 ммоль), *рацемического* Бинапа (17,5 мг, 4 мол. %), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (12,8 мг, 2 мол. %) и *трет*-бутилата натрия (78,6 мг, 0,818 ммоль) в сухом толуоле (10 мл) в аргонной атмосфере добавляли 2-бромпиридин (0,056 мл, 0,584 ммоль). Затем оранжево-бурый раствор нагревали при 80°C в течение 2 часов. После этого добавляли еще 2-бромпиридина (0,010 мл, 0,104 ммоль) и нагревали еще 2 часа. Реакционную смесь гасили насыщенным хлоридом аммония, экстрагировали дихлорметаном (20 мл x 3), вытяжки объединяли, сушили и концентрировали. Остаток, после колоночной хроматографии (силикагель, дихлорметан/метанол (1:0 – 100:1), дал 5,7-дихлор-8-изопропокси-2-(метилпиридин-2-ил-амино)-хинолин 12 в виде беловатого твердого вещества (175 мг, 69%). ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц): δ 8.47 (dd, $J=1.7$ и 5.0 , 1 H), 8.21 (d, $J=9.3$, 1 H), 7.72 (m, 1 H), 7.40 (s, 1 H), 7.32 (m, 2 H), 7.09 (dd, $J=5.0$ и 7.0 , 1 H), 5.14 (m, 1 H), 3.80 (s, 3 H), 1.41 (s, 3 H), 1.40 (s, 3 H).

Изопропиловый эфир 12 (171 мг, 0,472 ммоль) расщепляли треххлористым бором по методике, описанной в примере 8; после обработки метанолом получили 5,7-дихлор-8-гидрокси-2-(метилпиридин-2-ил-амино)-хинолин в виде гидрохлорида (170 мг). Затем добавляли воду (10 мл), и pH смеси доводили до 8 насыщенным NaHCO_3 . После этого фильтрованием выделяли твердое вещество. После колоночной хроматографии (силикагель, дихлорметан/метанол (9:1)) получили указанное в заглавии соединение (PBT 1056) в виде беловатого твердого вещества (140 мг, 93%). ^1H ЯМР (CD_3OD , 400 МГц): δ 8.43 (dd, $J=2.0$ и 5.0 , 1 H), 8.18 (d, $J=9.4$, 1 H), 7.89 (ddd, $J=2.0$, 8.0 и 8.0 , 1 H), 7.41 (d, $J=8.0$, 1 H), 7.35 (s, 1 H), 7.27 (d, $J=9.4$, 1 H), 7.25 (dd, $J=5.0$ и 8.0 , 1 H), 3.75 (s, 3 H).

Пример 14 – Получение 5,7-дихлор-8-гидрокси-2-(2-пиридил)хинолин (Схема 14)

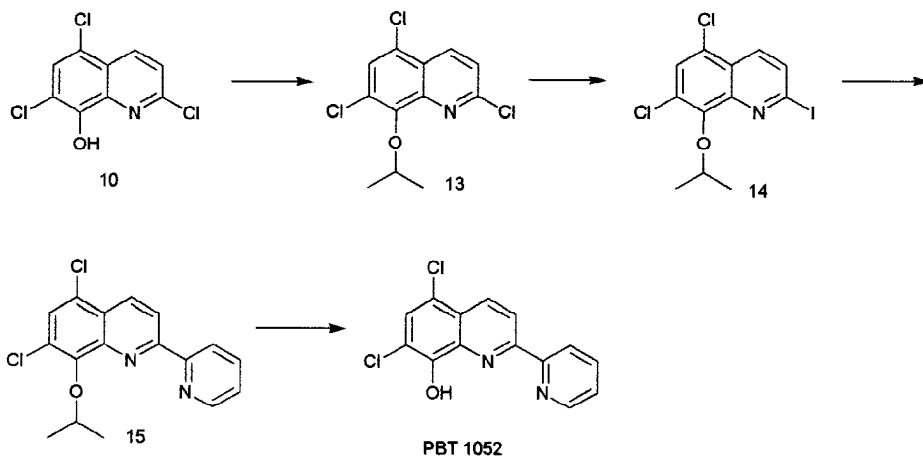


Схема 14

Смесь 2,5,7-трихлор-8-гидроксиизохинолина 10 (1,14 г, 4,61 ммоль), 2-бромпропана (1,10 мл, 11,5 ммоль) и безводного карбоната калия (1,56 г, 11,5 ммоль) в ДМФ (15 мл) оставляли прогреваться при 60 °С на ночь. Затем смесь вливали в воду, экстрагировали этилацетатом (20 мл x 3), вытяжки объединяли и сушили. После удаления растворителя получилось бурое масло (3,15 г). После колоночной хроматографии (силикагель, этилацетат/гексан (1:9)) получили 2,5,7-трихлор-8-изопропоксизохинолин 13 в виде белого твердого вещества (1,15 г, 87%), точка плавления 83 - 85 °С. ¹Н ЯМР (CDCl₃, 200 МГц): δ 8.43 (d, J=10, 1 H), 7.64 (s, 1 H), 7.45 (d, J=10, 1 H), 5.15 (m, 1 H), 1.46 (s, 3 H), 1.42 (s, 3 H).

Смесь 2,5,7-трихлор-8-изопропоксизохинолина 13 (5,93 г, 20,5 ммоль), йодистого натрия (12,3 г, 82 ммоль) и ацетилхлорида (1,4 мл, 20 ммоль) в ацетонитриле (30 мл) оставляли нагреваться с обратным холодильником на ночь. Затем смесь вливали в воду и экстрагировали этилацетатом (30 мл x 3). Вытяжки объединяли и промывали 10% раствором тиосульфата натрия, водой, соляным раствором, сушили сульфатом магния и упаривали; получилось твердое вещество оранжевого цвета (6,9 г). После очистки методом колоночной хроматографии (силикагель, этилацетат/гексан (1:19)) получили йодид, 5,7-дихлор-2-йод-8-изопропоксизохинолин 14 в виде белого твердого вещества (4,57 г, 58%), точка плавления 97 - 99 °С. ¹Н ЯМР (CDCl₃, 200 МГц): δ 8.05 (d, J=8.6, 1 H), 7.80 (d, J=8.6, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 5.02 (m, 1 H), 1.45 (s, 3 H), 1.42 (s, 3 H).

К раствору 5,7-дихлор-2-йод- 8-изопропоксихинолина 14 (2,80 г, 7,35 ммоль) в безводном ТГФ (150 мл) при перемешивании в азотной атмосфере при комнатной температуре добавляли хлористый палладий бис(трифенилфосфин) (362 мг, 0,51 ммоль). Затем добавляли капельно в течение 15 минут 2-пиридилцинкбромид (29,4 мл 0.5 М раствора в ТГФ, 14,7 ммоль); смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Добавляли насыщенный хлорид аммония, смесь экстрагировали этилацетатом (30 мл x 3), соединенные вместе вытяжки сушили и концентрировали. Из остатка методом колоночной хроматографии (силикагель, этилацетат/гексаны (1:9)) получили 5,7-дихлор-8-изопропокси-2-(2-пиридил)хинолин 15 в виде белого твердого вещества (1,83 г, 75%), точка плавления 112 - 114 °С. ¹Н ЯМР (ДМСО-d₆, 200 МГц): δ 8.78 - 8.58 (m, 4 H), 7.85 (m, 1 H), 7.64 (s, 1 H), 7.39 (m, 1 H), 5.25 (m, 1 H), 1.52 (s, 3 H), 1.50 (s, 3 H).

К раствору 5,7-дихлор-8-изопропокси-2-(2-пиридил)хинолина 15 (1,83 г, 5,51 ммоль) в дихлорметане (30 мл) при 0 °С в атмосфере азота добавляли капельно треххлористый бор (27 мл 1-молярного раствора в дихлорметане, 27,6 ммоль). Смесь перемешивали при 0 °С в течение 1 часа и затем дали нагреться до комнатной температуры. Через 24 часа все еще присутствовало некоторое количество исходного материала (анализ методом тонкослойной хроматографии). Тогда добавили еще треххлористого бора (14 mL) и перемешивали еще 4 часа. Реакцию погасили метанолом (10 мл), летучие компоненты отогнали под вакуумом. Процесс повторяли, пока вес остатка не стал постоянным. В результате получился 5,7-дихлор-8-гидрокси-2-(2-пиридил)хинолин в виде гидрохлорида. Затем этот гидрохлорид (1,68 г) с водой (20 мл) обрабатывали насыщенным бикарбонатом натрия, пока pH раствора не стал равным 8. Смесь экстрагировали этилацетатом (30 мл x 3) и сушили. Остаток, полученный после удаления растворителя, промывали метанолом. Получили 5,7-дихлор-8-гидрокси-2-(2-пиридил)хинолин (PBT 1052) в виде беловатого твердого вещества (1,25 г, 78%), точка плавления >230 °С. ¹Н ЯМР (ДМСО-d₆, 200 МГц): δ 10.8 (br, 1 H), 9.21 (d, J=9, 1 H), 8.30-8.62 (m, 3 H), 8.12 (m, 1 H), 7.88 (s, 1 H), 7.62 (m, 1 H).

Пример 15 – Получение 5,7-дихлор-2-диметиламинометил-хинолин-8-ола гидрохлорида (PBT 1033) (Схема 15)

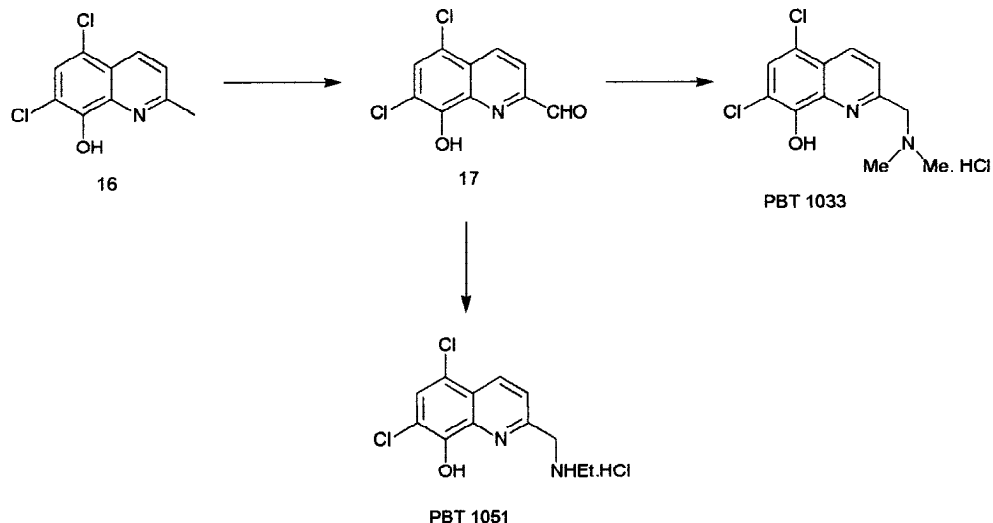


Схема 15

5,7-дихлор-8-гидроксихинолин-2-карбоксальдегид 17

Раствор 5,7-дихлор-2-метилхинолин-8-ола 16 (1,5 г, 6,58 ммоль) в 1,4-диоксане (20 мл) добавляли каплями в течение 3 часов к перемешиваемой суспензии диоксида селена (1,3 г, 11,72 ммоль) в 1,4-диоксане (60 мл) при 50 - 55 °С. Полученную смесь оставляли прогреваться на ночь при 80 °С, охлаждали, твердые частицы отфильтровывали (целит). Фильтрат упаривали, остаток промывали диэтиловым эфиром (10 мл x 3), и в результате получили 17 в виде желтого твердого вещества (количественный выход). Это вещество использовалось на следующих стадиях без дополнительной очистки. ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц): δ 10.26 (s, 1 H), 8.69 (d, $J=8.8$, 1 H), 8.37 (br, 1 H), 8.17 (d, $J=8.8$, 1 H), 7.76 (s, 1 H).

5,7-дихлор-2-диметиламинометилхинолин -8-ол гидрохлорид (PBT 1033)

Триэтиламин (0,55 мл) добавляли каплями при перемешивании к раствору 5,7-дихлор-8-гидроксихинолин-2-карбоксальдегида 17 (1,0 г, 4,13 ммоль) и диметилэмингидрохлорида (365 мг, 4,48 ммоль) в 1,2-дихлорэтане (50 мл). Через 5 минут добавляли триацетоксиборгидрид натрия (1,2 г, 5,66 ммоль) порциями, в течение 5 минут. Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре на ночь. Затем добавляли дихлорметан (100 мл), смесь промывали насыщенным бикарбонатом натрия (50 мл x 3), сушили (Na₂SO₄) и концентрировали. Полученный осадок экстрагировали диэтиловым эфиром (50 мл x 4), эфирные вытяжки объединяли и упаривали. Затем добавляли концентрированную соляную кислоту (5 мл), и смесь концентрировали под вакуумом. Этот процесс повторяли дважды. Остаток, после промывания дихлорметаном, представлял собой 5,7-дихлор-2-диметиламинометилхинолин -8-ол гидрохлорид (PBT 1033) в виде твердого вещества соломенного цвета (0,96 г, 73%). ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): δ 10.80 (s, 1 H), 10.40 (br, 1 H), 8.60 (d, J=8.6, 1 H), 7.92 (s, 1 H), 7.78 (d, J=8.6, 1 H), 4.83 (d, J=5.3, 2 H), 2.94 (s, 3 H), 2.92 (s, 3 H).

Получение 5,7-дихлор-2-этиламинометилхинолин-8-ол гидрохлорида (PBT 1051) (Схема 15)

Методику, описанную в примере 15, повторяли с использованием 5,7-дихлор-8-гидроксихинолин-2-карбоксальдегида 17 (1,00 г, 4,13 ммоль), заменив диметиламингидрохлорид этиламингидрохлоридом. Получили 5,7-дихлор-2-этиламинометилхинолин-8-ол гидрохлорид (PBT 1051) в виде твердого вещества соломенного цвета (0,60 г, 47%). ¹H ЯМР (ДМСО-d₆): δ 9.40 (br, 2 H), 8.59 (d, J=8.8, 1 H), 7.90 (s, 1 H), 7.76 (d, J=8.8, 1 H), 4.64 (s, 2 H), 3.14 (q, J=7.2, 2 H), 1.32 (t, J=7.2, 3 H).

Пример 16 – Получение 5,7-дихлор-8-гидроксихинолин-2-карбоновой кислоты [2-(1H-имидазол-4-ил)-этил]-амида (PBT 1038) (Схема 16)

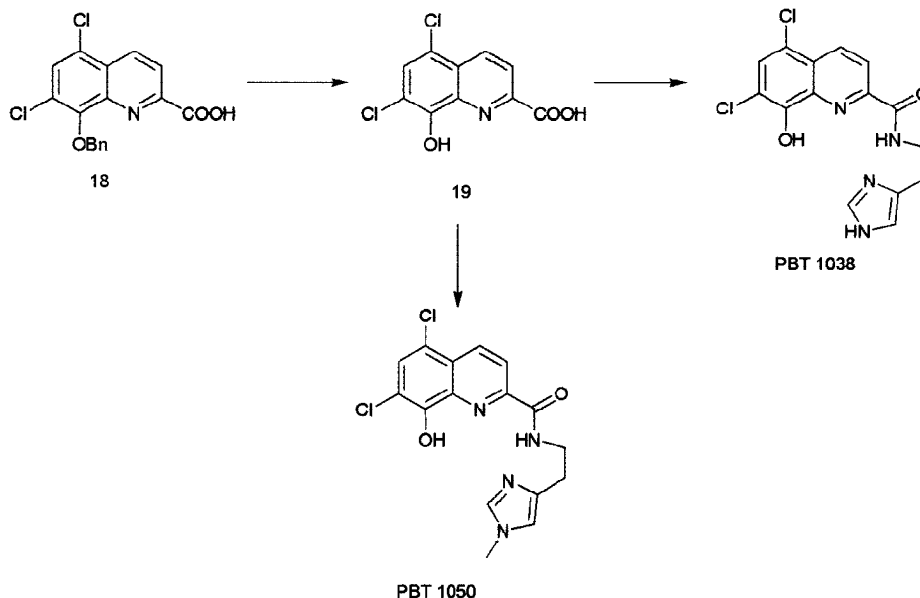


Схема 16

5,7-дихлор-8-гидроксихинолин-2-карбоновая кислота 19

Смесь 5,7-дихлор-8-бензилоксихинолин-2-карбоновой кислоты 18 (2,56 г, 7,35 ммоль) и концентрированной соляной кислоты (25 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 48 часов и затем упаривали досуха. Полученный осадок промывали диэтиловым эфиром (20 мл x 2). В результате была получена 5,7-дихлор-8-гидроксихинолин-2-карбоновая кислота 19 в виде желтого твердого вещества (1,78 г, 94%). ^1H ЯМР ($\text{CDCl}_3/\text{DMCO-d}_6$ (19:1), 400 МГц): δ 10.60 (br, 1 H), 8.53 (d, $J=8.8$, 1 H), 8.22 (d, $J=8.8$, 1 H), 7.60 (s, 1 H).

5,7-дихлор-8-гидроксихинолин-2-карбоновой кислоты [2-(1H-имидазол-4-ил)-этил]-амид (PBT 1038)

В соответствии с методикой, описанной в примере 1, 5,7-дихлор-8-гидроксихинолин-2-карбоновая кислота 19 (597 мг, 2,31 ммоль), дициклогексилкарбодиимид (483 мг, 2,31 ммоль), 1-гидроксибензотриазолгидрат (316 мг, 2,31 ммоль), гистаминдигидрохлорид (425 мг, 2,31 ммоль) и триэтиламин (0,5 мл) дали, после колоночной очистки (силикагель, этилацетат/изопропанол/вода (12:4:1)), 5,7-дихлор-8-гидроксихинолин-2-карбоновой кислоты [2-(1H-имидазол-4-ил)-этил]-амид (PBT 1038) в виде твердого вещества бледно-соломенного цвета (276 мг, 34%). ^1H ЯМР

(ДМСО- d_6 , 400 МГц): δ 11.40 (br, 2 H), 9.74 (m, 1 H), 8.64 (d, $J=8.6$, 1 H), 8.28 (d, $J=8.6$, 1 H), 7.92 (s, 1 H), 7.53 (s, 1 H), 6.83 (s, 1 H), 3.59 (m, 2 H), 2.81 (m, 2 H).

5

Получение 5,7-дихлор-8-гидроксихинолин-2-карбоновой кислоты [2-(1-метил-1*H*-имидазол-4-ил)-этил]-амида (PBT 1050) (Схема 16)

10

В соответствии с методикой, описанной в примере 1, 5,7-дихлор-8-гидроксихинолин-2-карбоновую кислоту 19 (1,00 г, 3,88 ммоль) обрабатывали дициклогексилкарбодимидом (0,96 г, 4.60 ммоль), 1-гидроксibenзотриазолгидратом (0,53 г, 5,20 ммоль), 1-метил-1*H*-гистамингидрохлоридом (1,24 г, 7,67 ммоль) и триэтиламино (0,65 мл) в течение 24 часов. Твердое вещество выделяли фильтрованием и растворяли в горячем метаноле. В результате после охлаждения был получен 5,7-дихлор-8-гидроксихинолин-2-карбоновой кислоты [2-(1-метил-1*H*-имидазол-4-ил)-этил]-амид (PBT 1050) в виде бесцветных игл (0,99 г, 70%). ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц): δ 10.25 (s, 1 H), 9.10 (m, 1 H), 8.14 (s, 1 H), 7.83 (d, $J=8.6$, 1 H), 7.44 (d, $J=8.6$, 1 H), 7.12 (s, 1 H), 6.68 (s, 1 H), 2.95 (s, 3 H), 2.85 (m, 2 H), 2.15 (m, 2 H).

20

25

30

35

40

45

50

Пример 17 – Получение 7-хлор-5-(пиридин-3-ил)-хинолин-8-ол (PBT 1057) (Схема 17)

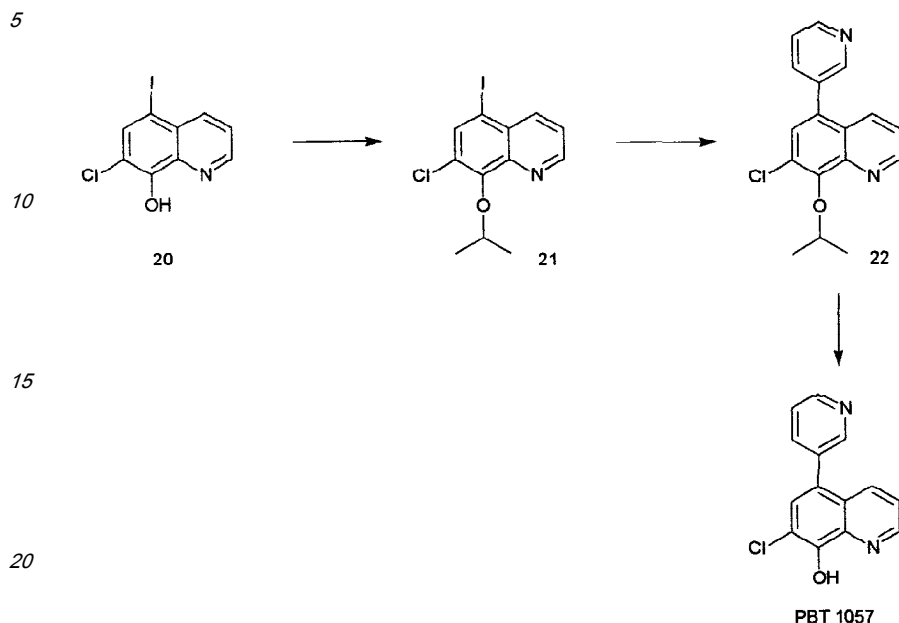


Схема 17

В соответствии с методикой, описанной в примере 8, из 7-хлор-5-йод-8-гидроксихинолина 20 и 2-бромпропана получили 7-хлор-5-йод-8-изопропоксихинолин 21 (80%). ^1H ЯМР ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6$ (19:1), 400 МГц): δ 9.09 (m, 1 H), 8.55 (m, 1 H), 8.10 (s, 1 H), 7.63 (m, 1 H), 5.15 (m, 1 H), 1.49 (s, 3 H), 1.47 (s, 3 H).

Смесь соединения 21 (180 мг, 0,518 ммоль), 3-пиридилборной кислоты (76 мг, 0,622 ммоль), KF (60 мг, 1,04 ммоль), $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (10 мг) и толуол-водной смеси (1:1, 10 мл) нагревали с обратным холодильником в аргонной атмосфере в течение 16 часов.

Смесь охлаждали, гасили насыщенным хлоридом аммония, экстрагировали дихлорметаном (10 мл x 3), вытяжки объединяли, сушили и упаривали. Остаток, после колоночной хроматографии (силикагель, дихлорметан/метанол (40:1)), дал 7-хлор-5-(пиридин-3-ил)-8-изопропоксихинолин 22 в виде бледно-кремового твердого вещества (20 мг, 14%); в нем содержалось также 132 мг исходного материала. 22: ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц): δ 9.00 (m, 1 H), 8.08 (m, 1 H), 7.93 (d, $J=7.7$, 1 H), 7.70 - 7.56 (m, 2 H), 7.55 (s, 1 H), 7.50 - 7.42 (m, 2 H), 5.23 (m, 1 H), 1.49 (s, 3 H), 1.48 (s, 3 H).

После отщепления изопропилового эфира 22 (20 мг, 0.07 ммоль) треххлористым бором по методу, описанному в примере 8, получили 7-хлор-5-(пиридин-3-ил)-хинолин-8-ол (PBT 1057) в виде твердого вещества бледно-соломенного цвета (17 мг, 94%). ^1H ЯМР (CD_3OD , 400 МГц): δ 9.16 (m, 2 H), 9.04 (d, $J=5.8$, 1 H), 8.93 (dd, $J=1.2$ и 8.6, 1 H), 8.84 (m, 1 H), 8.30 (dd, $J=5.8$ и 8.1, 1 H), 8.09 (s, 1 H), 8.08 (dd, $J=5.1$ и 8.6, 1 H).

Пример 18 – Получение 3,5,7-трихлор-8-гидроксихинолина (PBT 1058) (Схема 18)

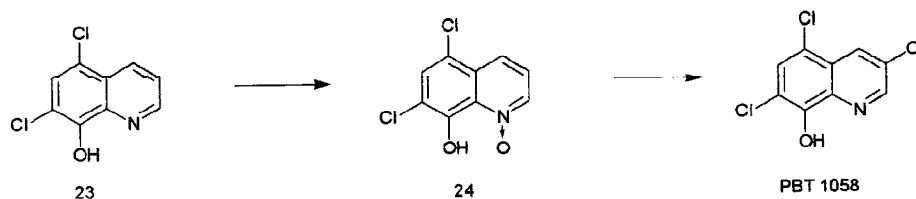


Схема 18

m-Хлорпербензойную кислоту (3,10 г 70% реагента, 26 ммоль) добавляли порциями при перемешивании к раствору 5,7-дихлор-8-гидроксихинолина 23 (5,00 г, 23 ммоль) в хлороформе (150 мл) при 0 °С. Через 1 час смесь нагрелась до комнатной температуры, и ее оставили перемешиваться еще на 48 часов. Затем смесь упарили и остаток обработали смесью этилацетата и 1 N NaHCO_3 (200 мл, 1:1); часть 1-*N*-оксида 24 осталось в виде осадка и была отделена фильтрованием. Фильтрат экстрагировали этилацетатом (40 мл x 3), вытяжки объединяли, сушили и упаривали, получив еще больше 1-*N*-оксида 24. Всего было получено 4,76 г (90%) 1-*N*-оксида 24. ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$, 400 МГц): δ 8.74 (d, $J=5.9$, 1 H), 8.24 (d, $J=8.8$, 1 H), 8.02 (s, 1 H), 7.70 (dd, $J=5.9$ and 8.8, 1 H).

Раствор соединения 24 (2,01 г, 8,8 ммоль) и хлорокись фосфора (40 мл) нагревали с обратным холодильником в течение 18 часов. Избыток хлорокиси фосфора отгоняли в вакууме, добавляли концентрированную соляную кислоту (80 мл), раствор нагревали с обратным холодильником 2 часа, затем охлаждали. После этого смесь выливали в аммиак со льдом и водой и доводили pH до 8. Осадок отделяли фильтрованием и промывали водой. Полученный материал затем растворяли в дихлорметане и последовательно фильтровали через подушки из силикагеля и целита.

После удаления растворителя получили 3,5,7-трихлор-8-гидроксихинолин (PBT 1058) в виде беловатого твердого вещества (0,92 г, 42 %), точка плавления 144 - 147 °C (лит. (Gershon *et al*, 1999) 159 - 160 °C). ¹H ЯМР (CD₃OD): δ 8.85 (d, *J*=2.2, 1 H), 8.53 (d, *J*=2.2, 1 H), 7.71 (s, 1 H); масс-спектр: *m/z* 248, 250, 252 (*M*⁺ + 1, 100, 100 и 33%, соответственно).

Пример 19 – Получение 3-амино-5,7-дихлор-8-гидроксихинолина (PBT 1060) (Схема 19)

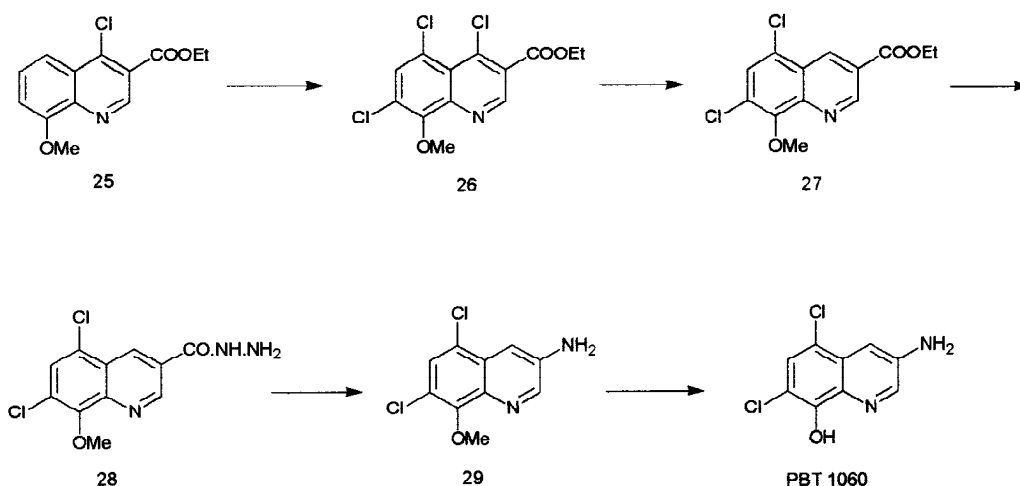


Схема 19

Этиловый эфир 4,5,7-трихлор-8-метоксихинолин-3-карбоновой кислоты 26

К раствору этилового эфира 4-хлор-8-метоксихинолин-3-карбоновой кислоты (1,00 г, 3,76 ммоль) в хлороформе (50 мл) добавляли при перемешивании, каплями, в течение 1 часа, раствор хлористого сульфурила (15 мл) в хлороформе (15 мл), поддерживая температуру 25 - 30 °C. Затем раствор нагревали при 60 - 70 °C в течение 48 часов. В течение этого времени добавляли еще хлористого сульфурила (2 мл) с регулярными интервалами (2, 24 и 30 часов). После этого раствору давали остыть до комнатной температуры и вливали в аммиак с водой со льдом, доводя pH до 8. Затем смесь экстрагировали дихлорметаном (20 мл x 3), вытяжки объединяли и упаривали. После колоночной хроматографии (силикагель, дихлорметан/метанол (100:1)) получили указанное в заглавии соединение 26 в виде твердого вещества кремового цвета (0,36 г,

29%). ^1H -ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц): δ 9.04 (s, 1 H), 7.78 (s, 1 H), 4.51 (q, $J=7.1$, 2 H), 4.14 (s, 3 H), 1.46 (t, $J=7.1$, 3 H).

5 Этиловый эфир 5,7-дихлор-8-метоксихинолин-3-карбоновой кислоты 27

Суспензию порошка цинка (0,70 г) добавляли при помешивании, при температуре 20 °С, в раствор этилового эфира 4,5,7-трихлор-8-метоксихинолин-3-
 10 карбоновой кислоты 26 (364 мг, 1,09 ммоль) и уксусной кислоты (2.2 ml) в 1,4-диоксане (15 мл). Через 20 минут добавляли этилацетат (20 мл), и полученную смесь фильтровали через целитную подушку. Фильтрат промывали насыщенным водным раствором
 15 хлористого натрия (10 мл), сушили (MgSO_4), фильтровали, растворитель отгоняли под вакуумом. Остаток подвергли хроматографии на силикагеле с флуоресцентной добавкой (этилацетат/гексан, 1:9), в результате получили 130 мг (39%) указанного в заглавии соединения 27 в виде белого твердого вещества. ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц): δ 9.51 (d,
 20 $J=2.0$, 1 H), 9.15 (d, $J=2.0$, 1 H), 7.72 (s, 1 H), 4.51 (q, $J=7.2$, 2 H), 4.18 (s, 3 H), 1.47 (t, $J=7.2$, 3 H).

25 Гидразид 5,7-дихлор-8-метоксихинолин-3-карбоновой кислоты 28

Раствор этилового эфира 5,7-дихлор-8-метоксихинолин-3-карбоновой
 кислоты 27 (404 мг, 1,35 ммоль) и гидразингидрата (1,0 г) в этаноле (10 мл) нагревали с
 обратным холодильником в течение 8 часов. После охлаждения был получен осадок в
 30 виде белого кристаллического твердого вещества. Его отделяли фильтрованием, промывали этанолом и сушили; в результате получили гидразид 28 (307 мг, 80%) в виде белого твердого вещества. ^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$, 400 МГц): δ 10.32 (br, 1 H), 9.33 (d, $J=2.4$, 1
 35 H), 8.89 (d, $J=2.4$, 1 H), 8.02 (s, 1 H), 4.66 (br, 2 H), 4.06 (s, 3 H).

3-амино-5,7-дихлор-8-метоксихинолин 29

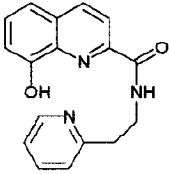
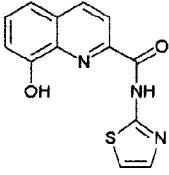
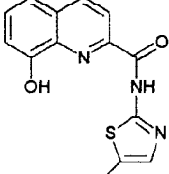
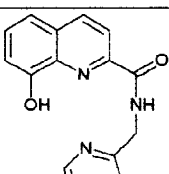
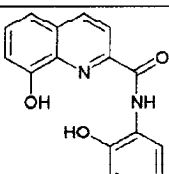
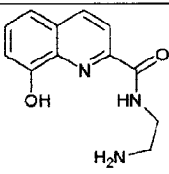
Нитрит натрия (180 мг, 2,61 ммоль) добавляли при 0 °С, при
 40 перемешивании, к суспензии гидразида 5,7-дихлор-8-метоксихинолин-3-карбоновой кислоты 28 (248 мг, 0,87 ммоль) в 1-молярной соляной кислоте (2 мл), уксусной кислоте (5 мл) и воде (20 мл). Перемешивание продолжали при 0° в течение 1 часа, затем ледяную
 45 ванну убрали, и после нагревания до комнатной температуры разнородную смесь нагревали с обратным холодильником. Смесь стала однородной примерно через 30 мин., и нагревание продолжалось в сумме 6 часов. После остывания летучие компоненты

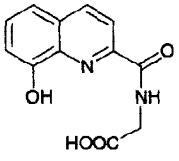
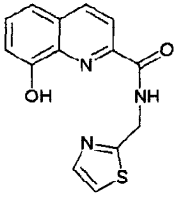
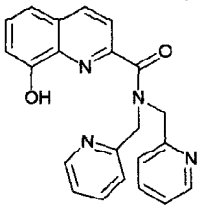
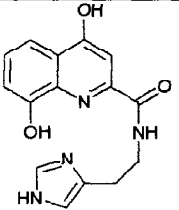
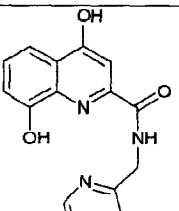
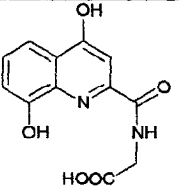
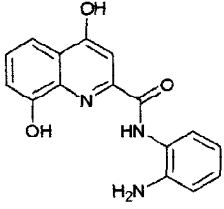
отгоняли под вакуумом, а остаток разделяли путем обработки этилацетатом (20 ml) и 10% водным раствором аммиака (10 мл). После разделения слоев водный слой промывали дополнительным этилацетатом (5 мл x 2). Объединенные слои этилацетата сушили (Na_2SO_4), фильтровали, этилацетат отгоняли под вакуумом. Остаток, после хроматографии с фосфоресцирующей добавкой (этилацетат/гексан, 1:1), дал указанное в заглавии соединение 29 (106 мг, 50%) в виде белого твердого вещества. ^1H -ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц): δ 8.48 (d, $J=2.4$, 1 H), 7.63 (s, 1 H), 7.28 (d, $J=2.4$, 1 H), 6.16 (br, 2 H), 3.97 (s, 3 H).

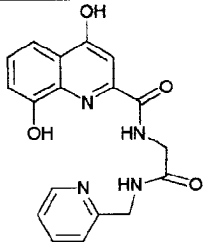
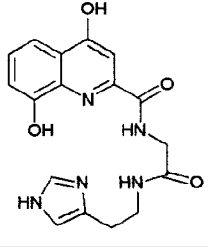
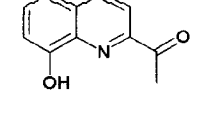
3-амино-5,7-дихлорхинолин-8-ол

Трехбромистый бор (2,0 мл 1-молярного раствора в дихлорметане, 2,0 ммоль) добавляли при перемешивании к суспензии 3-амино-5,7-дихлор-8-метоксихинолина (104 мг, 0,43 ммоль) в дихлорметане (10 мл) при -30°C . Перемешивание продолжали 14 часов, причем холодной ванне дали нагреться до комнатной температуры. Затем смесь охладили до 0°C и добавили воду (1 мл). После этого удалили дихлорметан и добавили этилацетат (10 мл) и еще воды (5 мл). Образовался желтый осадок, который собрали фильтрованием и высушили; получили 74 мг смеси исходного материала и продукта (анализ методом ЯМР). Слой этилацетата из фильтрата высушили (Na_2SO_4), профильтровали, растворитель отогнали под вакуумом, и получили 42 мг твердого вещества, которое также представляло собой смесь исходного материала и продукта (анализ ЯМР). Оба твердых образца объединили, и их компоненты разделили методом хроматографии с флуоресцирующей добавкой (этилацетат/2-пропанол, 1:0–3:1). В результате получили указанное в заглавии соединение в виде гидробромида (30 мг) и восстановленный исходный материал (57 мг). К смеси гидробромида 3-амино-5,7-дихлорхинолин-8-ола и воды (10 мл) добавляли насыщенный NaHCO_3 , пока pH не стал равным 8. После выделения твердого вещества получили указанное в заглавии соединение (PBT 1060) в виде твердого вещества кремового цвета (25 мг, 26%). ^1H -ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц): δ 8.15 (br, 1 H), 7.24 (br, 1 H), 7.14 (br, 1 H), 5.70 (br, 2 H); масс-спектр: m/z 229, 231 ($\text{M}^+ + 1$, 100 и 66%, соответственно). Гидробромид 3-амино-5,7-дихлорхинолин-8-ола: ^1H -ЯМР (CD_3OD , 400 МГц): δ 8.43 (d, $J=2.6$, 1 H), 7.46 (d, $J=2.6$, 1 H), 7.42 (s, 1 H).

Таблица 1 Данные для примеров 1 и 2.

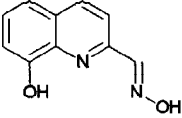
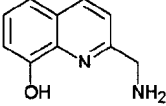
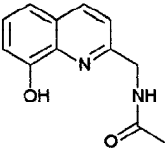
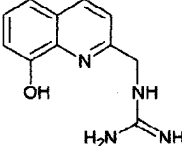
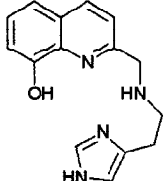
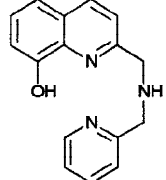
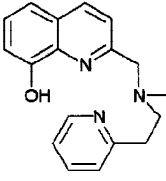
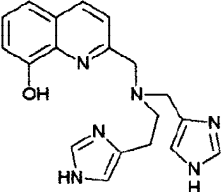
Обозначение продукта	Метод получения ^a	Продукт	Выход (%)	Данные ¹ H ЯМР	Данные масс-спектрометрии
A1	A		52	(CDCl ₃ /DMCO-d ₆ , 19:1): δ 9.81 (m, 1 H), 8.30 – 8.23 (m, 2 H), 7.91 (d, J=9.0, 1 H), 7.86 (s, 1 H), 7.68 (d, J=9.0, 1 H), 7.51 (m, 1 H), 7.36 (m, 1 H), 7.19 (d, J=4.0, 1 H), 6.94 (s, 1 H), 3.80 (m, 2 H), 3.03 (m, 2 H)	
A2	A		85	(CDCl ₃): δ 9.61 (m, 1 H), 8.60 (d, J=5.4, 1 H), 8.27 – 8.18 (m, 2 H), 8.03 (m, 1 H), 7.93 (d, J=8.0, 1 H), 7.77 (d, J=8.3, 1 H), 7.63 (d, J=8.0, 1 H), 7.51 (d, J=8.0, 1 H), 7.35 (d, J=8.0, 1 H), 7.24 (m, 1 H), 3.90 (m, 2 H), 3.42 (m, 2 H)	294 (M ⁺ + 1)
A3	A		65	(CDCl ₃): δ 9.53 (m, 1 H), 8.42 – 8.25 (m, 2 H), 7.65 – 7.25 (m, 6 H)	272 (M ⁺ + 1)
A4	A		81	(CDCl ₃ /DMCO-d ₆ , 19:1): δ 10.35 (br, 1 H), 8.38 – 8.29 (m, 2 H), 7.58 (m, 1 H), 7.48 (s, 1 H), 7.40 (d, J=8.3, 1 H), 7.27 – 7.20 (m, 2 H), 2.48 (s, 3 H)	286 (M ⁺ + 1)
A5	A		81	(CDCl ₃): δ 10.54 (t, J=4.0, 1 H), 8.72 (br, 1 H), 8.63 (d, J=5.6, 1 H), 8.30 – 8.18 (m, 2 H), 7.9 (d, J=7.8, 1 H), 7.64 – 7.30 (m, 5 H), 5.10 (m, 2 H)	280 (M ⁺ + 1)
A6	A		65	(CDCl ₃ /DMCO-d ₆ , 19:1): δ 11.34 (br, 1 H), 8.36 (s, 1 H), 7.59 (m, 1 H), 7.56 (d, J=9.0, 1 H), 7.41 (d, J=9.0, 1 H), 7.23 (d, J=4.0, 1 H), 7.19 (d, J=4.0, 1 H), 7.09 (m, 1 H), 6.96 (m, 1 H), 5.00 (br, 2 H)	
A7	A		71	(CDCl ₃ /DMCO-d ₆ , 19:1): δ 10.16 (m, 1 H), 8.60 (br, 1 H), 8.25 (m, 1 H), 7.92 (d, J=7.8, 1 H), 7.67 (d, J=7.8, 1 H), 7.57 – 7.35 (m, 2 H), 5.20 (br, 2 H), 3.89 (m, 2 H), 2.60 (m, 2 H)	

5	A8	A		62	(CDCl ₃ /DMCO-d ₆ , 19:1): δ 10.35 (m, 1 H), 8.37 (s, 1 H), 7.81 (m, 1 H), 7.59 – 7.39 (m, 2 H), 4.23 (m, 2 H), 3.60 (br, 2 H)	
10	A9	B		60	(CDCl ₃): δ 9.01 (m, 1 H), 8.31 (m, 1 H), 8.25 (br, 1 H), 7.77 (d, J=3.4, 1 H), 7.55 (dd, J=8.0 and 3.4, 1 H), 7.40 (d, J=8.0, 1 H), 7.33 (d, J=3.4, 1 H), 7.27 (m, 1 H), 7.24 (d, J=7.3, 1 H), 5.05 (m, 2 H)	286 (M ⁺ + 1)
15	A10	B		63	(CDCl ₃): δ 9.60 (br, 1 H), 8.75 (d, J=4.2, 1 H), 8.58 (d, J=4.5, 1 H), 8.28 (d, J=8.6, 1 H), 8.08 (d, J=8.6, 1 H), 7.77 (m, 1 H), 7.68 (m, 1 H), 7.58 – 7.15 (m, 7 H)	371 (M ⁺ + 1)
20	B1	A		77	(CDCl ₃ /DMCO-d ₆ , 19:1): δ 9.60 (m, 1 H), 8.29 (s, 1 H), 7.91 (d, J=8.3, 1 H), 7.68 – 7.65 (d, J=9.0, 1 H), 7.50 – 7.29 (m, 2 H), 7.15 – 7.07 (m, 2 H), 3.40 (m, 2 H), 3.30 (br, 2 H), 3.10 (m, 2 H).	
25	B2	A		31	(CDCl ₃ /DMCO-d ₆ , 19:1): δ 10.11 (m, 1 H), 9.55 (br, 1 H), 8.63 (d, J=4.4, 1 H), 7.95 (m, 1 H), 7.70 – 7.65 (m, 2 H), 7.58 (s, 1 H), 7.45 (m, 1 H), 7.38 – 7.34 (m, 2 H), 7.14 (m, 1 H), 4.96 (m, 2 H)	
30	B3	A		78	(CDCl ₃ /DMCO-d ₆ , 19:1): δ 10.35 (m, 1 H), 8.37 (s, 1 H), 7.81 (m, 1 H), 7.59 – 7.39 (m, 2 H), 4.23 (m, 2 H), 3.60 (br, 2 H)	
35	B4	A		97	(CDCl ₃ /DMCO-d ₆ , 19:1): δ 10.99 (br, 1 H), 9.63 (br, 1 H), 7.77 (s, 1 H), 7.69 (d, J=8.5, 1 H), 7.50 – 7.32 (m, 3 H), 7.18 – 7.05 (m, 2 H), 6.85 – 6.78 (m, 2 H), 4.20 (br, 2 H)	296 (M ⁺ + 1)
40						
45						

B5	A		51	(CDCl ₃ /DMCO-d ₆ , 9:1): δ 10.02 (m, 1 H), 8.49 (s, 1 H), 7.95 (m, 1 H), 7.72 – 7.60 (m, 3 H), 7.22 – 7.10 (m, 4 H), 4.57 (m, 2 H), 4.22 (m, 2 H), 3.20 (br, 2 H)	352 (M ⁺ + 1)
B6	A		47	(CDCl ₃ /DMCO-d ₆ , 19:1): δ 9.92 (m, 1 H), 7.67 (d, J=8.8, 1 H), 7.53 (m, 1 H), 7.50 – 7.30 (m, 4 H), 7.12 (d, J=8.0, 1 H), 6.76 (s, 1 H), 4.09 (m, 2 H), 3.48 (m, 2 H), 2.60 (m, 2 H)	390 (M ⁺ + 1)
C1			98	(CDCl ₃): δ 8.31 (d, J=9.0, 1 H), 8.18 (d, J=9.0, 1 H), 8.15 (br, 1 H), 7.60 (dd, J=9.0 and 9.0, 1 H), 7.42 (d, J=9.0, 1 H), 7.28 (d, J=9.0, 1 H), 2.88 (s, 3 H)	

^aСм. экспериментальный размер: А = Общая методика А; В = Общая методика В.

Таблица 2 Данные для примеров 3, 4, 5 и 6

Обозначение продукта	Продукт	Выход (%)	Данные ^1H ЯМР	Данные масс-спектрометрии
D1		80	($\text{CDCl}_3/\text{DMCO-d}_6$, 19:1): δ 11.00 (br, 1 H), 8.41 (s, 1 H), 8.16 (d, $J=8.6$, 1 H), 8.03 (d, $J=8.6$, 1 H), 7.47 (m, 1 H), 7.34 (d, $J=8.3$, 1 H), 7.23 (d, $J=7.5$, 1 H), 2.40 (br, 1 H)	
E1		82	($\text{CDCl}_3/\text{DMCO-d}_6$, 19:1): δ 8.12 (d, $J=8.0$, 1 H), 7.46 – 7.30 (m, 4 H), 7.17 (d, $J=7.3$, 1 H), 4.20 (br s, 2 H), 3.20 (br, 2 H)	
E2		60	(CDCl_3): δ 8.25 (d, $J=8.3$, 1 H), 7.53 – 7.48 (m, 2 H), 7.38 (d, $J=8.3$, 1 H), 7.30 (d, $J=7.6$, 1 H), 6.70 (br, 1 H), 4.82 (m, 2 H), 3.53 (s, 1 H), 2.14 (s, 3 H)	
E3		82	($\text{CDCl}_3/\text{DMCO-d}_6$, 19:1): δ 8.89 (br, 1 H), 8.20 (d, $J=8.5$, 1 H), 7.56 (m, 1 H), 7.50 – 7.40 (m, 2 H), 7.33 (d, $J=8.0$, 1 H), 7.21 (d, $J=7.5$, 1 H), 5.30 (br, 1 H), 4.83 (m, 2 H), 2.88 (br s, 3 H)	
F1		61	($\text{CDCl}_3/\text{DMCO-d}_6$, 19:1): δ 8.02 (d, $J=8.6$, 1 H), 7.50 (s, 1 H), 7.35 – 7.20 (m, 4 H), 7.06 (d, $J=7.3$, 1 H), 6.74 (s, 1 H), 6.30 (br, 2 H), 4.10 (s, 2 H), 3.03 (m, 2 H), 2.84 (m, 2 H)	
F2		86	(CDCl_3): δ 8.63 (d, $J=4.7$, 1 H), 8.11 (d, $J=8.3$, 1 H), 7.66 (m, 1 H), 7.46 (d, $J=8.3$, 1 H), 7.41 (d, $J=7.8$, 1 H), 7.34 (d, $J=8.3$, 1 H), 7.28 (d, $J=8.3$, 1 H), 7.22 – 7.16 (m, 2 H), 4.18 (m, 2 H), 4.02 (m, 2 H), 2.60 (br, 2 H)	
F3		68	(CDCl_3): δ 8.53 (d, $J=4.9$, 1 H), 8.06 (d, $J=8.3$, 1 H), 7.59 (m, 1 H), 7.45 (d, $J=8.3$, 1 H), 7.40 (d, $J=7.8$, 1 H), 7.29 (d, $J=8.3$, 1 H), 7.16 (d, $J=8.3$, 1 H), 7.14 (m, 1 H), 3.91 (s, 2 H), 3.08 (m, 2 H), 2.91 (m, 2 H), 2.39 (s, 3 H)	
G1		77	($\text{CDCl}_3/\text{DMCO-d}_6$, 19:1): δ 8.02 (d, $J=8.6$, 1 H), 7.50 (s, 1 H), 7.35 – 7.20 (m, 4 H), 7.06 (d, $J=7.3$, 1 H), 6.74 (s, 1 H), 6.30 (br, 2 H), 4.10 (s, 2 H), 3.03 (m, 2 H), 2.84 (m, 2 H)	

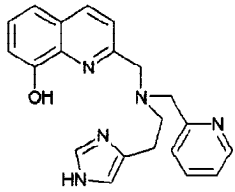
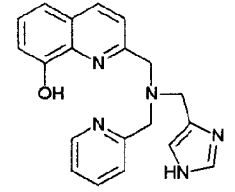
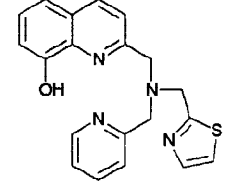
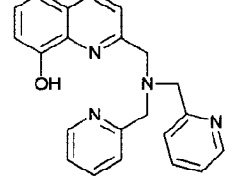
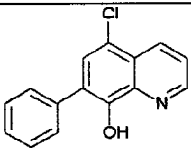
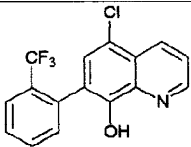
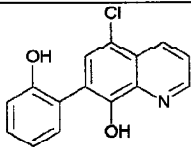
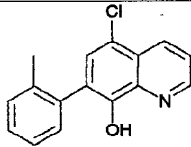
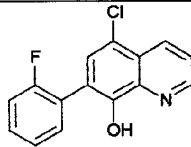
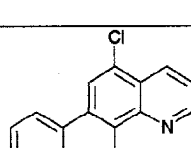
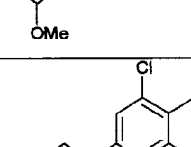
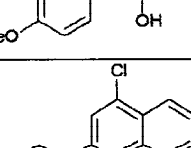
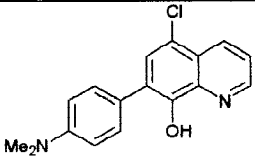
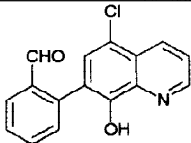
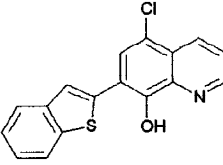
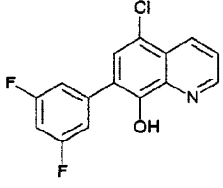
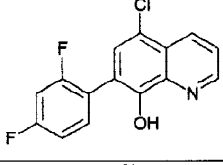
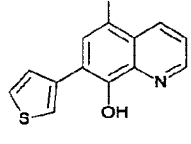
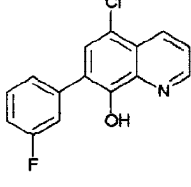
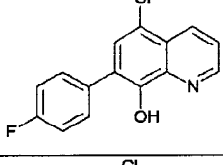
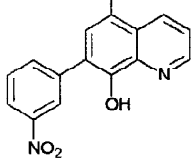
5	G2		79	(CDCl ₃ /DMSO-d ₆ , 19:1): δ 8.61 (d, <i>J</i> =4.9, 1 H), 8.00 (d, <i>J</i> =8.3, 1 H), 7.68 (s, 1 H), 7.59 (dd, <i>J</i> =7.5 and 7.5, 1 H), 7.42 – 7.13 (m, 7 H), 6.71 (s, 1 H), 4.04 (s, 2 H), 3.93 (s, 4 H), 3.90 (br, 1 H), 2.89 (br s, 4 H)	
10	H1		66	(CDCl ₃ /DMSO-d ₆ , 19:1): δ 8.59 (d, <i>J</i> =4.8, 1 H), 8.10 (d, <i>J</i> =8.5, 1 H), 7.71 – 7.64 (m, 2 H), 7.57 (d, <i>J</i> =8.5, 1 H), 7.48 – 7.37 (m, 2 H), 7.32 – 7.14 (m, 3 H), 6.96 (s, 1 H), 3.98 (s, 2 H), 3.84 (s, 2 H), 3.80 (br, 1 H), 3.72 (s, 2 H)	346 (M ⁺ + 1)
15	H3		51	(CDCl ₃ /DMSO-d ₆ , 19:1): δ 8.11 (d, <i>J</i> =8.3, 1 H), 7.80 – 7.65 (m, 2 H), 7.53 (d, <i>J</i> =8.0, 1 H), 7.45 – 7.10 (m, 5 H), 6.76 (s, 1 H), 5.30 (br, 1 H), 4.08 (m, 4 H), 2.94 (m, 4 H)	363 (M ⁺ + 1)
20	H2		73	(CDCl ₃): δ 8.57 (m, 2 H), 8.10 (d, <i>J</i> =8.5, 1 H), 7.70 – 7.63 (m, 2 H), 7.62 – 7.54 (m, 3 H), 7.41 (dd, <i>J</i> =8.0 and 8.0, 1 H), 7.31 – 7.14 (m, 4 H), 4.03 (s, 2 H), 3.94 (s, 4 H), 3.40 (br, 1 H)	357 (M ⁺ + 1)

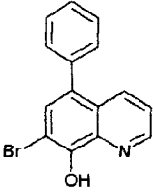
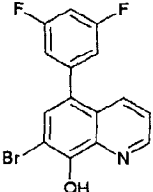
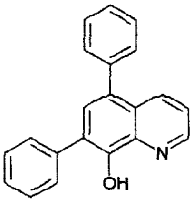
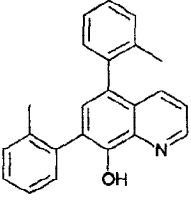
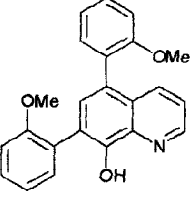
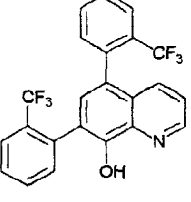
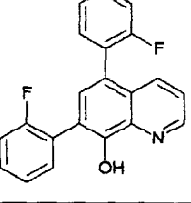
Таблица 3 Данные для примеров 7.

Обозначение продукта	Продукт	Выход (%)	Данные ¹ H ЯМР	Данные масс-спектрометрии
30	I1	72	(CDCl ₃): δ 8.73 (d, <i>J</i> =8.7, 1 H), 8.28 (d, <i>J</i> =9.0, 1 H), 8.25 (d, <i>J</i> =9.0, 1 H), 7.81 (s, 1 H), 7.66 (s, 1 H), 7.46 – 7.36 (m, 2 H), 7.23 (m, 1 H), 6.56 (m, 1 H)	
35	I2	75	(CDCl ₃): δ 8.47 (s, 1 H), 8.34 (d, <i>J</i> =8.9, 1 H), 7.82 (s, 1 H), 7.70 (br, 1 H), 7.57 (d, <i>J</i> =8.9, 1 H), 7.48 (dd, <i>J</i> =7.5 and 7.5, 1 H), 7.39 (m, 1 H), 7.28 – 7.25 (m, 2 H)	
40	I3	71	(DMSO-d ₆) (400MHz): δ 8.96 (br, 1 H), 7.58 (d, <i>J</i> =9.4, 1 H), 7.54 – 7.49 (m, 2 H), 7.37 (d, <i>J</i> =7.8, 1 H), 7.31 (dd, <i>J</i> =7.8 and 7.8, 1 H), 7.18 (dd, <i>J</i> =1.4 and 7.8, 1 H)	
45	I4	68	(CDCl ₃): δ 8.34 (dd, <i>J</i> =1.5 and 8.8, 1 H), 7.86 (br, 1 H), 7.58 – 7.48 (m, 2 H), 7.42 – 7.40 (m, 2 H), 7.28 (d, <i>J</i> =7.8, 1 H), 7.10 (br, 1 H), 2.71 (s, 3 H)	

Таблица 4 Данные для примеров 8, 9, 10 и 11.

Обозначение продукта	Продукт	Выход (%)	Данные ^1H ЯМР	Данные масс-спектрометрии
5 K1		89	($\text{CDCl}_3/\text{DMCO-d}_6$, 19:1): δ 9.16 (m, 1 H), 9.03 (d, $J=8.6$, 1 H), 7.95 (dd, $J=5.3$ and 8.6, 1 H), 7.82 (m, 1 H), 7.58 – 7.42 (m, 3 H), 5.65 (br, 1 H)	256 ($\text{M}^+ + 1$, 100%), 258 ($\text{M}^+ + 1$, 33%)
10 K2		55	($\text{CDCl}_3/\text{DMCO-d}_6$, 19:1): δ 9.23 (d, $J=5.1$, 1 H), 9.13 (m, 1 H), 8.02 (m, 1 H), 7.83 (d, $J=8.0$, 1 H), 7.69 (s, 1 H), 7.64 (m, 1 H), 7.41 (d, $J=7.3$, 1 H), 5.60 (br, 1 H)	324 ($\text{M}^+ + 1$, 100%), 326 ($\text{M}^+ + 1$, 33%)
15 K3		96	(DMCO-d_6)(400MHz): δ 8.99 (d, $J=4.0$, 1 H), 8.57 (d, $J=8.4$, 1 H), 7.78 (dd, $J=4.0$ and 8.4, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 7.35 (m, 1 H), 7.18 (m, 1 H), 7.16 – 6.86 (m, 2 H)	270 [($\text{M} - \text{H}$), 100%], 272 [($\text{M} - \text{H}$), 33%]
20 K4		90	($\text{CDCl}_3/\text{DMCO-d}_6$, 19:1): δ 9.19 (d, $J=5.0$, 1 H), 9.13 (d, $J=8.3$, 1 H), 7.96 (dd, $J=5.0$ and 8.3, 1 H), 7.73 (s, 1 H), 7.40 – 7.22 (m, 4 H), 4.10 (br, 1 H), 2.23 (s, 3 H)	270 ($\text{M}^+ + 1$, 100%), 272 ($\text{M}^+ + 1$, 33%)
25 K5		95	($\text{CDCl}_3/\text{DMCO-d}_6$, 19:1): δ 9.19 (m, 1 H), 9.12 (d, $J=8.5$, 1 H), 8.00 (dd, $J=5.1$ and 8.5, 1 H), 7.83 (s, 1 H), 7.54 (m, 1 H), 7.47 (m, 1 H), 7.30 (dd, $J=8.3$ and 8.5, 1 H), 7.22 (dd, $J=8.5$ and 8.5, 1 H), 7.00 (br, 1 H)	274 ($\text{M}^+ + 1$, 100%), 276 ($\text{M}^+ + 1$, 33%)
30 K6		98	($\text{CDCl}_3/\text{DMCO-d}_6$, 19:1): δ 9.17 (d, $J=4.7$, 1 H), 9.10 (d, $J=8.3$, 1 H), 7.96 (dd, $J=4.9$ and 8.3, 1 H), 7.91 (s, 1 H), 7.43 (dd, $J=8.1$ and 8.1, 1 H), 7.28 – 7.24 (m, 2 H), 6.95 (m, 1 H), 5.00 (br, 1 H), 3.88 (s, 3 H)	286 ($\text{M}^+ + 1$, 100%), 288 ($\text{M}^+ + 1$, 33%)
35 K7		95	($\text{CDCl}_3/\text{DMCO-d}_6$, 19:1): δ 9.16 – 9.00 (m, 2 H), 7.92 (dd, $J=4.9$ and 8.6, 1 H), 7.88 (d, $J=6.3$, 1 H), 7.22 – 7.66 (m, 2 H), 7.07 – 7.05 (m, 2 H), 5.70 (br, 1 H), 3.85 (s, 3 H)	286 ($\text{M}^+ + 1$, 100%), 288 ($\text{M}^+ + 1$, 33%)
40 K8		95	($\text{CDCl}_3/\text{DMCO-d}_6$, 19:1): δ 9.19 – 9.13 (m, 2 H), 8.05 – 7.93 (m, 2 H), 7.54 – 7.48 (m, 2 H), 7.40 (dd, $J=7.3$ and 7.3, 1 H), 7.27 (d, $J=7.3$, 1 H), 6.65 (br, 1 H), 2.45 (s, 3 H)	

5	K9		97	(CDCl ₃ /DMSO-d ₆ , 19:1): δ 9.04 (m, 1 H), 8.81 (d, J=8.5, 1 H), 7.97 – 7.88 (m, 4 H), 7.82 (m, 1 H), 7.75 (s, 1 H), 4.20 (br, 1 H), 3.26 (s, 6 H)	
10	K10		68	(CDCl ₃ /DMSO-d ₆ , 19:1): δ 9.24 (s, 1 H), 8.74 (d, J=8.3, 1 H), 8.52 (d, J=8.0, 1 H), 8.36 (s, 1 H), 8.24 (d, J=8.0, 1 H), 7.97 (dd, J=7.3 and 7.3, 1 H), 7.82 – 7.70 (m, 3 H), 4.20 (br, 1 H)	
15	K11		23	(DMSO-d ₆)(400MHz): δ 9.47 (d, J=6.0, 1 H), 9.09 (d, J=8.0, 1 H), 8.51 (s, 1 H), 8.40 (s, 1 H), 8.25 (m, 1 H), 8.10 (m, 1 H), 8.00 (m, 1 H), 7.48 – 7.44 (m, 2 H)	
20	K12		93	(CDCl ₃ /DMSO-d ₆ , 19:1): δ 9.04 (m, 1 H), 7.82 (m, 1 H), 7.81 (m, 1 H), 7.74 (s, 1 H), 7.38 – 7.30 (m, 2 H), 6.88 (m, 1 H), 4.60 (br, 1 H)	
25	K13		43	(CDCl ₃ /DMSO-d ₆ , 19:1): δ 9.05 (m, 1 H), 8.81 (d, J=8.6, 1 H), 7.81 (m, 1 H), 7.67 (s, 1 H), 7.57 (m, 1 H), 7.07 – 6.95 (m, 2 H), 3.25 (br, 1 H)	
30	K14		91	(CDCl ₃ /DMSO-d ₆ , 19:1): δ 9.00 (m, 1 H), 8.53 (m, 1 H), 8.16 (m, 1 H), 8.06 (s, 1 H), 7.82 (m, 1 H), 7.75 (dd, J=4.2 and 8.5, 1 H), 7.66 (dd, J=2.9 and 5.9, 1 H)	
35	K15		97	(CDCl ₃ /DMSO-d ₆ , 19:1): δ 9.13 (m, 1 H), 9.03 (m, 1 H), 7.93 (m, 1H), 7.87 (m, 1 H), 7.52 – 7.43 (m, 3 H), 7.14 (m, 1H), 5.35 br, 1 H)	
40	K16		69	(CDCl ₃ /DMSO-d ₆ , 19:1): δ 9.14 (d, J=4.9, 1 H), 9.05 (d, J=8.6, 1 H), 7.94 (dd, J=5.2 and 8.6, 1 H), 7.86 (s, 1 H), 7.75 – 7.69 (m, 2 H), 7.24 – 6.75 (m, 2 H), 5.20 (br, 1 H)	509 (M ⁺ + 1, 100%), 511 (M ⁺ + 1, 33%)
45	K17		41	(CDCl ₃ /DMSO-d ₆ , 19:1): δ 9.06 (m, 1 H), 8.78 (m, 1 H), 8.64 (m, 1 H), 8.26 (m, 1 H), 8.14 (d, J=8.0, 1 H), 7.83 (dd, J=4.6 and 8.8, 1 H), 7.80 (s, 1 H), 7.72 (dd, J=8.0 and 8.0, 1 H), 4.60 (br, 1 H)	

5	L1		88	(CDCl ₃): δ 9.00 – 8.88 (m, 2 H), 8.02 (s, 1 H), 7.83 (m, 1 H), 7.60 – 7.38 (m, 5 H), 3.80 (br, 1 H)	300 (M ⁺ + 1, 100%), 302 (M ⁺ + 1, 100%)
10	L2		68	(CDCl ₃ /DMCO-d ₆ , 19:1): δ 9.18 (m, 1 H), 8.74 (m, 1 H), 7.92 – 7.84 (m, 2 H), 7.04 – 6.95 (m, 3 H), 5.00 (br, 1 H)	336 (M ⁺ + 1, 100%), 338 (M ⁺ + 1, 33%)
15	M1		91	(CDCl ₃ /DMCO-d ₆ , 19:1): δ 9.15 (m, 1 H), 8.92 (d, J=8.3, 1 H), 7.89 (m, 1 H), 7.81 (m, 1 H), 7.78 – 7.72 (m, 2 H), 7.60 – 7.41 (m, 8 H), 4.60 (br, 1 H)	298 (M ⁺ + 1)
20	M2		70	(CDCl ₃ /DMCO-d ₆ , 19:1): δ 9.10 (m, 1 H), 9.52 (d, J=8.3, 1 H), 7.81 (m, 1 H), 7.59 (s, 1 H), 7.45 – 7.23 (m, 8 H), 3.50 (br, 1 H), 2.25 (s, 3 H), 2.03 (s, 3 H)	
25	M3		29	(CDCl ₃ /DMCO-d ₆ , 19:1): δ 9.25 (m, 1 H), 8.59 (d, J=8.3, 1 H), 7.88 – 7.81 (m, 2 H), 7.56 – 7.32 (m, 5 H), 7.18 – 7.03 (m, 3 H), 3.90 (br, 1 H), 3.73 (s, 6 H)	
30	M4		4		432 (M-H) ⁻
35	M5		39	(CDCl ₃ /DMCO-d ₆ , 19:1): δ 9.13 (m, 1 H), 8.60 (m, 1 H), 7.82 (m, 1 H), 7.76 (s, 1 H), 7.64 – 7.18 (m, 8 H), 3.30 (br, 1 H)	
40					
45					
50					

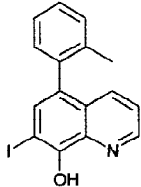
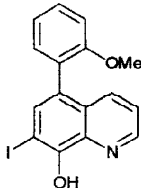
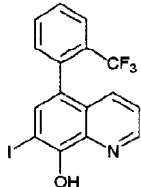
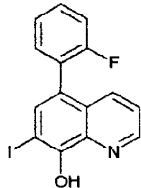
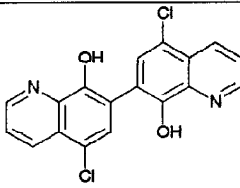
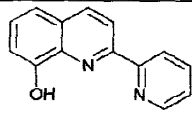
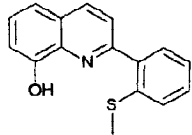
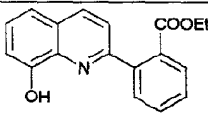
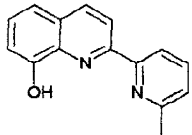
N2		16	(CDCl ₃ /DMSO-d ₆ , 19:1): δ 9.07 (d, J=4.4, 1 H), 8.42 (d, J=8.3, 1 H), 8.08 (s, 1 H), 7.81 (dd, J=3.2 and 8.3, 1 H), 7.47 – 7.30 (m, 3 H), 7.20 (d, J=7.4, 1 H), 5.80 (br, 1 H), 2.01 (s, 3 H)	
N3		46	(CDCl ₃ /DMSO-d ₆ , 19:1): δ 9.06 (d, J=3.9, 1 H), 8.53 (d, J=8.5, 1 H), 8.08 (s, 1 H), 7.83 (dd, J=5.2 and 8.6, 1 H), 7.51 (m, 1 H), 7.27 (m, 1 H), 7.15 (d, J=8.3, 1 H), 7.07 (d, J=8.3, 1 H), 4.50 (br, 1 H), 3.70 (s, 3 H)	378 (M ⁺ + 1)
N4		79	(CDCl ₃ /DMSO-d ₆ , 19:1): δ 9.08 (m, 1 H), 8.26 (m, 1 H), 8.07 (s, 1 H), 7.89 (m, 1 H), 7.80 (dd, J=5.1 and 8.5, 1 H), 7.75 – 7.65 (m, 2 H), 7.36 (m, 1 H), 5.75 (br, 1 H)	416 (M ⁺ + 1)
N5		59	(CDCl ₃ /DMSO-d ₆ , 19:1): δ 9.11 (m, 1 H), 8.54 (m, 1 H), 8.10 (s, 1 H), 7.88 (dd, J=5.1 and 8.7, 1 H), 7.54 (m, 1 H), 7.42 – 7.22 (m, 3 H), 5.30 (br, 1 H)	366 (M ⁺ + 1)
O1		22		355 [(M – H) ⁺ , 100%], 357 [(M – H) ⁺ , 66%]

Таблица 5 Данные для производных 8-
группами (получены реакцией соединения Негиси)*

гидроксихинолина с замещением двумя ароматическими

Обозначение продукта	Продукт	Выход (%)	Данные ^1H ЯМР	Данные масс-спектрометрии
P1		89	(CDCl_3): δ 8.98 (d, $J=3.9$, 1 H), 8.60 (d, $J=8.8$, 1 H), 8.40–8.15 (m, 3 H), 7.75 (m, 1 H), 7.60 (m, 1 H), 7.50–7.35 (m, 3 H)	223 ($\text{M}^+ + 1$)
P2		80	($\text{CDCl}_3/\text{DMCO-d}_6$, 19:1): δ 8.68 (d, $J=8.3$, 1 H), 7.93 (d, $J=8.3$, 1 H), 7.76–7.54 (m, 5 H), 7.50 (d, $J=7.5$, 1 H), 7.41 (dd, $J=7.3$ and 7.3, 1 H), 2.50 (br, 1 H), 2.49 (s, 3 H)	268 ($\text{M}^+ + 1$)
P3		33	(CDCl_3): δ 8.66 (d, $J=8.8$, 1 H), 8.22 (d, $J=7.1$, 1 H), 7.80–7.38 (m, 7 H), 4.20 (q, $J=7.0$, 2 H), 1.70 (br, 1 H), 1.18 (t, $J=7.0$, 3 H)	294 ($\text{M}^+ + 1$)
P4		95	($\text{CDCl}_3/\text{DMCO-d}_6$, 19:1): δ 8.64 (d, $J=8.5$, 1 H), 8.42 (d, $J=7.6$, 1 H), 8.28 (d, $J=8.5$, 1 H), 8.10 (m, 1 H), 7.78 (m, 1 H), 7.48–7.16 (m, 3 H), 2.68 (s, 3 H), 2.59 (br, 1 H)	279 ($\text{M}^+ + 1$)

Пример 20 – Оценка соединений формулы I или II

При оценке соединений формулы I или II на пригодность для применения в способах, соответствующих изобретению, были проведены следующие испытания.

Испытание 1. Флюорометрическое испытание с использованием стандартов H_2O_2

Флюорометрическое испытание проводилось с целью проверки способности испытуемого соединения ингибировать выработку белками А β перекиси водорода в присутствии меди на основе дихлорфлуоресциндацетата (ДХФ; Molecular Probes, Eugene OR). Раствор ДХФ (5мМ) в 100% диметилсульфоксиде (предварительно очищенном продувкой аргона в течение 2 часов при 20°C) деацетилировали в присутствии 0.25-молярного раствора NaOH в течение 30 мин. и нейтрализовали при pH 7.4 до конечной концентрации 1мМ. Основной раствор пероксидазы хрена (HRP) приготавливали с концентрацией 1мкМ и pH 7.4. Реакции проводили в фосфатно-буферном солевом

растворе (PBS) при pH 7,4 в пластинке с 96 ячейками (общий объем = 250 мкл/ячейка). Реакционные растворы содержали Аβ 1-42 с концентрациями в диапазоне от 50 нМ до 1 мкМ, глициновый хелат меди (Cu-Gly) (приготавливали добавлением CuCl₂ к глицину в соотношении 1:6 и добавляли к Аβ в пропорции 2Cu-Gly : 1Аβ), восстанавливающие агенты, включая допамин (5 мкМ) или аскорбиновую кислоту, деацетилированный ДХФ с концентрацией 100 мкМ и пероксидазу хрена (HRP) с концентрацией 0,1 мкМ. Возможно также присутствие раствора этилендиаминотетрауксусной кислоты с концентрацией 1-10 мкМ или другого хелатообразующего агента как индикатора свободной меди, но это не потребовалось в данном испытании. Реакционную смесь инкубировали при 37°C в течение 60 мин. В качестве подтверждающих индикаторов можно использовать стандарты каталазы (4000 ед./мл) и H₂O₂ (1-2,5 мкМ) в PBS при pH 7,4. Флуоресценция регистрировалась с помощью считывающего устройства с фильтрами возбуждения и излучения на 485 нМ и 530 нМ, соответственно. Концентрацию H₂O₂ можно установить путем сравнения флуоресценции с H₂O₂-стандартами. Ингибирование выработки H₂O₂ белками Аβ проверялось путем помещения данной концентрации испытуемого соединения (соединений) в ячейки испытательной пластинки.

Испытание 2. Испытание на нейротоксичность

Первичные нейронные культуры коры головного мозга

Кортикальные культуры приготавливались, как описывалось ранее (White *et al.*, 1998). Брали кору мозга 14-дневных эмбрионов мышей 14 BL6Jx129sv, отсекали мозговые оболочки и диссоциировали в 0,025% (вес/объем) трипсине. Диссоциированные клетки помещали на пластины для культивирования с 48 ячейками при плотности 2×10^6 клеток/мл в среде MEM с 25% (по объему) сыворотки эмбрионального теленка (FCS) и 5% (по объему) HS и инкубировали при 37°C 2 часа. Затем среду заменяли средой Neurobasal (Invitrogen Life Technologies) с добавками B27 (Invitrogen Life Technologies). Культуры выдерживали при 37°C в 5% CO₂. Перед экспериментом среду культивирования заменяли средой Neurobasal и B27 минус антиоксиданты (Invitrogen Life Technologies).

Первичные нейронные культуры мозжечковых гранул

У 5-6-дневных постнатальных мышей (P5-6) брали мозжечки, отсекали мозговые оболочки и диссоциировали в 0,025% трипсине. Нейроны мозжечковых гранул (CGN) помещали на пластинки для культивирования с 24 ячейками при плотности 350 000

клеток/см² в BME (Invitrogen Life Technologies) с добавлением 10% сыворотки эмбрионального телят (FCS), 2 mM глутамина и 25 mM KCl. Ко всем средам добавили сульфат гентамицина (100 мкг/мл), и культуры выдерживали при 37°C в 5% CO₂.

Испытание 3. Испытания на жизнеспособность клеток

(a) Испытание MTS на жизнеспособность клеток

Жизнеспособность клеток определялась с помощью испытания MTS. Среду культивирования заменили свежей нейробазальной средой плюс добавки B27 минус антиоксиданты. Раствор MTS с концентрацией 1/10 по объему (Клеточный титр 96, водный, Promega Corporation) инкубировали при 37°C 2 часа. Аликвоты по 200 микролитров измеряли спектрофотометром на длине волны 560 нм.

(b) Испытание на жизнеспособность клеток с помощью лактатдегидрогеназы

Гибель клеток определялась по плавающим на поверхности клеткам без сыворотки и клеточных обломков с помощью набора для обнаружения цитотоксичности на основе лактатдегидрогеназы (LDH) (фирма Boehringer Ingelheim) в соответствии с инструкциями изготовителя.

(c) Испытание на нейротоксичность A β и нейропротективное действие A β

Нейронные клетки коры головного мозга культивировались в течение 5 дней так же, как в испытании 2. На шестой день основную нейронную питательную среду (NB) (Invitrogen Life Technologies) с добавкой B27 (Invitrogen Life Technologies) заменили NB-средой и добавкой B27 без антиоксидантов. На шестой день к культурам нейронных клеток добавили по отдельности испытуемые соединения.

Испытуемые соединения растворяли в 100% ДМСО до концентрации 2,5 mM (10mM, если во флакон отвешивали избыток соединения, а затем разбавляли до 2,5mM). Основной раствор с концентрацией 2,5mM последовательно разбавляли в пропорции 1 к 10, чтобы получить рабочие растворы с концентрацией 250мкM, 25мкM, 2,5мкM.

Приготовление A β :

Аβ сначала растворяли в 20мМ NaOH до концентрации 1мМ и прозвучивали ультразвуком в течение 5 минут. Затем пептид разбавляли H₂O и 10 X фосфатным буферным солевым раствором (PBS) до конечной концентрации 200мкМ Аβ в 1X PBS. После этого пептид снова прозвучивали в течение 5 минут, затем центрифугировали при скорости 14000 об/мин в течение 5 мин и переливали в чистую пробирку.

Испытуемые соединения растворяли в 100% ДМСО до концентрации 2,5 ммМ (10мМ, если во флакон отweighивали избыток соединения, а затем разбавляли до 2,5ммМ). Основной раствор с концентрацией 2,5ммМ последовательно разбавляли 1 к 10 [в среде NB и B27 (без антиоксидантов)], получая рабочие растворы с концентрацией 250мкМ, 25мкМ, 2,5мкМ. Испытуемые соединения не добавляли непосредственно к клеткам, а вносили на "Лекарственную пластинку" с 48 ячейками, содержащую следующее:

Приготовление "Лекарственной пластинки":

На пластинку с 48 ячейками поместить:

Ячейка 1: 515 мкл NB+B27(без антиоксиданта)* + 24 мкл 25мкМ испытуемого соединения + 60мкл разбавителя Аβ **

Ячейка 2 : 515 мкл NB+B27(без антиоксиданта) + 24 мкл 250мкМ испытуемого соединения + 60мкл разбавителя Аβ

Ячейка 3 : 515 мкл NB+B27(без антиоксиданта) + 24 мкл разбавителя испытуемого соединения *** + 60мкл Аβ1-42

Ячейка 4 : 515 мкл NB+B27(без антиоксиданта) + 24 мкл 2,5мкМ испытуемого соединения + 60мкл Аβ1-42

Ячейка 5 : 515 мкл NB+B27(без антиоксиданта) + 24 мкл 25мкМ испытуемого соединения + 60мкл Аβ1-42

Ячейка 6 : 515 мкл NB+B27(без антиоксиданта) + 24 мкл 250 мкМ испытуемого соединения + 60мкл разбавителя Аβ1-42

Ячейка 7 : 515 мкл NB+B27(без антиоксиданта) + 24 мкл разбавителя испытуемого соединения + 60мкл разбавителя Аβ1-42

Ячейка 8 : 600 мкл NB+B27(без антиоксиданта)

Примечание. 60мкл Аβ1-42 равно 20мкл Аβ1-42 на ячейку равно 20 мкМ Аβ1-42

Лекарственную пластинку инкубировали при 37° С в течение 15 мин. По 200 мкл из каждой ячейки добавляли три раза в соответствующую пластинку с клетками. Пластинку с клетками инкубировали при 37 С в течение 4 дней.

* NB-среды + B27 (без антиоксидантов) ,

** разбавитель Аβ 2мМ NaOH, 1 X PBS

*** разбавитель PBT 10% ДМСО в NB+B27(без антиоксиданта)

Завершение испытания:

На 4-й день после обработки клеток испытание завершали добавлением к клеткам MTS.

(d) Испытание на цитотоксичность испытуемого соединения

Нейронные клетки коры головного мозга культивировали в течение 5 дней так же, как и в испытании 2, в NB-средах с добавкой B27.

На шестой день к нейронным клеточным культурам в NB-средах с добавкой B27 минус антиоксиданты добавили испытуемые соединения.

Испытуемые соединения разбавляли в 100% ДМСО до концентрации 2,5 мМ (10мМ, если во флакон отвешивали избыток соединения, а затем разбавляли до 2,5мМ). Основной раствор в концентрации 2,5мМ последовательно разбавляли в пропорции 1 к 10, получая рабочие растворы с концентрацией 250мкМ, 25мкМ, 2,5мкМ. Испытуемые соединения не добавляли непосредственно к клеткам, а вносили на "Лекарственную пластинку" с 48 ячейками, содержащую следующее:

Приготовление "Лекарственной пластинки":

На пластинку с 48 ячейками поместить:

Ячейка 1: 576 мкл NB+B27(без антиоксиданта)* + 24 мкл 2,5мкМ испытуемого соединения

Ячейка 2 : 576 мкл NB+B27(без антиоксиданта) + 24 мкл 25мкМ испытуемого соединения

Ячейка 3 : 576 мкл NB+B27(без антиоксиданта) + 24 мкл 250мкМ испытуемого соединения

Ячейка 4 : 576 мкл NB+B27(без антиоксиданта) + 24 мкл 2,5мкМ испытуемого соединения

Ячейка 5 : 576 мкл NB+B27(без антиоксиданта) + 24 мкл 25мкМ испытуемого соединения

Ячейка 6 : 576 мкл NB+B27(без антиоксиданта) + 24 мкл 250мкМ
испытуемого соединения

Ячейка 7 : 576 мкл NB+B27(без антиоксиданта) + 24 мкл разбавителя испытуемого
соединения **

Ячейка 8 : 600 мкл NB+B27(без антиоксиданта)

Лекарственную пластинку инкубировали при 37° С в течение 15 мин. По
200 мкл из каждой ячейки добавляли три раза в соответствующую пластинку с клетками.
Пластинку с клетками инкубировали при 37 С в течение 4 дней.

* NB-среды и B27 (без антиоксидантов),

** разбавитель PBT 10% ДМСО в NB+B27 (без антиоксидантов)

По завершении испытания в каждую ячейку пластинки добавляли 1/10 по
объему MTS (т.е. 25мкл/ 250 мкл). Пластинки инкубировали при 37С в течение 2 часов,
затем измеряли спектральную поглощательную способность на длине волны 560нм.

Испытание 4. Испытание на каспазу

Для измерения активности каспазы в нейронных культурах среду
выращивания удаляли, клетки дважды промывали контрольным солевым раствором (рН
7,4) и непосредственно к культурам добавляли холодный (со льда) буфер экстракции
клеток. Буфер экстракции состоит из 20 мМ Tris (рН 7,4), 1 мМ сахарозы, 0,25 мМ
этилендиаминтетрауксусной кислоты, 1 мМ дитиотрептола (DTT), 0,5 мМ PMSF, 1%
Triton X-100 (Тх-100) и 1 мкг/мл пепстатина и апротинина. После инкубирования в
течение 15 мин. на льду буфер экстракции удаляли, центрифугировали в течение 5 мин.
при 4°С в микроцентрифуге, и в каждую ячейку пластинки с 96 ячейками помещали 100
мкл надосадочной жидкости. 100 мкл субстрата с концентрацией 200 мкМ (DEVD-pNA,
VEID-pNA или IETD-pNA для каспаз 3, 6 и 8, соответственно) добавляли в каждую
ячейку, получая конечную концентрацию субстрата 100 мкМ. Пластинки инкубировали
при 37°С в течение 2, 4, 6 или 24 час., затем измеряли спектральную поглощательную
способность на длине волны 415 нм (Abs415). Результат измерения сравнивали с
известным стандартом, состоящим только из pNA.

Испытание 5. Испытание на аннексин V

Чтобы определить уровень присоединения аннексина V к клеткам, культуры дважды промывали контрольным солевым раствором (pH 7,4), а затем добавляли аннексин V-FITC с концентрацией приблизительно 0,5 мкг/мл в контрольном
 5 солевом растворе (pH 7,4). Одновременно к культурам добавляли также йодид пропидиума (10 мкг/мл). Клетки инкубировали в темноте в течение 15 мин. при окружающей температуре, затем три раза промывали свежим контрольным солевым
 10 раствором. Анализ флуоресценции FITC (вых. 488 нм, изл. 510 нм) проводили с помощью микроскопа Leica DMIRB. Фотографии снимали фотоприставкой Leica MPS 60 на цветную пленку ASA400, негативы сканировали в программу Adobe Photoshop 2.0.1.

15 Испытание 6. Испытание на окисление липопротеинов

Можно использовать два различных метода пероксидирования липидов при
 20 посредстве металлов. Первый включает измерение окислительной активности металлизированных белков. Для этого диализированный металлизированный или нативный белок (в определенных концентрациях) смешивают с LDL в пропорции 0,5 мг/мл в течение 24 часов (37°C). Пероксидирование липидов (LPO) измеряли с помощью
 25 комплекта для тестов на пероксидирование липидов (LPO 486, Oxis International Inc. Портленд, Орегон) согласно приложенной к комплекту инструкции. Уровень LPO определяют путем сравнения с поглотительной способностью (486 нм) чистого LDL (100% LPO). Второй метод используется для измерения LPO-активности нативных
 30 белков в присутствии свободной, не связанной в белках Cu. Для этого добавляют неметаллизированные пептиды (140 мкМ) к LDL с концентрацией 0,5 мг/мл вместе с 20 мкМ раствором глицинового хелата меди (Cu-gly) и проводят испытание на LPO так же,
 35 как и для металлизированных пептидов. Уровень LPO определяют сравнением поглотительной способности (486 нм) с LDL + Cu-gly (100% LPO). В качестве отрицательного контроля на LDL воздействуют также диализированными растворами Cu-gly, сравнимыми с теми, которые использовались для металлизирования белков медью.

40 Испытание 7. Цитотоксичность, индуцированная Cu-металлизированными белками

Белки или синтетические пептиды смешивают с металло-глициновыми
 45 растворами с эквимольной концентрацией или с двойной концентрацией металла относительно белка. Смеси металла с белком инкубируют в течение ночи при 37°C, а затем проводят обширный диализ (24 часа при двух сменах dH₂O (3 л/смена) при

комнатной температуре) с использованием мини-диализных чашек с отсечкой на 3500 килодальтонов (Pierce, Rockford, IL). В результате диализа белков против PBS с pH 7.4 были получены металлизированные белки с активностью, идентичной диализу dH₂O.

Для определения их нейротоксичного действия металлизированные белки, нативные белки или пептиды добавляют к двухдневным первичным культурам нейронов коры головного мозга. Эти культуры также подвергают воздействию глицинового хелата меди Cu-gly (5 или 10 мкМ) или LDL. Положительные контрольные культуры обрабатывают Cu-gly + LDL или продуктом пероксидирования липидов, 4-гидроксинонэнолом (HNE, Sigma Chemicals). Культуры тестируют на гибель клеток с помощью комплекта для анализов, содержащего лактатдегидрогеназу (LDH) (Roche Molecular Biochemicals, Нунавадинг, Австралия), в соответствии с инструкциями изготовителя.

Испытание 8. Испытание оранжевым акридиновым красителем на потерю лизосомального окисления при посредстве Aβ

Культивированные нейроны коры головного мозга мыши обрабатывают Aβ1-42 (20мкМ) в течение 16 часов, а затем окрашивают акридиновым оранжевым (АО) в концентрации 5 мг/мл в течение 5 мин. при 37°C. 15 мин. при 37°C. Вызванную АО флуоресценцию измеряют с помощью флуоресцентного микроскопа с красным фильтром. АО представляет собой слабое липосомотропное основание, которое аккумулируется в эндосомальных/лизосомальных отделах и при инкубировании дает оранжевую флуоресценцию. АО задерживается внутри липосом, пока на липосомальных мембранах есть существенный протонный градиент. Обработка клеток Aβ1-42 разрушает протонный градиент липосомальных мембран и перемещает АО в цитозол, на что указывает исчезновение оранжевой флуоресценции через 16–24 часа.

Испытание 9. Испытание на придание растворимости амилоидам мозга человека

Это испытание проводилось для оценки способности испытуемого соединения мобилизовать Aβ из нерастворимой фазы в растворимую; для испытания использовалась ткань, взятая *post mortem* из мозга человека, страдавшего болезнью Альцгеймера.

До 0,5 г содержащей бляшки ткани коры головного мозга без мозговых оболочек гомогенизировали в гомогенизаторе DIAХ 900 (Heudolph and Co, Келхайм,

Германия) или другом пригодном для этого устройстве в течение трех периодов по 30 секунд на полной скорости в 2 мл холодного (со льда) фосфатного буферного солевого раствора, pH 7,4. Чтобы получить экстрагируемую фракцию фосфатного буферного солевого раствора, гомогенат центрифугировали при 100000 x g в течение 30 минут, после чего надосадочный слой удаляли. В альтернативном варианте ткань сушили вымораживанием, а затем распыляли с образованием порошка, который развешивали на аликвоты для экстрагирования аналогично указанному выше. Надосадочный слой, либо высушенный вымораживанием и снова суспендированный, либо в некоцентрированной форме, растворяли в 200 мкл эталонного буфера Tris-Tricine натрийдодецилсульфат (SDS), pH 8.3, содержащего 8% SDS, 10% 2-меркаптоэтанола. Затем аликвоты (10 мкл) кипятили 10 минут перед электрофорезом полиакриламидного геля SDS. Нерастворимую фракцию образцов коры головного мозга получали повторным суспендированием исходного гранулированного образца в 1 мл фосфатного буферного солевого раствора. 50-мкл аликвоту этой суспензии затем кипятили в 200 мкл эталонного буфера, описанного выше.

Для электрофореза полиакриламидного геля Tris-Tricine соответствующим образом разбавленные образцы добавляли в 10% - 20% градиентные гели (Novex, Сан-Диего, Калифорния), после чего переносили на нитроцеллюлозную мембрану толщиной 0,2 мкм (Bio-Rad, Херкьюлиз, Калифорния). Аβ выявляли с помощью моноклонального антитела W02, которое обнаруживает остатки с 5 по 8, 17 (или другого подходящего антитела) в соединении со связанным пероксидазой хрена IgG кроличьей антимыши (Dako, Дания), и визуализировали с использованием усиленной хемилюминесценции (например, ECL; Amersham Life Science, Букингемшир, Великобритания). Каждый гель включал три образца, содержащих 0,5, 1, и 2 нг синтетического Аβ₄₀ (Keck Laboratory, Йельский университет, Нью-Хейвен, Коннектикут) в качестве эталонных стандартов.

Пленки с пятнами сканировали с помощью соответствующей системы формирования изображения, такой как система документирования гелей UVP, затем производили денситометрию с использованием соответствующей компьютерной программы, например, UVP Labworks. Динамический диапазон пленки/сканера определяли с помощью ступенчатой шкалы (№ 911ST600, Kodak, Рочестер, Нью-Йорк), то есть калиброванной пленки, которая экспонирована изготовителем таким образом, что интенсивность увеличивается степенями известной величины. Количественный диапазон интенсивности сигнала для денситометрического анализа моно- и димерных полос Аβ основывался на сравнении с кривой, полученной путем сканирования и денситометрии по

ступенчатой шкале. Образцы, у которых интенсивность сигнала после первого испытания оказывается низкой, можно проанализировать снова с использованием синтетических стандартов более низкой или более высокой концентрации.

5 Все образцы анализировались по крайней мере дважды, при этом количество геля и разбавление регулировались таким образом, чтобы они попадали в поддающуюся количественной оценке область стандартной кривой. Отношение
10 'растворимого' Аβ к 'нерастворимому' можно использовать для определения экстрагирующей эффективности испытуемого соединения по сравнению с известным соединением, таким как клиохинол (РВТ 1). Нерастворимые Аβ состоят из
15 гранулированной фракции, полученной из нерастворимых амилоидных бляшек, находившихся в образцах коры мозга, а растворимая фракция содержит мономерные и/или олигомерные растворимые Аβ.

20 Испытание 10. Отделение металлов

Для проверки эффекта отделения металлов, в том числе цинка и меди, после экстрагирования мозговой ткани в присутствии испытуемого соединения, растворимые и
25 нерастворимые фракции экстракта мозговой ткани человека приготавливаются так же, как и для испытания на придание растворимости амилоидам. Металлы в обеих фракциях анализируют методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой после соответствующей предварительной обработки азотной кислотой и/или перекисью
30 водорода, если это необходимо.

35 Испытание 11. Воздействие введения испытуемых соединений на отложения Аβ у трансгенных животных

Трансгенные модели мышей имеются для ряда неврологических расстройств, включая Болезнь Альцгеймера (Games et al., 1995; Hsiao et al., 1996); Болезнь Паркинсона (Masliah et al., 2000); семейный боковой амиотрофический склероз (ALS)
40 (Gurney et al., 1994); болезнь Гентингтона (Reddy et al., 1998); и болезнь Крейтцфельда-Якоба (CJD) (Telling et al., 1994). Мы установили, что у одной из трансгенных моделей для болезни Альцгеймера, трансгенной мыши APP2576 (Hsiao et al., 1996), также часто
45 встречается катаракта. Эти модели животных пригодны для испытания методов, соответствующих изобретению.

Использовались трансгенные мыши штамма APP2576 (Hsiao et al 1996). Для

лечения были выбраны и разделены на группы самки в возрасте от восьми до девяти месяцев.

Мышей умерщвляли через определенные интервалы, и их мозг исследовали, чтобы определить, уменьшило ли лечение испытуемыми соединениями формирование амилоидов в мозге, а также, чтобы выработать наиболее эффективный протокол введения. Уровни растворимых и нерастворимых А β в мозге и сыворотке определялись с помощью калиброванных пятен Western по методике, описанной для испытания 9, Испытание на придание растворимости амилоидам в мозге.

Других мышей в каждой группе испытывали в течение восьми месяцев на интеллектуальную функцию посредством водяного лабиринта Морриса по стандартной методике. Кроме того, ежедневно оператор слепым методом оценивал общий уровень здоровья и самочувствия, животных по пятибалльной шкале с учетом комбинации характеристик, таких как моторная активность, резвость и общие признаки состояния здоровья.

Испытание 12. Испытание на растворимость

Приготавливались основные растворы соединений формулы I или II (1мМ) в диметилсульфоксиде. Соединения, которые не растворялись, классифицировались как нерастворимые (Н). Основные растворы в ДМСО добавляли в пропорции 1 к 100 к PBS с рН 7,4. Соединения, которые давали прозрачный раствор, классифицировались как растворимые (Р), а те соединения, которые давали полупрозрачную суспензию после растворения в ДМСО, классифицировались как диспергируемые (Д).

Испытание 13. Физиолого-химические свойства

Расчеты площади полярной поверхности (PSA)

Значения площади полярной поверхности рассчитывались с помощью имеющейся в интернете программы, которую можно получить через "Molinspiration", пакет программ для расчета молекулярных свойств.

Измерения турбидиметрической растворимости

Растворимость измерялась при рН 2,0 и рН 6,5. Эти величины находятся в пределах диапазона рН, который можно ожидать в проксимальной части желудочно-кишечного тракта у людей.

Соединения растворяли в ДМСО до соответствующих концентраций и затем добавляли либо в 0,01М раствор HCl (приблиз. pH = 2,0), либо в изотонический фосфатный буфер с pH 6,5, так что конечная концентрация ДМСО была 1%. Затем образцы анализировали методом нефелометрии с целью определения диапазона растворимости. [по D. Bevan and R. S. Lloyd, Anal. Chem. 2000, 72, 1781-1787].

Значения *cLog P*

Теоретические значения Log P определялись с помощью программы ACD Log P. Приводимые значения рассчитывались на основании неотрегулированной базы данных и относятся к неионизированным веществам.

E Log D

Действующие значения Log D измерялись хроматографическим методом на колонке SUPELCOSIL LC-ABZ с использованием октанол-насыщенной подвижной фазы при pH 7,4.

См. F. Lombardo *et al*, J. Med. Chem. 2000, 43, 2922-2928.

Испытание 14. Проникновение сквозь гематоэнцефалический барьер

Испытуемые соединения растворяли в ДМСО и добавляли фосфатный буферный солевой раствор (PBS), чтобы получить растворы с концентрацией 50 мкМ в PBS, содержащие 1,25-2,5% ДМСО. К каждому основному раствору для вливаний добавляли следовое количество ¹⁴C-сахарозы (приблиз. 0.01 микрокюри/мл), которая действовала как маркер непроницаемости гематоэнцефалического барьера для оценки его целостности при каждой перфузии, а также для оценки остаточного сосудистого пространства (RVS) в образцах ткани мозга (т.е. объема жидкости, остающегося в просвете кровеносных сосудов в конце каждой перфузии).

Взрослых самцов крыс Sprague Dawley (180-190г) анестезировали интраперитональными инъекциями уретана (25% вес/объем), доза 1,0 мл/100г веса тела. Правую общую сонную артерию обнажали хирургическим способом и канюлировали для перфузии в церебральную циркуляцию. Затем правую внешнюю сонную артерию (которая снабжает ткани снаружи черепа) перевязывали дистально относительно ее ответвления от правой общей сонной артерии, так, чтобы весь вливаемый раствор проходил в мозг через остающуюся правую внутреннюю сонную артерию. Затем

обнажали сердце и делали поперечный разрез перед началом вливания. Скорость вливания регулировали с помощью насоса, установленного на подачу 3,2 мл/мин (приблиз. 85% нормальной подачи крови в мозг для крыс этого размера). Инфузионная канюля первоначально содержала 0,5 мл промывочного гепаринизированного фосфатного буферного солевого раствора (10 международных единиц/мл), который промывает кровеносные сосуды и предупреждает свертывание крови и закупорку мелких сосудов.

Через 1,5 минуты вливающий насос автоматически останавливался, канюлю вынимали из сонной артерии, и из кончика канюли брали образец инфузионного раствора (1-1,5 мл). Затем отделяли мозг и делили его на 3 части: правое полушарие с правым средним мозгом, левое полушарие с левым средним мозгом и задний мозг (мозжечок, варолиев мост и ствол мозга). Для последующих измерений использовалась только правая часть мозга, так как перфузия через правую внутреннюю сонную артерию в основном попадает в правое полушарие и правый средний мозг (левое полушарие и задний мозг получают переменную обходную перфузию). Образцы мозговой ткани от каждого животного замораживали при -30°C , гомогенизировали, и отвешенные аликвоты анализировали методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии, чтобы получить общую концентрацию в мозге. Анализ проводили на приборе Micromass Triple Quad. Подвижная фаза состояла из ацетонитрила/водного градиента (содержащего 0,05% муравьиной кислоты); использовалась колонка Phenomenex Luna CN.

Небольшие аликвоты от каждого образца мозговой ткани и соответствующего инфузионного раствора анализировали с помощью жидкостного сцинтилляционного счетчика, чтобы определить уровень ^{14}C -сахарозы. Остаточное сосудистое пространство (RVS) в каждом образце мозговой ткани вычисляли путем деления измеренной концентрации сахарозы в мозговой ткани (распадов в минуту/мг) на ее концентрацию в соответствующем инфузионном растворе (распадов в минуту/мл). Это объем жидкости, которая остается в кровеносных сосудах в конце каждой перфузии. Умножив эту величину RVS на концентрацию испытуемого соединения в инфузионном растворе, получают общее остаточное количество испытуемого соединения, которое присутствует внутри кровеносных сосудов в каждом образце мозговой ткани (т.е. которое не пересекло гематоэнцефалический барьер). Вычитая эту величину из общей концентрации в мозге, получают количество лекарства в каждом образце мозговой ткани, которая находится снаружи кровеносных сосудов (т.е. которое пересекло

гематоэнцефалический барьер). Делением этой скорректированной на RVS концентрации в мозге, получаем коэффициент усвоения мозгом (Уравнение. 1).

5 Уравнение 1.

$$10 \text{ Коэффициент усвоения мозгом} = \frac{[\text{мозг нг.мг}^{-1}] - [\text{RVS нг.мкл}^{-1}]}{[\text{инфузионный раствор нг.мкл}^{-1}]}$$

15 Всего было выполнено 5-6 экспериментов с перфузиями в мозг для каждого из испытуемых соединений, и по их результатам были вычислены коэффициенты усвоения мозгом.

20 Коэффициенты, превышающие 50%, указывают на соединения, которые поступают в мозг очень быстро; коэффициенты от 10 до 50% указывают на соединения, которые проникают в мозг хорошо; коэффициенты ниже 10% (не наблюдались) показывали бы, что соединения поступают в мозг очень медленно и не пригодны для терапевтического применения; коэффициенты ниже 1% (не наблюдались) показывали бы, что соединения практически не поступают в мозг.

Испытание 15. Иммуногистохимия мозга трансгенных мышей

30 В этом испытании использовалась трансгенная мышь APP2576 (Hsiao et al., 1996), описанная в испытании 11. Контралатеральную фиксированную формалином ткань мозга мыши рассекали коронарно. Из соответствующих участков брали секции (10 мкм) и обрабатывали их муравьиной кислотой для поиска антигенов. В качестве первичного антитела использовалось моноклональное антитело 1E8, которое распознает антигенные детерминанты между остатками A β 18 и 22 (SmithKline Beecham, Великобритания). Иммунореактивность развивалась с помощью второго антитела, соединенного с пероксидазой хрена (посредством 3,39-диаминобензидинового хроматогена) (Dako) и щелочной фосфатазой (посредством 5-бром-4-хлор 3-индоксилфосфата и нитросинего тетразолхлоридного хроматогена) (Dako). Содержание бляшек в каждой секции оценивалось вслепую двумя операторами по следующей шкале:

0 = бляшек не обнаружено

1 = бляшки присутствуют, но они очень редки

50

- 2 = присутствует несколько бляшек
 3 = многочисленные бляшки видны на ограниченных участках
 4 = бляшки обильны и не ограничиваются каким-либо определенным

участком.

При необходимости присваивались промежуточные оценки, например, 2,5.

Для сравнения групп использовался тест на t-распределение Стьюдента.

Испытание 16. Фармакокинетический профиль

(a) PBT-1033

- Внутривенное вливание PBT-1033; 2 мг/кг (1 мл раствора с концентрацией 0,5 мг/мл в 7,5% ДМСО с 0.1м каптизола в цитратном буфере, отрегулированном до рН 3,0) вводились в течение 5 минут двум крысам; пробы артериальной крови брались в течение 24 часов.
- Пероральное введение PBT-1033; 30 мг/кг (в виде суспензии в стандартной КМЦ-среде*) вводились через желудочный зонд двум крысам; пробы артериальной крови брались в течение 26 часов.
- Концентрации PBT-1033 в плазме определялись методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии (предел количественного анализа 3,7 нМ). У крысы 020710-D для PBT-1033 присутствовал перекрывающий пик.

* Стандартная суспендирующая среда – 0,5% вес/объем Na-карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ), 5% объем/объем бензилового спирта, 4% объем/объем Tween 80 в 0,9% NaCl.

$$CL_{total} = \frac{Dose_{IV}}{AUC_{IV}} \quad V_{d\beta} = \frac{CL_{total}}{\beta} \quad BA(\%) = \frac{AUC_{oral} * Dose_{IV}}{AUC_{IV} * Dose_{oral}}$$

Расчеты:

CL_{total} = общий клиренс плазмы после внутривенного введения

$V_{d\beta}$ = объем распределения во время фазы выведения после внутривенного введения

BA = биодоступность при пероральном введении

AUC_{IV} = площадь под концентрацией плазмы в зависимости от временного профиля от нуля времени до бесконечности после внутривенного введения

AUC_{oral} = площадь под концентрацией плазмы в зависимости от временного профиля от нуля времени до бесконечности после перорального введения

β = константа скорости окончательного выведения после внутривенного введения

Результаты представлены на фиг. 4(a).

(b) PBT-1038

- Внутривенное вливание PBT-1038; (0,5 мг/кг в 7,5% ДМСО в цитратном буфере при pH 3,0) вводились в течение 5 минут двум крысам; пробы артериальной крови брались в течение 24 часов
- Пероральное введение PBT-1038; (30 мг/кг в виде 0,05 % суспензии в КМЦ) вводились через желудочный зонд двум крысам; пробы артериальной крови брались в течение 24 часов.
- Концентрации PBT-1038 в плазме определялись масс-спектрометрией (предел количественного анализа 3 нМ)

Расчеты:

Производились так же, как описано выше для PBT-1033.

Результаты представлены на фиг. 4(b).

(c) PBT-1050

- Внутривенное вливание PBT-1050; (2 мг/кг в 7,5% ДМСО в цитратном буфере при pH 3,0) вводились в течение 5 минут двум крысам; пробы артериальной крови брались в течение 24 часов

- Пероральное введение PBT-1050; (30 мг/кг в виде 0,05 % суспензии в КМЦ) вводились через желудочный зонд двум крысам; пробы артериальной крови брались в течение 24 часов.
- Концентрации PBT-1050 в плазме определялись масс-спектрометрией (предел количественного анализа 3 нМ)

Расчеты:

Производились так же, как описано выше для PBT-1033

Результаты представлены на фиг. 4(с).

(d) PBT-1051

- Внутривенное вливание PBT-1051; 2 мг/кг (1 мл раствора с концентрацией 0,6 мг/мл в 7,5% ДМСО в цитратном буфере при pH 3,0) вводились в течение 5 минут двум крысам; пробы артериальной крови брались в течение 24 часов.
- Пероральное введение PBT-1051; 30 мг/кг (в виде суспензии в стандартной КМЦ-среде*) вводились через желудочный зонд двум крысам; пробы артериальной крови брались в течение 24 часов.
- Концентрации PBT-1051 в плазме определялись методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии (предел количественного анализа 3,7 нМ).

* Стандартная суспендирующая среда – 0,5% вес/объем Na-карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ), 5% объем/объем бензилового спирта, 4% объем/объем Tween 80 в 0,9% NaCl.

Расчеты:

Производились так же, как описано выше для PBT-1033.

Результаты представлены на фиг. 4(d).

Таблица 6. Скрининговые тесты соединений формулы I или II для лечения болезни Альцгеймера.

Табл. 6 Параметр	Испытание
Растворимость (Р,Д,Н)	Испытание 1
clogP	Испытание 13
Пероксид IC50	Испытание 1
Жизнеспособность 10мкМ	Испытание 8
Способность придавать растворимость амилоидам мозга (BAS), баллы	Испытание 9

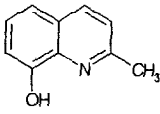
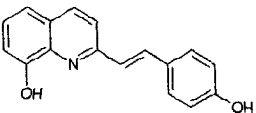
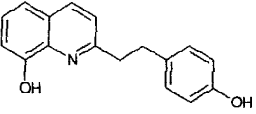
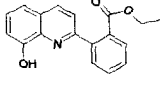
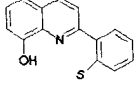
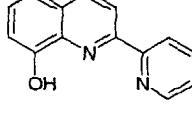
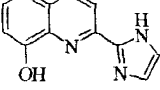
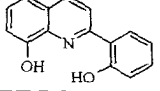
Н/И = не испытывалось.

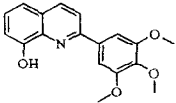
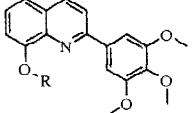
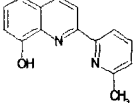
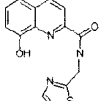
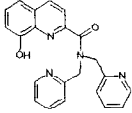
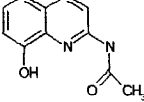
= Неэффективно для придания растворимости бляшкам по сравнению с PBS (фосфатным буферным солевым раствором).

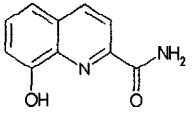
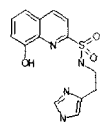
+ = эффективно для придания растворимости бляшкам при более чем 1 концентрации по сравнению PBS.

++ = чрезвычайно эффективно для придания растворимости бляшкам по сравнению с PBS. Это означает показатель, более чем вдвое превышающий показатель PBS при большинстве испытывавшихся концентраций в каждом из 2 или более экспериментов.

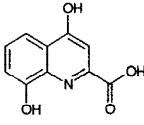
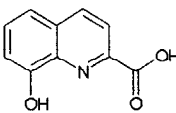
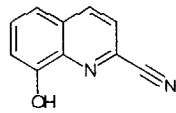
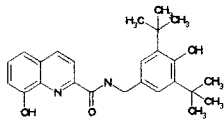
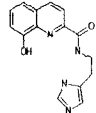
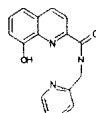
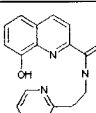
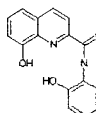
Формула
IIA

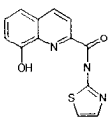
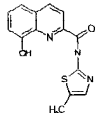
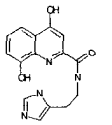
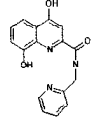
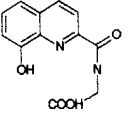
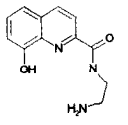
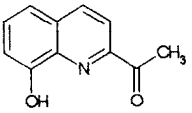
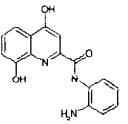
Идент. №	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
49		826-81-3	Y	2,58	100		N/A
89		189506-06-7	Y	3,7	3, 2,5		+
89						74,28	
91			Y	3,86	50, >10		N/A
1004					>10, 6.6		N/A
1005					2,4		N/A
1006					0,53		++
							
							

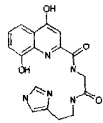
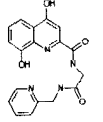
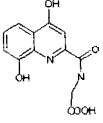
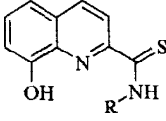
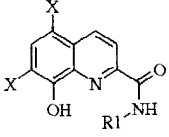
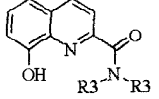
Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкм	Оценка придания раст. мозга
							
							
1007					0,58		N/A
1019					>10, >10		N/A
1020					1,3		N/A
1021					0,27		N/A

Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	сlogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкм	Оценка придания раст. мозга
1029					N/A		N/A
1035					>10		N/A

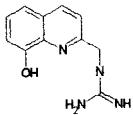
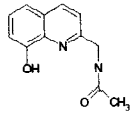
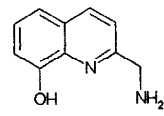
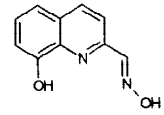
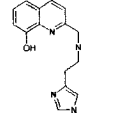
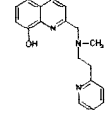
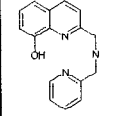
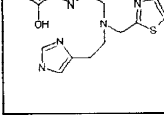
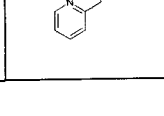
Формула Ша

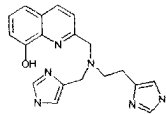
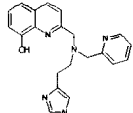
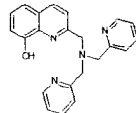
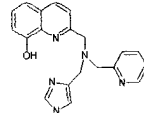
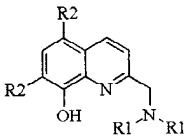
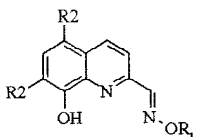
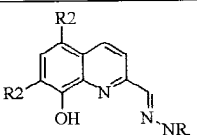
Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.)	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
52		59-00-7	Y	3	>100		N/A
57		1571-30-8	Y	2,67	40		N/A
58		6759-78-0	Y	1,95	100		N/A
95			Y	6,66	10		N/A
948			Y	1,61	0.19, 0.15		+
948						106,66	
949			Y	2,38	0.43, 0.9		+
949						84,82	
950			Y	2,51	0.25, 0.15		+
950						92,8	
951			Y	3,26	1,43		-
951						91,86	

Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
952			C	2,47	<0.81, 0.27		+
952						99,52	
953			C	2,97	<4.24, 0.62		+
953						67,8	
954			Y	1,93	0.18, 0.12		-
954						104,9	
955			Y	2,71	0.26, 0.18		-
955						100	
956		125686-78-4	Y	1,7	>10		N/A
956						89	
957			Y	1,42	>10		+
957						95,86	
976		149003-37-2	Y	2,35	3,7		-
986			Y	2,8	3,6		+
986						81,73	

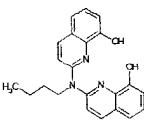
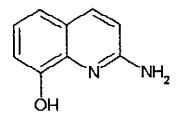
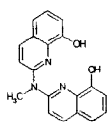
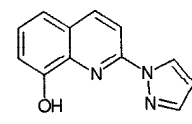
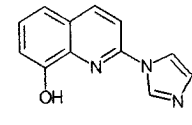
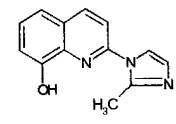
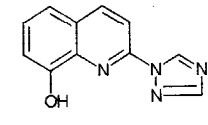
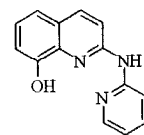
Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
987			Y	1,08	1,8		+
987						89,03	
988			Y	1,76	>10		-
988						93,27	
992			Y	2,03	>10		N/A
							
							
							

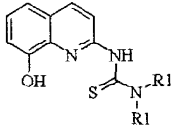
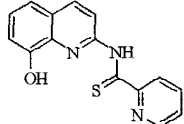
Формула IVa

Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
966			Y	0,2	4,3		+
966						88,61	
967			Y	0,89	7,8		N/A
967						90,69	
968		17018-81-4	Y	1,03	0,26		++
968						97,12	
969		5603-22-5	Y	2,83	0,54		+
969						94,55	
989			Y	1,14	0,42		-
989						43,24	
990			Y	2,51	0,4		+
990						57,45	
991			Y	1,11	0,47		+
1002				1,95	0,39		N/A
1003				2,19	0,55		N/A

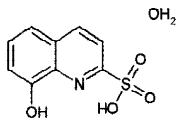
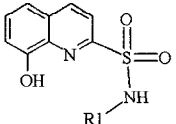
Идент. №	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
1008				1,2	0,26		N/A
1009				1,88	0,32		N/A
1010				2,35	0,33		N/A
1011				1,68	0,32		N/A
							
							
							

Формула Va

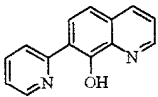
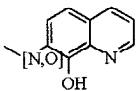
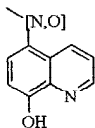
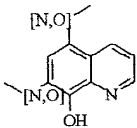
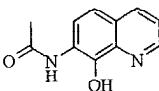
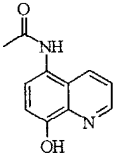
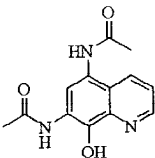
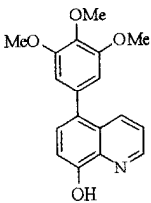
Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
53		82361-90-8	Y	6,27	0,3		+
53						95,8	
54		70125-16-5	Y	1,75	1		+
54						99,57	
56		65165-14-2	Y	4,69	0.7, 0.25		+
56						24,61	
56						100,6	
964			Y	2,97	7,1		N/A
965			Y	1,94	>10		N/A
993			Y	2,21	>10		N/A
994			Y	1,75	>10		N/A
							

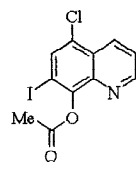
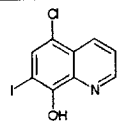
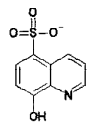
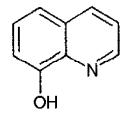
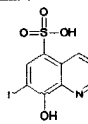
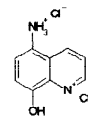
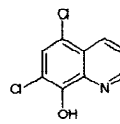
Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
							
							

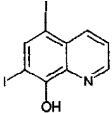
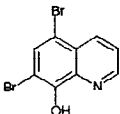
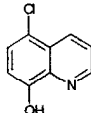
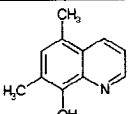
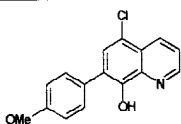
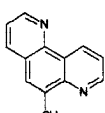
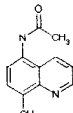
Формула VIa

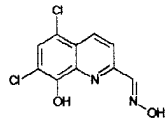
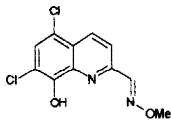
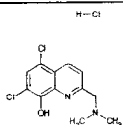
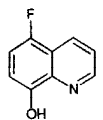
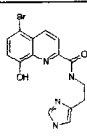
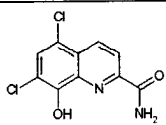
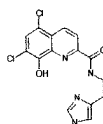
Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
50		20946-17-2		0,71	90		N/A
							

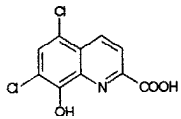
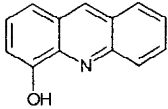
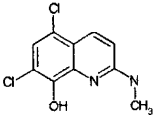
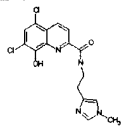
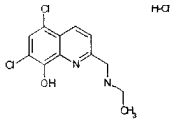
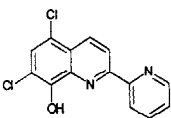
Формула IIb

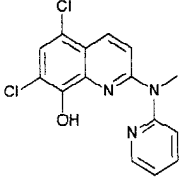
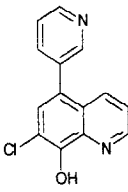
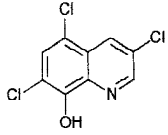
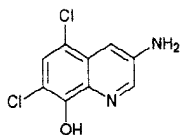
Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
5							
10							
15							
20							
25							
30							
35							
40							
45							

Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
							
1		130-26-7	Y	3,73	0.4 - 0.5		++
41		64-88-8	Y	-0,71	0,5		+
41						81,33	
42		148-24-3	Y	2,08	0,7		+
42						97,66	
43		547-91-1	Y	0,19	0,6		-
43						91,02	
44		21302-43-2	Y	1,53	>10	71,05	+
45		773-76-2	Y	3,34	0.7, 0.4		++
45						75,19	
45						66,51	

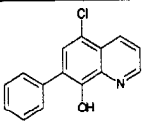
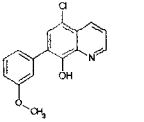
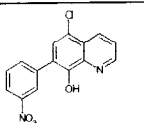
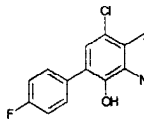
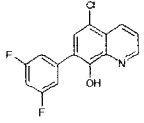
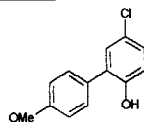
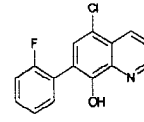
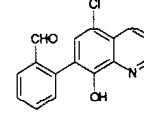
Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
46		83-73-8	Y	4,14	1		-
46						91,97	
47		521-74-4	Y	3,69	0.9, 0.5		+
47						93,59	
48		130-16-5	Y	2,91	0.8, 0.8		-
48						85	
59		37873-29-3	Y	3,02	0,7		+
59						84,95	
59						42,59	
814					<1.1, >10		+
1026					0,23		N/A
1028					0,32		N/A

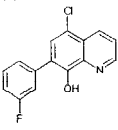
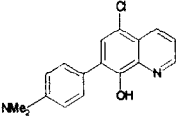
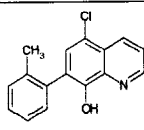
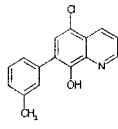
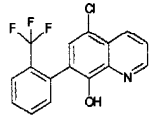
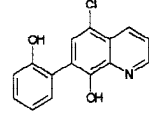
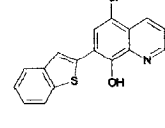
Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
1031					0,76		N/A
1032					1		N/A
1033	 H—Cl				0.38, 0.35		+
1034					0,44		N/A
1036					>5, 0.24		N/A
1037					>10		N/A
1038					0,26		+

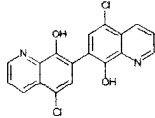
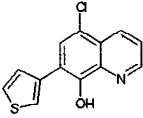
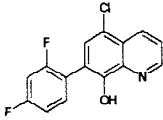
Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
1039					>10		N/A
1043					0,64		N/A
1047					>10		N/A
1050					0,28		N/A
1051					0,38		+
1052					0,64		+

Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
1056					0,69	68,25	
1057					0,43	95,02	
1058					0,68	54,60	
1060					0,50		

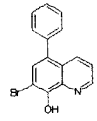
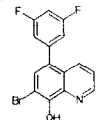
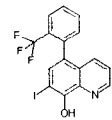
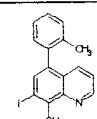
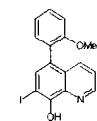
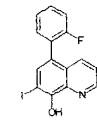
Формула IIIb

Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
808			C	4,3	>10		N/A
808						71,89	
810			C	4,23	>10, <0.7		+
810						70,7	
810						90,15	
811			C	4,06	>10		N/A
811						78,46	
812			C	4,45	>10		N/A
812						75,36	
813			C	4,6	>10		N/A
813					8		
813						66	
814			C	4,23	<1.1, >10		+
814						31,13	
815			C	4,45	>10		N/A
815						53,68	
849			Y	3,67	4,5		N/A

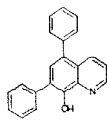
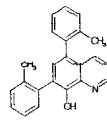
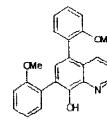
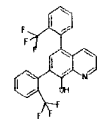
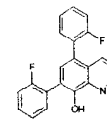
Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
849						98,83	
850			C	4,45	>10		N/A
850						71,28	
851			C	4,47	<0.7		-
851						84,92	
851						86,08	
854			C	4,5	<0.78		+
854						100	
854						71,39	
854						34,95	
859			C	4,8	<0.67		+
859						73,14	
859						36,01	
859						34,07	
864			Y	5,2	0,77		+
864						93,12	
947			Y	3,14	1,14		+
947						70,4	
970			C	5,54	6,7		N/A
970						32,33	

Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
971			C	4,57	>10		N/A
971						84,29	
972			C	3,95	>10		N/A
972						30,59	
973			C	4,6	>10		N/A
973						42,38	

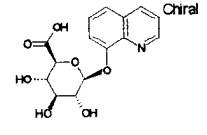
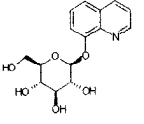
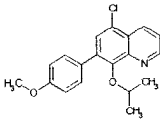
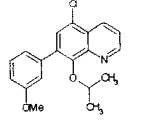
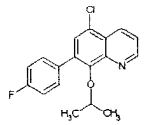
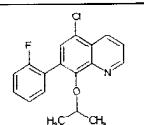
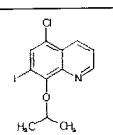
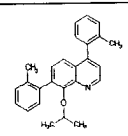
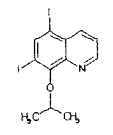
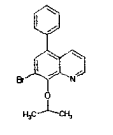
Формула IVb

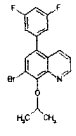
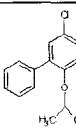
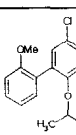
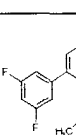
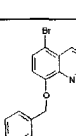
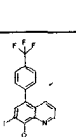
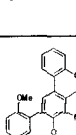
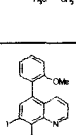
Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
806			C	4,67	<1.2, <0.9		++
806						97	
806						100	
853			Y	4,97	0,77		+
853						94,79	
860			Y	5,76	0,79		+
860						89,58	
860						64,83	
861			C	5,06	0,91		+
861						37,83	
863			C	4,23	<0.73		+
863						34,97	
865			C	5,01	>10		N/A
865						34,07	

Формула Vb

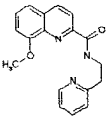
Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
809			C	5,35	<4, 1.8		+
809						26,31	
852			Y	5,75	2,1		+
852						33,52	
862			C	4,09	<0.77		+
862						51,52	
862						52,69	
974			Y	7,17	0,6		+
975			Y	5,67	3,2		+

Формула Vb

Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
39		14683-61-5	Y		90		N/A
62		29266-96-4	Y		>10		N/A
800			C		>10		N/A
801			C		>10		N/A
802			C		>10		N/A
803			C		>10		N/A
804			C		>10		N/A
805			C		>10		N/A
807			C		>10		N/A
816			C		>10		N/A

Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
817			C		>10		N/A
818			C		>10		N/A
819			C		>10		N/A
820			C		>10		N/A
821			C		>10		N/A
822			C		>10		N/A
823			C		>10		N/A
824			C		>10		N/A
825			C		>10		N/A

Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	clogp	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
826			C		>10		N/A
827			C		>10		N/A
855			Y		>10		N/A
856			C		>10		N/A
857			C		>10		N/A
858			Y		>10		N/A
866			Y		>10		N/A
867			Y		>10		N/A
868			C		>10		N/A

Идент.№	Структура	CAS (№ по ном. Chem. Abstr.	Раств. (Р, Д, Н)	сlogр	Пероксид IC 50	Жизнеспособ. 10мкМ	Оценка придания раст. мозга
1022					>10		N/A

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

Таблица 8: Цитотоксичность испытуемых соединений [Методика согласно испытанию 2(d)]				Таблица 7: Аβ нейрозащита [Методика согласно испытанию 2(c)]	
РВТ	0,1мкМ	1мкМ	10мкМ	% ингибирования Аβ токсичности	
1	78	90	77	1	16
41	95	100	100	41	12
42	90	87	79	42	14
45	100	92	67	45	28
47	n/o	88	86	47	13
53	96	95	100	53	-75
54	89	97	61	54	100
56	108	74	31	56	17
59	89	97	55	59	22
89	87	92	101	89	-31
806	99	78	38	806	36
810	100	85	57	810	11
853	93	79	39	853	31
854	94	81	36	854	22
864	100	88	37	864	13
947	100	94	51	947	3
948	100	79	85	948	9
950	95	88	89	950	5
952	98	91	53	952	13
953	101	85	53	953	25
968	103	87	82	968	6
969	91	92	90	969	2
986	96	85	60	986	7
987	92	90	87	987	5
990	95	88	57	990	18

	10мкМ				% ингибиро- вания Абета токсичности	
	РВТ	0,1мкМ	1мкМ		РВТ	
5	1003	н/о	97	38	1003	17
	1005	н/о	100	95	1005	1
10	1006	н/о	92	52	1006	7
	1007	н/о	90	43	1007	9
	1008	н/о	86	28	1008	9
15	1009	н/о	94	32	1009	16
	1010	н/о	88	27	1010	12
	1011	н/о	89	31	1011	21
20	1020	н/о	85	83	1020	4
	1021	н/о	93	81	1021	1
	1031	н/о	85	81	1031	8
	1032	н/о	83	42	1032	-2
25	1033	н/о	80	70	1033	38
	1037	н/о	88	87	1037	4
	1038	н/о	93	83	1038	19
30	1039	н/о	94	87	1039	9
	1044	н/о	92	89	1044	3
	1045	н/о	90	86	1045	10
35	1049	н/о	93	89	1049	6
	1050	н/о	93	88	1050	6
	1051	н/о	87	56	1051	23
	1052	н/о	63	32	1052	19
40	1053	н/о	100	105	1053	-2
	1055	н/о	112	57	1055	37
	1056	н/о	96.44	68.25	1056	39
45	1057	н/о	101.84	95.02	1057	4
	1058	н/о	82.47	54.60	1058	30

50

Table 9. Уровни растворимого Аβ и нерастворимого Аβ в мозге трансгенных мышей.

[Методика согласно испытанию 11.]

Испытуемое соединение	Растворимая фракция.	Нерастворимая фракция.
	Изменение в % по сравнению с контрольным образцом.	Изменение в % по сравнению с контрольным образцом.
PBT 1	+ 50	- 49
PBT 1033	- 37	- 29
PBT 1038	пренебрежимо мало	- 37%
PBT 1051	пренебрежимо мало	- 21
PBT 1052	пренебрежимо мало	- 22

Таблица 10. Проникновение сквозь гематоэнцефалический барьер

[Методика согласно испытанию 14.]

Испытуемое соединение	Коэффициент усвоения
PBT-1	Между 10 и 50%
PBT-1033	> 50%
PBT-1038	> 50%
PBT-1050	> 50%
PBT-1051	> 50%
PBT-1052	Между 10 и 50%

Таблица 11. Физиолого-химические свойства

[Методика согласно испытанию 13]

Соединение	Площадь полярной поверхности (Å ²)	Растворимость _{pH 6.5} (мкг/мл)	Растворимость (мкг/мл) 0.01 М HCl	cLog P	E Log D _{7.4}
PBT1	33.1	< 3.1	3.1 - 6.2	4.32	1.85
PBT1033	35.8	3.1 - 6.2	< 3.1	3.51	1.32
PBT1038	90.9	12.5 - 25	3.1 - 6.2	2.69	2.92
PBT1050	80.0	12.5 - 25	25 - 50	2.56	2.98
PBT1051	44.6	< 3.1	< 3.1	3.58	2.64
PBT1052	46.0	< 3.1	6.3 - 12.5	4.22	2.85

Таблица 12. Иммуногистохимия мозга трансгенной мыши

[Методика согласно испытанию 15]

	Средний балл распространённости бляшек	% отличие от контроля (животное, которому симулировали лечение)	Значение Р
Симуляция	3.5		
1033	2.06	- 41	0.018
1038	3.0	-17	Нет статист. отличия
1051	2.13	- 39	0.0037
1052	3.2	-8	Нет статист. отличия

Таблица 13(а). Фармакокинетические параметры после внутривенного и перорального введения РВТ 1033 крысам.

[Методика согласно испытанию 16]

Параметр	030701-А в/в	030701-В в/в	Среднее ±среднеквадр.откл.	030701-С п/о	030710-Д п/о	Среднее ±среднеквадр.откл.
Отмеренная доза (мг/кг)	1.84	1.62	1.73 ± 0.16	34.11	31.21	32.66 ± 2.05
C_{max} (мкМ)	0.70	2.48	1.59 ± 1.26	2.02	1.36	1.69 ± 0.47
T_{max} (мин)	20	5	12.50 ± 10.61	45	60	52.50 ± 10.61
$t_{1/2}$ (мин)	52.25	53.29	52.77 ± 0.73	---	---	---
Cl_{total}^a (мл/мин/кг)	90.98	145.69	118.34 ± 38.69	---	---	---
$V_{dв}$ (л/кг)	6.86	11.20	9.03 ± 3.07	---	---	---
Биодоступность (%) ^b	---	---	---	25.45	25.04	25.25 ± 0.29

а Общий клиренс плазмы

б Биодоступность при пероральном введении рассчитывалась с помощью усеченной AUC

0-1560.

Таблица 13(б). Фармакокинетические параметры после внутривенного и перорального введения РВТ 1038 крысам.

[Методика согласно испытанию 16]

Параметр	030410-В в/в	030410-Е в/в	Среднее ±среднеквадр. откл.	030410-С п/о	030415-Е п/о	Среднее ±среднеквадр. откл.
Отмеренная доза (мг/кг)	0.34	0.35	0.34 ± 0.00	38.74	34.47	36.60 ± 3.02

$C_{\max}$ (мкМ)	8.06	2.84	5.45 ± 3.70	57.77	68.48	63.12 ± 7.57
$T_{\max}$ (мин)	---	---	---	45	45	45.00 ± 0.00

Таблица 13(с). Фармакокинетические параметры после внутривенного и перорального введения РВТ 1050 крысам.

[Методика согласно испытанию 16]

Параметр	030415-A в/в	030415-B в/в	Среднее $\pm$ среднеквадр. откл.	030415-C п/о	030415-D п/о	Среднее $\pm$ среднеквадр. р. откл.
Отмеренная доза (мг/кг)	2.37	2.05	2.21 ± 0.23	35.14	26.25	30.69 ± 6.29
$C_{\max}$ (мкМ)	33.93	16.88	25.41 ± 12.06	61.00	7.03	34.02 ± 38.17
$T_{\max}$ (мин)	---	---	---	45	120	82.5 ± 53.03

Таблица 13(d). Фармакокинетические параметры после внутривенного и перорального введения РВТ 1051 крысам.

[Методика согласно испытанию 16]

Параметр	030506-A в/в	030506-B в/в	Среднее $\pm$ среднеквадр. откл.	030506-C п/о	030506-D п/о	Среднее $\pm$ среднеквадр. откл.
Отмеренная доза (мг/кг)	3.16	2.77	2.96 ± 0.28	34.24	26.45	30.35 ± 5.51
$C_{\max}$ (мкМ)	2.96	3.03	2.99 ± 0.05	3.18	1.50	2.34 ± 1.18
$T_{\max}$ (мин)	---	---	---	60	30	45 ± 21.21
$t_{1/2}$ (мин)	46.07	46.52	46.30 ± 0.32	200.09	365.72	282.9 ± 117.1
Cl_{total}^a (мл/мин/кг)	153.24	135.58	144.4 ± 12.5	---	---	---
V_{dB} (л/кг)	10.19	9.10	9.64 ± 0.77	---	---	---
Биодоступность (%) ^b	---	---	---	37.96	17.55	27.75 ± 14.43

^a Общий клиренс плазмы

^b Биодоступность при пероральном введении рассчитывалась с помощью усеченной AUC_{0-1440} . Это значение может превышать истинную биодоступность.

Пример 21 – Клиническое испытание соединения формул I или II для лечения болезни Альцгеймера.

Клиническое испытание фазы II соединения формулы I или II для лечения болезни Альцгеймера было проведено с целью исследования эффектов перорального введения PBT-1 в форме рандомизированного, дважды слепого, клинического испытания пилотной фазы 2 с контролем плацебо на пациентах с умеренной тяжестью болезни. 36 субъектов испытания были разделены случайным образом [18 получали плацебо и 18 PBT-1, в 32 случаях испытания были завершены] и распределены на подгруппы с более или менее одинаковой степенью тяжести заболевания. Эффект лечения имел статистическую значимость у более тяжелых пациентов (исходный результат теста ADAS-cog ≥ 25), где оно в течение 36 недель предотвращало ухудшение мышления. У менее тяжелых пациентов (ADAS-cog < 25) состояние в течение этого периода ухудшилось в ничтожной степени, так что изменения мыслительной способности в этой группе различить не удалось. Уровень A β 42 в плазме снизился в группе, которой давали PBT-1, но повысился в группе, которой давали плацебо ($p < 0,001$). Содержание Zn в плазме существенно поднялось ($\approx 30\%$) в группе, получавшей PBT-1.

Дозировка

При выборе дозы учитывалось несколько факторов. В предыдущих исследованиях на трансгенных мышях дозы по 20-30 мг/кг PBT-1 перорально, ежедневно пять дней в неделю проявили заметную эффективность в ингибировании аккумуляции A β после 2-3 месяцев лечения. Эквивалентная доза для человека 1500-2250 мг/день близка к предписанной антибиотической дозе PBT-1 (600 мг перорально 4 раза в день). Однако прием такой дозы на протяжении месяцев вызывает беспокойство возможной токсичностью с развитием подострой миело-оптической невропатии (SMON).

Начальная доза 3,3 мг/кг/день при среднем весе 75 кг находится в пределах того же порядка величины, что и эффективная доза для трансгенных мышей, но составляет всего одну десятую антибиотической дозы.

Поскольку не существует данных об исследованиях эффективности доз меньше мг/кг/день для трансгенных мышей, мы предположили, что для положительного эффекта может потребоваться более долгий период лечения, чем 9-12 недель, в течение которых проводилось исследование на мышях (Cherny et al., 2001). Поэтому была

выбрана продолжительность испытания 36 недель при средней дозе, равной приблизительно одной трети дозы, эффективной для трансгенных мышей. Конечная доза 10 мг/кг/день составляет половину дозы, эффективной для мышей.

Начальная доза 3,3 мг/кг/день была в пределах того же порядка величины, что и эффективная доза для трансгенных мышей, но составляла всего одну десятую антиинфекционной дозы. Исследование было построено так, чтобы можно было выявить биохимические воздействия на уровни металлов и Аβ такой же величины, как и в исследовании на трансгенных организмах.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПРОЦЕДУРЫ

Этические вопросы: В соответствии с австралийским законодательством относительно получения согласия от пациентов, чей интеллект может быть ослаблен до такой степени, что они не могут принимать осознанные решения на основе информации, для каждого участника эксперимента, неспособного принять собственное решение, было получено "Согласие на специальные процедуры" от гражданско-административного суда штата Виктория. Кроме того, от всех, ухаживающих за такими больными, было получено согласие третьей стороны. Перед началом испытания все его субъекты были стабилизированы с помощью донепезила. Исследование было одобрено Комитетом по клиническим исследованиям и этике при Исследовательском фонде Королевского госпиталя Мельбурна.

Контингент исследования: Исследование происходило в блоке клинических испытаний болезни Альцгеймера Исследовательского института психического здоровья штата Виктория и в Королевском госпитале Мельбурна. Критериями для включения в исследование были: информированное согласие; диагноз вероятной болезни Альцгеймера по критериям NINCDS-ADRDA (McKhann et al., 1984); оценка состояния по шкале интеллектуального уровня для болезни Альцгеймера (ADAS-cog) (Rosen et al., 1984) 18-45 баллов; результат мини-исследования умственного состояния (MMSE) (Folstein et al., 1975) 10-24 балла; прием донепезила по 5мг или 10мг в течение по меньшей мере 6 месяцев; желание и способность родственника или ухаживающего лица помогать в исследовании; возможность полностью проводить обследование; отсутствие нарушения первичных сенсорных функций.

Пациенты исключались при наличии истории или клинических свидетельств периферийной или оптической невропатии либо сопутствующих болезней или прошлой

истории, которые могли повлиять на интеллект, либо состояния или болезней нервов, которые могли бы затемнить профиль неблагоприятного развития. В начале испытаний регистрировались следующие сведения для последующей корреляции с результатом: возраст, пол, преморбидный IQ [оценивался по Национальному тесту на чтение для взрослых (NART)], образование, а также уровень аллотипа апополипротеина E (ApoE).

План исследования: Исследование проводилось двойным слепым методом, с контролем плацебо, со случайной выборкой параллельных групп. Были добровольно набраны 36 пациентов и ухаживающих за ними людей; пациенты были случайным образом разделены 1:1, причем одна группа получала PBT-1 а другая – плацебо. Исследование продолжалось 36 недель. Пероральная доза PBT-1 составляла 125мг два раза в день на протяжении недель 0-12, была увеличена до 250мг два раза в день в недели 13-24 и, наконец, до 375мг два раза в день в недели 25-36.

Процедуры исследования: Скрининговые процедуры включали полную медицинскую историю, физическое, неврологическое и офтальмологическое обследование, анализы мочи и крови, а также психометрические тесты (ADAS-cog, MMSE). Тесты на нервную проводимость и вызванную зрительную реакцию проводились между первым и скрининговыми посещениями, чтобы получить измерение от базисной линии. Кровь брали на аллотипы ApoE и исходные уровни металлов и Aβ в плазме до разделения на группы случайным образом. Все пациенты продолжали принимать свою подготовительную дозу донепезила, а также получали 100 мг витамина B12 внутримышечно каждые 4 недели.

Анализ крови брали из локтевой вены, за исключением недель 12, 24 и 36, когда их брали через постоянный катетер. Изменение процедуры не влияло на биохимические показатели, за исключением уровней Zn, которые постоянно оказывались приблизительно на 10% ниже (вероятно, вследствие различий в активации тромбоцитов). Поэтому данные по Zn data за эти периоды исключили из анализа.

Измерение результатов: Основным показателем клинической эффективности было изменение результатов теста ADAS-cog по сравнению с исходными; этот тест проводился в начале исследования и в недели 4, 12, 24 и 36. Этот показатель был выбран потому, что он позволял сравнивать эффект лечения с лечением обычными терапевтическими средствами, такими как донепезил, при исследовании эффективности которого в качестве основной меры результатов также использовали тест ADAS-cog

(Rogers et al., 1998). Хотя в качестве вспомогательных средств измерения можно было применять различные нейropsychологические тесты, важно было не утомлять пациентов при обследовании. Поэтому единственным дополнительным тестом на интеллект было мини-исследование умственного состояния (MMSE). Определялся также индекс субъективных наблюдений CIBIC+ (впечатление об изменениях на основе клинического интервью с учетом информации, полученной от лица, которое ухаживает за пациентом). Анализы на содержание А β , а также цинка и меди в плазме брали каждые четыре недели.

Иммуносорбентный анализ с ферментной меткой методом двойных антител (ELISA) для обнаружения А β : На полистироловые пластинки наносилось покрытие из mAb G210 (для А β 40) или mAb G211 (для А β 42). Пластинки промывали и добавляли биотинилированный mAb WO2. Связанные антитела обнаруживали посредством меченого стрептавидина европия (Perkin Elmer, Vic Australia). Величины, полученные из трех ячеек на каждой пластинке, обсчитывали на основе стандартных кривых. Анализировались также образцы плазмы с синтетическими А β 1-40 и А β 1-42, чтобы подтвердить надежность измерений в представляющем интерес диапазоне.

Уровни металлов: Металлы измерялись методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, как описывалось ранее (Cherny et al., 2001).

Терапевтический мониторинг лекарства: На 12-й, 24-й и 36-й неделе проводился анализ уровня РВТ-1 в крови методом жидкостной хроматографии высокого давления с соответствующими проверочными исследованиями (Центр фармацевтических исследований, Университет Южной Австралии).

Меры безопасности: Проводилась стандартная регистрация неблагоприятных событий; при каждом посещении проводились биохимические анализы, тесты на функцию почек и печени, полное исследование крови, анализы на уровень витамина В₁₂ и фолатов с полным их документированием. Для оценки периферийной и оптической невропатии при каждом посещении проводилось неврологическое обследование; при скрининге, на 16-й неделе и перед последним посещением проводились проверка вызванных зрительных реакций, проводимости нервов и офтальмологическое обследование. ЭКГ делали при скрининге и на 12-й, 24 и 36 неделе.

Подготовка данных и статистический анализ: Контроль и обработку данных проводили по контракту независимые организации (Kendle International и Health Research Solutions, Мельбурн). Свидетельством эффективности было существенное

различие в изменении по сравнению с базисной линией между линиями, соответствующими различным методам лечения. Дисперсионный анализ был основным методом оценки статистической значимости, причем первичным показателем при планировании была тяжесть заболевания, к которому применялось лечение, на базисной линии. При необходимости вводились потенциально значимые случайные величины. Различия между группами по категориальным показателям анализировались точными статистическими методами с целью получения максимальной достоверности. Если допустить корреляцию 0,60 между случаями измерений, способность обнаруживать эффект одного стандартного отклонения в изменении между группами от базисной линии до 36-й недели составляла бы приблизительно 80%, если бы в каждую группу было набрано 15 испытуемых. Поскольку у аналогичного контингента наблюдалась норма выбывания 15%, в каждую группу было набрано по 18 пациентов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Набор испытуемых и демографические показатели: Было привлечено 36 человек на период 12 месяцев, начиная с апреля 2000 г. (фиг. 7). В отношении 32 из них было получено достаточно данных для анализа протоколов. По два человека из каждой линии лечения выбыли.

Показатель тяжести заболевания на базисной линии был получен, согласно плану, делением выборки на две группы по среднему баллу теста ADAS-cog на базисной линии (величины <25 , ≥ 25), что дало группы с более тяжелой и менее тяжелой степенью заболевания ($n=8$ и 8 для получающих лекарство и $n=7$ и 9 для получающих плацебо, соответственно).

Группы на базисной линии не различались по демографическим, биологическим и клиническим параметрам (таблица 14) с тем исключением, что группа, получавшая лекарство, имела более высокий средний преморбидный IQ, чем группа плацебо, по оценке тестом NART (111,4 по сравнению с 104,9; $t(30)=2.27$, $p=0,031$), и более низкий уровень тиреостимулирующего гормона (TSH) (1,14 по сравнению с 2,00 миллиединиц/л; $t(30)=4,400$, $p<0.001$). Показатели NART и TSH впоследствии вводили в анализы как сопутствующие переменные, но они не оказались существенными ни в одном анализе.

Клинические эффекты: Изменения показателя теста ADAS-cog в баллах за недели 4, 12, 24 и 36 по сравнению с базисной линией подвергались двухфакторному

дисперсионному анализу с учетом факторов линии лечения (лекарство или плацебо) и начальной (на базисной линии) тяжести заболевания. Изменения в баллах теста ADAS-cog демонстрировали большее ухудшение за каждый интервал между

5 обследованьями в группе, получавшей плацебо, чем в группе, получавшей PBT-1 (фиг. 8A). Этот тренд стал близок к статистической значимости на 4-й неделе [$F(1,28)=3.55$, $p=0.070$] и 24-й неделе [$F(1,28)=3.31$, $p=0.080$] (фиг. 8A). Как планировалось в протоколе,

10 эффект тяжести заболевания исследовался путем стратификации выборки на пациентов с большей и меньшей степенью заболевания (значения ADAS-cog на базисной линии <25 , ≥ 25). Простые тесты на эффекты в пределах уровня тяжести показали, что в группах

15 имеется тренд к подразделению на незначительные результаты для подгрупп с меньшей тяжестью в течение всех недель и существенные различия в подгруппах с большей степенью заболевания в недели 4 [$F(1,28)=7.73$, $p=0.010$] и 24 [$F(1,28)=6.63$, $p=0.016$] (фиг. 8B). Этот тренд сохранялся и на 36-й неделе, но не совсем достиг статистической

20 значимости [$F(1,28)=3.62$, $p=0.068$]. В группах с более тяжелой степенью заболевания различие в среднем изменении по сравнению с базисной линией теста ADAS-cog между группами, получавшими PBT-1 и плацебо, в недели 24 и 36 составляло 7.37 (95% CI: 1.51 – 13.24) и 6.36 (95% CI: -0.50 – 13.23), соответственно (фиг. 8B).

25 *Воздействие на содержание $A\beta$, Zn и Cu в плазме:* На базисной линии не отмечалось существенных изменений в уровнях $A\beta_{42}$ в плазме между группами, получавшими лекарство и плацебо, и подгруппами, разделенными по степени тяжести

30 заболевания. Дисперсия между индивидуальными уровнями $A\beta_{40/42}$ в плазме на базисной линии была велика и привела к уменьшению возможности исследования выявить какие-либо существенные различия в средних изменениях между группами. Однако сопоставление индивидуальных уровней $A\beta$ с эталонными уровнями базисной

35 линии заметно уменьшило дисперсию и выявило существенные эффекты лечения. В группе, получавшей PBT-1, уровень $A\beta_{42}$ в плазме продемонстрировал существенное снижение по сравнению с базисной линией с 20-й недели и дальше; за это же время у

40 группы, получавшей плацебо, уровень $A\beta_{42}$ в плазме повысился (фиг. 9A).

Стратификация по тяжести заболевания, описанная выше, показала, что эти изменения с очевидностью проявляются только у менее тяжелых пациентов (фиг. 9B).

45 Получение PBT-1 ассоциировалось со значительным повышением ($\approx 30\%$) общего содержания Zn в плазме (фиг. 10A), но не влияло на содержание Cu в плазме (фиг. 10B). Средние уровни цинка Zn (9,4 мкМ) на базисной линии в отобранных группах с

болезнью Альцгеймера были ниже нормативных значений, соответствующих возрасту (Wood and Zheng, 1997). Поэтому повышение содержания Zn, вызванное лечением PBT-1, представляло собой нормализацию этих уровней. Напротив, средние уровни Cu (13.1 мкМ) на базисной линии были в пределах нормативного диапазона, соответствующего возрасту (Rahil-Khazen et al., 2000). Сопоставление уровней A β 42/40 в плазме с уровнями Zn/Cu в ходе этого и последующих испытаний не выявило существенной связи между ними.

Важным результатом лечения пациентов с болезнью Альцгеймера препаратом PBT-1 является парадоксальное повышение содержания Zn в плазме (фиг. 10A), которое соответствует восстановлению связи синаптического цинка с кровью при посредстве ZnT3. Это показывает также, что, в отличие от типичных комплексообразователей, образующих хелаты с металлами, например, дезферриоксамина, механизм действия PBT-1 в этой дозе не такой, у мощного хелатообразователя, действующего на ткани. Относительно слабое сродство PBT-1 к металлам представляется недостаточным для того, чтобы вызывать заметное системное обеднение металлами в присутствии восстановленного равновесия металлического гомеостаза.

Уровни PBT-1 в крови: Устойчивые уровни PBT-1 перед получением дозы при суммарных дневных дозировках 250, 500 и 750 мг составляли $4,03 \pm 2,10$; $6,74 \pm 3,70$; $7,60 \pm 2,15$ мкг/мл, соответственно, и не проявляли существенной корреляции с результатами ADAS-cog, содержанием металлов или A β в этих или последующих случаях.

Таблица 14 – Демографические данные на базисной линии и основные клинические переменные

Переменная	Вся выборка (n=32)	Группа		Величина P
		Клиохинол (n=16)	Плацебо (n=16)	
Средний возраст (среднеквадр.откл.; мин.-макс.)	72.50 (8.37; 56-87)	73.19 (8.61; 58-87)	71.81 (8.35; 56-87)	P=0.65 [†]
Пол (n; % муж.)	17 (53.1%)	8 (47.1%)	9 (52.9%)	P=1.00 [‡]

5	Статус ApoE Гетерозигота ApoE4 n (%)	15 (46.9%)	7 (43.8%)	8 (50.0%)	P=1.00 [†]
	Гомозигота ApoE4 n (%)	3 (9.4%)	2 (12.5%)	1 (6.3%)	
10	Оценочный преморбидный IQ, средний по тесту NART, (среднеквадр.откл.; мин.- макс.)	108.1 (8.86; 91-124)	111.4 (8.04; 94-121)	104.9 (8.26; 91-124)	P=0.03 [†]
15	Результат теста ADAS-Cog	26.31 (7.27; 15-46)	25.56 (7.67; 15-46)	27.06 (7.01; 19-41)	P=0.57 [†]
20	Возраст при первой постановке диагноза, (среднеквадр. откл.; мин.- макс.)	70.09 (7.98; 54-83)	70.88 (8.50; 57-83)	69.31 (7.61; 54-83)	P=0.59 [†]
25	Продолжительность заболевания (лет) (среднеквадр.откл.; мин.- макс.)	2.41 (1.19; 1-5)	2.31 (1.08; 1-4)	2.56 (1.32; 1-5)	P=0.66 [†]

† Независимый тест образцов на t-распределение (всего тестов 30 df)

‡ Точный тест на основе двойной выборки.

Специалистам будет понятно, что, хотя изобретение описано достаточно конкретно, чтобы сделать его ясным и понятным, возможны различные модификации и изменения, описанных здесь вариантов и методов его осуществления без выхода за пределы объема изобретения, изложенного в настоящем описании.

Литература в приведенном ниже списке включена в настоящий документ путем отсылки.

Литература

- Alvarez, A., Alarcón, R., Opaza, C., Campos, E.O., Muñoz, F.J., Calderón, F.H., Dajas, F.,
 5 Gentry, M.K., Doctor, B.P., De Mello, F., Inestrosa, N.C. (1998) Стабильные
 комплексы, содержащие ацетилхолинэстеразу и пептид амилоид- β изменяют
 биохимические свойства энзима и увеличивают нейротоксичность фибрилл
 Альцгеймера. *The Journal of Neuroscience*, 18(9):3213-3223
- 10 Ariga, T., Kobayashi, K., Hasegawa, A., Kiso, M., Ishida, H., and Miyatake, T. (2001)
 Характеристика высокоаффинной связи между ганглиозидами и амилоидным β -
 белком. *Arch. Biochem. Biophys.* 388, 225-230
- 15 Avdulov, N. A., Chochina, S. V., Igbavboa, U., O'Hare, E. O., Schroeder, F., Cleary, J. P., and
 Wood, W. G. (1997) Связывание липидов с агрегатами амилоидных β -пептидов:
 предпочтительное связывание холестерина а. *J. Neurochem.* 68, 2086-2091
- 20 Beyreuther K, Christen Y, Masters CL (ред.) Нейродегенеративные расстройства: Потеря
 функции через усиление функции. Springer . Berlin. 2001. 189
- Brower V. Использование иммунной системы в борьбе с болезнью Альцгеймера:
 Некоторые наиболее перспективные подходы к борьбе с болезнью Альцгеймера
 25 направлены на разработку вакцин. *EMBO Rep* 2002;3:207-9
- Bush AI, Masters CL. Возврат клиохинола. *Science* 2001; 292:2251-2252
- Bush AI. Терапевтические цели в биологии болезни Альцгеймера. *Current Opinion in*
 30 *Psychiatry* 2001; 14:341-348
- Carissimi, M. (1972) Патент США 3,682,927
- Cherny RA, Atwood CS, Xilinas ME et al. Лечение соединением, образующим хелаты меди
 и цинка, заметно и быстро ингибирует накопление β -амилоидов у трансгенных
 35 мышей с болезнью Альцгеймера. *Neuron* 2001; 30:665-676
- R.C. Corcoran and S.H. Bang, *Tetrahedron Lett.*, 1990, 31, 6757-6758.
- Corder, E. H., Saunders, A. M., Strittmatter, W. J., Schmechel, D. E., Gaskell, P. C., Small, G.
 40 W., Haines, J. L., and Pericak-Vance, M. A. (1993) Генная доза аллели
 аполипопротеина Е типа 4 и риск заболевания болезнью Альцгеймера при
 семейной болезни с поздним наступлением. *Science* 261, 921-923
- 45 Cronin-Golomb A, Sugiura R, Corkin S, Growdon JH. Неполная ахроматопсия при болезни
 Альцгеймера. *Neurobiol Aging* 1993;14: 471-477
- Curtain, C.C., Ali, F., Volitakis, I., Cherny, R.A., Norton, R.S., Beyreuther, K., Barrow, C.J.,
 Masters, C.L., Bush, A.I., and Barnham, K.J. (2001) Амилоид β при болезни
 50

Альцгеймера связывает медь и цинк с образованием аллостерически упорядоченной, проходящей сквозь мембраны структуры, содержащей

супероксидные дисмутазоподобные подгруппы. *J. Biol. Chem.* 276, 20466-20473

Czech, C., Forstl, H., Hentschel, F., Monning, U., Besthorn, C., Geigerkabisch, C., Sattel, H., Masters, C., and Beyruether, K. (1994) Генная доза аполипопротеина Е-4 при клинически диагностированной болезни Альцгеймера: частота заболеваний, уровни холестерина в плазме и церебрально-сосудистые изменения. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 243, 291-292

De Ferrari, G.V., Canales, M.A., Shin, I., Weiner, L.M., Silman, I., Inestrosa, N.C. (2001)

Структурная модель, или ацетилхолинэстераза, усиливающая формирование амилоидных бета-пептидных фибрилл. *Biochemistry* 40(35):10447-57

Dodart J-C, Bales KR, Gannon KS et al. Иммунизация обращает вспять ухудшения памяти без снижения содержания Аβ в мозге в модели болезни Альцгеймера. *Nat Neurosci* 2002;5: 452-457

A. Dondoni, G. Fantin, M. Fogagnolo, A. Medici and P. Pedrini, *Synthesis*, 1987, 998 1001.

A. Dondoni, F.L. Merchan, P. Merino, I. Rojo and T. Tejero, *Synthesis*, 1996, 641-646

Durant, G.J., Emmett, J.C., Ganellin, C.R., Roe, A.M. and Slater, R.A. *J. Med. Chem.*, 1976, 19, 923.

Eckert, G. P., Cairns, N. J., Maras, A., Gattaz, W. F., and Muller, W. E. (2000) Холестерин регулирует эффекты мембранных расстройств β-амилоидных пептидов при специфических изменениях гиппокампуса при болезни Альцгеймера. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 11, 181-186

Fassbender, K., Simons, M., Bergmann, C., Stroick, M., Lutjohann, D., Keller, P., Runz, H., Kuhl, S., Bertsch, T., von Bergmann, K., Hennerici, M., Beyreuther, K., and Hartmann, T. (2001) Симвастатин резко снижает уровни β-амилоидных пептидов Аβ 42 и Аβ 40 при болезни Альцгеймера in vitro и in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 98, 5856-5861

Fleming, W.C. and Pettit, G.R. *J. Org. Chem.*, 1971, 36, 3490-3493.

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. Состояние со снижением интеллектуальных способностей: практический метод классификации состояния мышления у пациентов для клинициста. *J. Psychiatr. Res.* 1975; 12:189-198

Frears, E. R., Stephens, D. J., Walters, C. E., Davies, H., and Austen, B. M. (1999) Роль холестерина в биосинтезе b-амилоида. *NeuroReport* 10, 1699-1705

Friedhoff, L. T., Cullen, E. I., Geoghagen, N. S., and Buxbaum, J. D. (2001) Лечение ловастатином с контролируемым высвобождением уменьшает концентрации β -амилоидного ($A\beta$) пептида в сыворотке человека. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 4, 127-130

Gershon, H., Clarke, D.D. and Gershon, M. *Monashafte fur Chemie*, 1999, 130, 653.

Gershon, H. and McNeil, W.M. *J. Heterocycl. Chem.*, 1971, 8, 821.

Gordon, L.M., Curtain, C.C (1988). В кн.: Aloia R.C, Curtain C.C, Gordon L.M. (ред.) Новое о текучести мембран 1: Методы изучения текучести мембран. Alan R. Liss New York, pp 25-89

Hartmann, T. (2001) Cholesterol, $A\beta$ и болезнь Альцгеймера. *Trends Neurosci.* 24,S45-S48

Hertel, C., Terzi, E., Hauser, N., Jakob-Rotne, R., Seelig, J., and Kemp, J. A. (1997)

Ингибирование электростатического взаимодействия между β -амилоидным пептидом и мембранами предупреждает токсичность, индуцируемую β -амилоидами. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94, 9412-9416

Hobara N, Taketa, K. Исследование присоединения клиохинола к белкам сыворотки человека методом электрофореза. *Biochem Pharmacol* 1976;25: 1601-1606

Hope, M.J., Bally, M.B., Webb, G., Cullis, P.R. (1985) *Biochim. Biophys. Acta.* 812, 55-56

Hsiao, K., Chapman, P., Nilsen, S., Eckman, C., Harigaya, Y., Yonkin, S., Yang, F., Cole, G. (1996) Коррелятивный дефицит памяти, повышение $A\beta$ и амилоидные бляшки у трансгенных мышей *Science*; 274(5284):99-102.

Huang X, Atwood CS, Hartshorn MA et al. Пептид $A\beta$ при болезни Альцгеймера непосредственно образует перекись водорода путем восстановления ионов металлов. *Biochemistry* 1999; 38:7609-7616

Hubbell, W.L. and McConnell, H.M. (1971) *J. Amer. Chem. Soc.* 93, 314-326

Inestrosa, N.C. Alvarez, A., Perez, C.A., Moreno, R.D., Vicente, M., Linker, C., Casaneuva, O.I., Soto, C., Garrido, J. (1996) Ацетилхолинэстераза ускоряет объединение амилоид-бута-пептидов в фибриллы Альцгеймера: возможная роль периферийного активного центра фермента. *Neuron* 16(4):881-91

Jensen M, Schröder J, Blomberg M et al. Уровень $A\beta_{42}$ в цереброспинальной жидкости повышается на ранних стадиях спорадической болезни Альцгеймера и уменьшается по мере того, как заболевание прогрессирует. *Ann Neurol* 1999;45: 504-511

Ji, S. R., Wu, Y., and Sui, S. F. (2002) Холестерин как важный фактор, влияющий на

проникновение сквозь мембраны β -амилоидного пептида (A β 1-40), что может потенциально ингибировать образование фибрилл. J. Biol. Chem. 277,6273-6279

5 Lee J-Y, Cole TB, Palmiter RD, Suh SW, Koh J-Y. Вклад синаптического цинка в различающееся в зависимости от пола формирование бляшек у шведских мутантных APP трансгенных мышей. Proc Natl Acad Sci U S A 2002: Первое издание.

10 Mahfoud, R., Garmy, N., Maresca, M., Yahi, N., Puigserver, A, and Fantini, J. (2002) Идентификация общей связывающей сфинголипиды области при болезни Альцгеймера, прионы и белки HIV-1. J. Biol. Chem. 277, 11292-11296

15 McKhann G, Drachman D, Folstein MF, Katzman R, Price D, Stadlen E. Клиническая диагностика болезни Альцгеймера: Доклад рабочей группы NINCDS-ADRDA под эгидой Департамента здравоохранения и Специальной комиссии по болезни Альцгеймера. Neurology 1984; 34:939-944

20 McLean CA, Cherny RA, Fraser FW et al. Растворимое скопление A β амилоида как определяющий фактор тяжести нейродегенерации при болезни Альцгеймера. Ann Neurol 1999;46:860-866

25 Nunan, J., and Small, D. H. (2000) Регулирование расщепления APP α -, β - и δ -секретазами. FEBS Lett. 483, 6-10

Островская В.М., Красавин И.А., Иншакова В.А., Мамаев В.П. и Криволапов В.П. (1986) Патент SU 1216184 A1.

30 Petersen, R.C, Stevenas, J.C., Ganguli, M., Tangalos, E.G., Cummings, J.L., and DeKosky, S.T. Практический параметр: Раннее обнаружение деменции: Мягкое ухудшение интеллекта, Neurology 2001 56 1133-1142

35 Rahil-Khazen R, Bolann BJ, Ulvik Rj. Эталонные значения следовых элементов в сыворотке, определяемые атомно-эмиссионной спектроскопией с индукционно-связанной плазмой. Clin Chem Lab Med 2000; 38 (8); 765-72.

40 Regland B, Lehmann W, Abedini I et al. Лечение болезни Альцгеймера клиохинолом. Dement Geriatr Cogn Disord 2001; 12:408-14

45 Richard, J.A., Breen, G.F., Crawford, L.P., Grinter, T.J., Harris, M.A., Haynes, J.F., Moores, C.J., Saunders, R.N., Share, A.C., Walsgrove, T.C. and Wicks, C. *Organic Process Research & Development*, 1997, 1, 185.

Rogers SL, Farlow MR, Doody RS, Mohs R, Friedhoff LT. Испытание донепезила на пациентах с болезнью Альцгеймера длительностью 24 недели, дважды слепое, с

плацебо-контролем. Группа
50:136-45

исследования донепезила. *Neurology* 1998;

Rosen WG, Mohs RC, Davis KL. Новая шкала оценки степени болезни Альцгеймера. *Am J Psychiatry* 1984; 141:1356-64

Schenk, D., Barbour, R., Dunn, W., Gordon, G., Grajeda, H., Guido, T., Hu, K., Huang, J., Johnson-Wood, K., Khan, K., Kholodenko, D., Lee, M., Liao, Z., Lieberburg, I., Motter, R., Mutter, L., Soriano, F., Shopp, G., Vasquez, N., Vandervert, C., Walker, S., Wogulis, M., Yednock, T., Games, D., and Seubert, P. (1999) Иммунизация амилоидом- β ослабляет патологические проявления болезни Альцгеймера у PDAPP мыши. *Nature* 400, 173–177

Selkoe, D.J. Болезнь Альцгеймера: гены, белки и терапия. *Physiol Rev* 81 (2): 741-766

Shearman MS, Beher D, Clarke EE et al. L-685,458, модель переходного состояния аспартил-протеазы, является сильным ингибитором активности β -секретазы, предшественника амилоидного β -белка. *Biochemistry* 2000; 29:8698-704

Shrader, W.D. Celebuski, J. Kline S.J. and Johnson, D. *Tetrahedron Lett.*, 1988, 29, 1351-1354.

Shin, I., Silman, I., Weiner, L. M. (1996) Взаимодействие частично развернутых форм Torpedo ацетилхолинэстеразы с липосомами. *Protein Sci* 5(1):42-51

Shiraki, H. Невропатология подострой миело-оптической невропатии (SMON) у людей; Особо рассматривается интоксикация хиноформом. *Jpn J Med Sci Biol* 1975; 28 (suppl): 101-164

Simons M, Schwärzler F, Lütjohann D et al. Лечение симвастатином пациентов с болезнью Альцгеймера при нормальном уровне холестерина: испытание длительностью 26 недель методом случайной выборки, дважды слепое, с плацебо-контролем. *Ann of Neurol In Press*.

Sinha S, Anderson JP, Barbour R et al. Очищение и клонирование амилоидного белка-предшественника β -секретазы из мозга человека. *Nature* 1999;402:537-40

St George-Hyslop, P.H. (2000) Молекулярная генетика болезни Альцгеймера. *Biol. Psychiatry* 47, 183-199

T.C. Wang, Y.L. Chen, K.H. Lee and C.C. Tzeng, *Tetrahedron Lett.*, 1996, 37, 6369-6370.

White et al., *J Neuroscience*, (1998) 18, 6207-6217

Valdez-Gonzalez, T., Inagawa, J., and Ido, T. (2001) Нейропептиды взаимодействуют с гликолипидными рецепторами: резонансное исследование поверхностных плазмонов. *Peptides* 22; 1099-1106.

Wright, J.S. Johnson, E.R. and DiLabio, G.A. *J.Am.Chem.Soc* 2001 123 1173-1183.

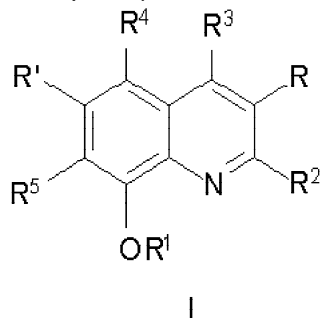
Yassin MS, Ekblom J, Xilinas M, Gottfries CG, Orelund L. Изменение усвоения витамина

B(12) и следовых количеств металлов в мозге мышей, которым давали клиохинол. *J Neurol*

Sci 2000; 173:40-44

Формула изобретения

1. Способ лечения, смягчения и/или профилактики неврологического состояния, содержащий введение эффективного количества соединения формулы I



где R¹ представляет собой H;

R² представляет собой замещенный или незамещенный алкил; замещенный или незамещенный алкенил; замещенный или незамещенный арил; замещенную или незамещенную гетероциклическую группу; замещенную или незамещенную алкоксигруппу; COR⁶ или CSR⁶, где R⁶ представляет собой H, замещенный или незамещенный алкил, замещенный или незамещенный алкенил, гидроксильную группу, замещенный или незамещенный арил, замещенную или незамещенную гетероциклическую группу, OR⁷, SR⁷ или NR⁷R⁸, где R⁷ и R⁸ одинаковы или различны и выбраны из H, замещенного или незамещенного алкила, замещенного или незамещенного алкенила, замещенного или незамещенного арила либо замещенной или незамещенной гетероциклической группы; CN; (CH₂)_nNR⁹R¹⁰, HCNOR⁹ или HCNNR⁹R¹⁰, где R⁹ и R¹⁰ одинаковы или различны и выбраны из H, замещенного или незамещенного алкила, замещенного или незамещенного алкенила, замещенного или незамещенного арила либо замещенной или незамещенной гетероциклической группы, а n составляет от 1 до 4; OR¹¹, SR¹¹ или NR¹¹R¹², где R¹¹ и R¹² одинаковы или различны и выбраны из H, замещенного или незамещенного алкила, замещенного или незамещенного алкенила, замещенного или незамещенного арила либо замещенной или незамещенной гетероциклической группы, либо вместе образуют замещенную или незамещенную гетероциклическую группу; или SO₂NR¹³R¹⁴, где R¹³ и R¹⁴ одинаковы или различны и выбраны из H, замещенного или незамещенного алкила, замещенного или незамещенного алкенила, замещенного или незамещенного арила либо замещенной или незамещенной гетероциклической группы;

R³, R и R' одинаковы или различны и выбраны из H, замещенного или незамещенного алкила, замещенного или незамещенного алкенила, замещенной или незамещенной алкоксигруппы, замещенного или незамещенного ацила, гидроксильной группы, замещенной или незамещенной аминогруппы, замещенной или незамещенной тиогруппы, замещенного или незамещенного сульфонила, замещенного или незамещенного сульфинила, замещенной или незамещенной сульфоаминогруппы, галогена, SO₃H, амина, CN, CF₃, замещенного или незамещенного арила либо замещенной или незамещенной гетероциклической группы; и

R⁴ и R⁵ представляют собой хлор,

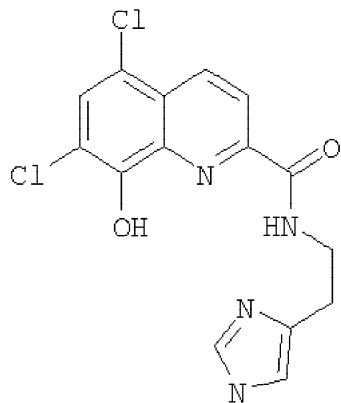
их соли, гидраты, сольваты, производные, пролекарства, таутомеры и/или изомеры при условии, что:

(а) если R и R' представляют собой H, а R² представляет собой CO₂H или CO₂Me, то R³

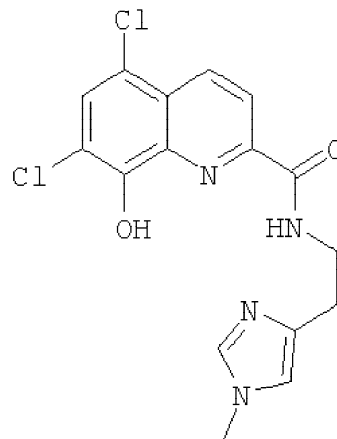
не является ОН субъекту, который в этом нуждается.

2. Способ по п.1, в котором, по крайней мере, один из заместителей R^2 , R, R^3 и R' представляет собой замещенный или незамещенный алкил, замещенный или незамещенный арил, замещенную или незамещенную гетероциклическую группу, $CH_2NR^9R^{10}$, где R^9 и R^{10} соответствуют определению в п.1, COR^6 , где R^6 представляет собой NR^7R^8 , где R^7 и R^8 соответствуют определению в п.1, или $NR^{11}R^{12}$, где R^{11} и R^{12} соответствуют определению в п.1.

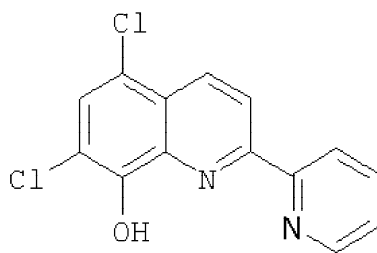
3. Способ по п.1 или 2, в котором соединение представляет собой следующее:



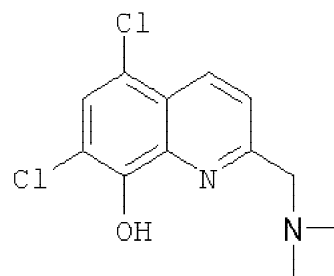
PBT 1038



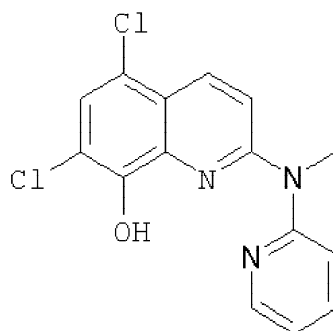
PBT 1050



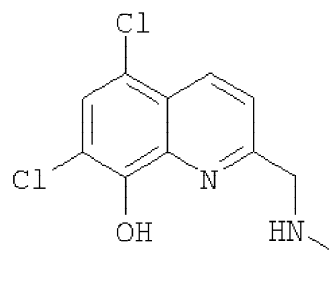
PBT 1052



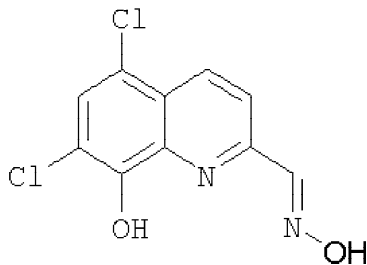
PBT 1033



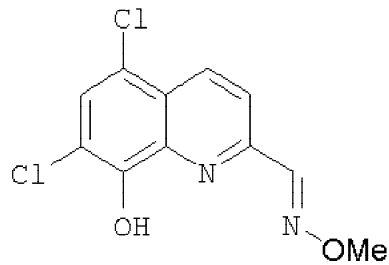
PBT 1056



PBT 1051



PBT 1031



PBT 1032

4. Способ по п.1, в котором неврологическое состояние представляет собой острую перемежающуюся порфирию; вызванную адриамицином кардиомиопатию; деменцию при СПИД и обусловленную ВИЧ-1 нейротоксичность; болезнь Альцгеймера; боковой амиотрофический склероз; атеросклероз; катаракту; церебральную ишемию; церебральный паралич; церебральные опухоли; повреждения органов, вызванные химиотерапией; почечную токсичность, вызванную цисплатином; последствия хирургического шунтирования коронарной артерии; болезнь Крейцфельда-Якоба и ее новый вариант, связанный с «коровьим бешенством»; диабетическую невропатию; синдром Дауна; утонутье; эпилепсию и посттравматическую эпилепсию атаксию Фридриха; лобно-височную деменцию; глаукому; гломерулопатию; гемохроматоз; гемодиализ; гемолиз; гемолитический уремический синдром (болезнь Вейла); геморрагический удар; болезнь Халлербодена-Шпатца; травму после сердечного приступа и реперфузии; болезнь Гентингтона; болезнь тела Леви; перемежающуюся хромоту; ишемический удар; воспалительное заболевание кишечника; дистрофию желтого пятна; малярию; последствия отравления метанолом; менингит (асептический и туберкулезный); двигательную невропатию; рассеянный склероз; многосистемную атрофию; ишемию миокарда; неоплазию; болезнь Паркинсона; перенатальную асфикцию; болезнь Пика; прогрессивный супрануклеарный паралич; повреждение органов вследствие радиотерапии; рестеноз после ангиопластики; ретинопатию; старческую деменцию; шизофрению; сепсис; септический шок; губчатые энцефалопатии; субаррахноидное кровоизлияние/спазм церебральных сосудов; субдуральную гематому; хирургическую травму, в том числе при нейрохирургии; талассемию; преходящие ишемические нарушения; травматическое повреждение головного мозга; травматическое повреждение спинного мозга; трансплантацию; мультиинфарктную деменцию; вирусный менингит; вирусный энцефалит; церебральную ишемию; семейную смертельную инсомнию, болезнь Герцманна Штраусслера Шайнкера; наследственное кровоизлияние в мозг амилоидозно-голландского типа; деменцию или мягкое ухудшение интеллекта.

5. Способ по п.1, в котором неврологическое состояние представляет собой нейродегенеративное расстройство.

6. Способ по п.5, в котором нейродегенеративное расстройство представляет собой нейродегенеративный амилоидоз.

7. Способ по п.5, в котором нейродегенеративное расстройство представляет собой спорадическую или семейную болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз, катаракту, болезнь Паркинсона, болезнь Крейцфельда-Якоба и ее новый вариант, так называемое "коровье бешенство", болезнь Гентингтона, деменцию с образованием тела Леви, многосистемную атрофию, болезнь Халлербодена-Шпатца, диффузную болезнь тела Леви, смертельную семейную инсомнию, болезнь Герцманна Штраусслера Шайнкера или наследственное кровоизлияние в мозг амилоидозно-голландского типа.

8. Способ по п.5, в котором нейродегенеративное расстройство представляет собой болезнь Паркинсона.

9. Способ по п.5, в котором нейродегенеративное расстройство представляет собой состояние, связанное с A β -белком.

10. Способ по п.9, в котором состояние, связанное с Аβ-белком, представляет собой болезнь Альцгеймера или деменцию, связанную с синдромом Дауна, или одну из нескольких аутосомных доминантных форм семейной болезни Альцгеймера.

11. Способ по п.1 или 2, который замедляет, ослабляет или останавливает ухудшение сознания субъекта.

12. Способ по п.1 или 2, при котором дополнительно последовательно или одновременно вводят другое лекарственное средство.

13. Способ по п.12, в котором другое лекарственное средство представляет собой ингибитор активного центра ацетилхолинэстеразы, антиоксидант, противовоспалительный агент или эстрогенный агент.

14. Способ по п.1 или 2, в котором соединение вводится перорально, местно или парентерально.

15. Применение соединения по п.1 или 2 в качестве нейротерапевтического, нейрозащитного или антиамилоидогенного агента.

16. Фармацевтическая или ветеринарная композиция для лечения, смягчения и/или профилактики неврологического состояния, содержащая соединение по п.1 или 2 и приемлемый в фармацевтическом или ветеринарном отношении наполнитель.

17. Фармацевтическая или ветеринарная композиция для лечения, смягчения и/или профилактики неврологического состояния, содержащая соединение по п.1 или 2, приемлемый в фармацевтическом или ветеринарном отношении наполнитель и дополнительно другое лекарственное средство.

18. Фармацевтическая или ветеринарная композиция для лечения, смягчения и/или профилактики неврологического состояния по п.17, в которой другое дополнительное лекарственное средство представляет собой ингибитор активного центра

ацетилхолинэстеразы, антиоксидант, противовоспалительный агент или эстрогенный агент.

19. Соединение формулы I по п.1 или 2 при следующих дополнительных условиях:

(b) если R^3 , R и R' представляют собой H, а R^2 представляет собой $(CH_2)_2NR^9R^{10}$, то R^9 и R^{10} оба не являются этилом или метилом;

(c) если R^3 , R и R' представляют собой H, а R^2 представляет собой $(CH_2)_2NR^9R^{10}$, то R^9 и R^{10} оба не являются водородом или этилом;

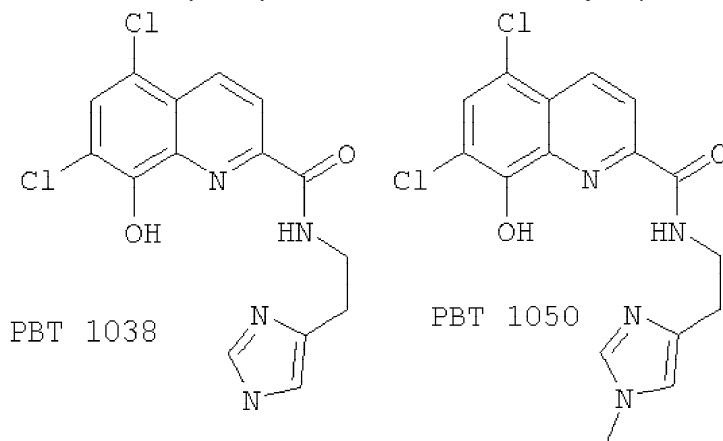
(d) если R^3 , R и R' представляют собой H, а R^2 представляет собой $NR^{11}R^{12}$, то R^{11} и R^{12} оба не являются водородом;

(e) если R^3 , R и R' представляют собой H, а R^2 представляет собой COR^6 , то R^6 не является H, OH или CH_2Cl ;

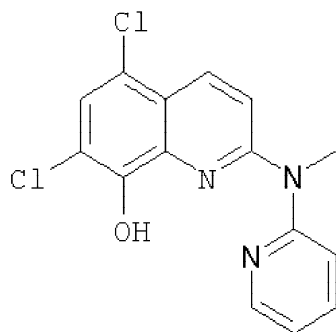
(f) если R^3 , R и R' представляют собой H, то R^2 не является CH_3 или CH_2Cl ;

(g) если R^3 , R и R' представляют собой H, а R^2 представляет собой $HCNNR^9R^{10}$, то R^9 и R^{10} оба не являются H.

20. Соединение по п.19, которое представляет собой следующее:

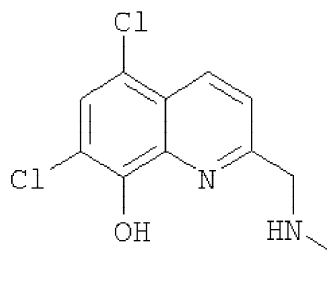


5



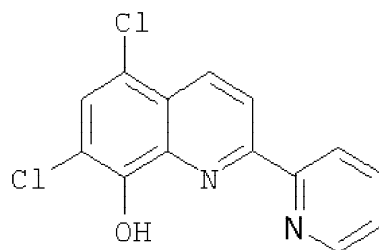
PBT 1056

10



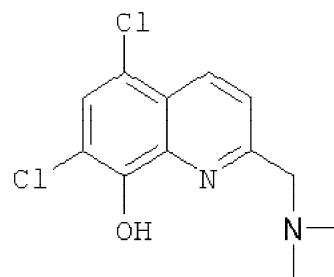
PBT 1051

15



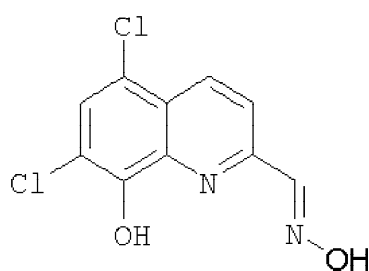
PBT 1052

20



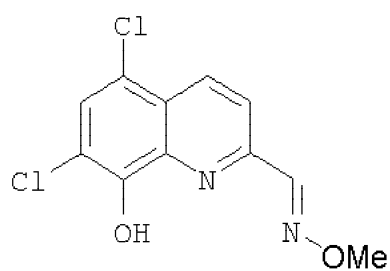
PBT 1033

25



PBT 1031

30



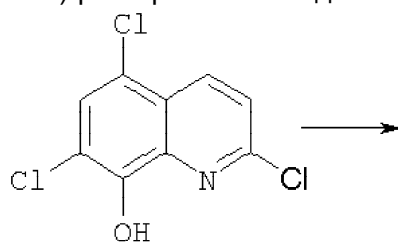
PBT 1032

35

21. Способ получения соединения PBT 1056, соответствующего п.20, содержащий следующие операции:

а) реагирование соединения 10

40

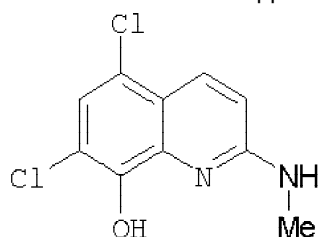


45

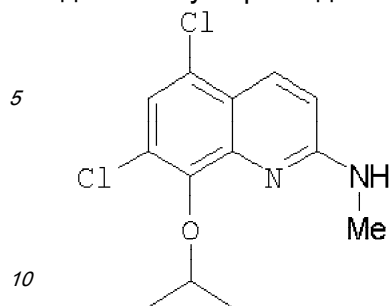
10

с метиламином для получения PBT 1047

50

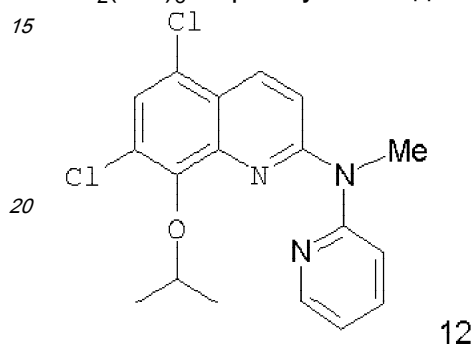


b) реагирование PBT 1047 с безводным карбонатом калия и 2-бромпропаном в растворе диметилсульфоксида и хлористого аммония для получения соединения 11



11

с) добавление 2-бромпиридина к раствору соединения 11, рацемического Бинапа, $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ и трет-бутилата для получения соединения 12

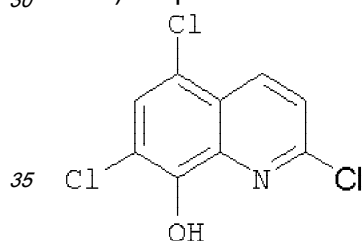


и

d) расщепление соединения 12 треххлористым бором с последующей обработкой метанолом для получения PBT 1056.

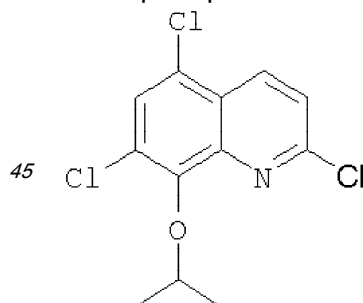
22. Способ получения соединения PBT 1052, соответствующего п.20, содержащий следующие операции:

а) нагревание смеси соединения 10



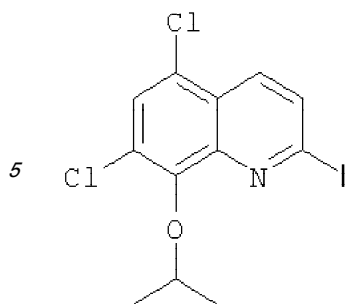
10

2-бромпропана и безводного карбоната калия для получения соединения 13



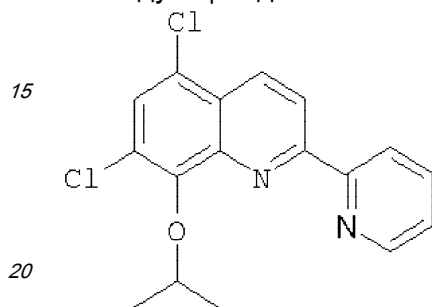
13

b) нагревание смеси соединения 13, йодида натрия и ацетилхлорида для получения соединения 14



10 14

с) добавление бис-(трифенилфосфин)-палладийхлорида к соединению 14 с последующим добавлением 2-пиридилцинкбромида для получения соединения 15



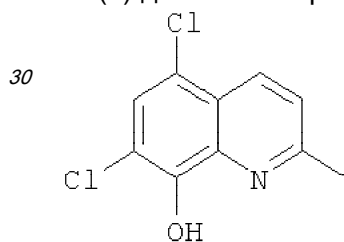
15

и

25 d) добавление треххлористого бора к соединению 15.

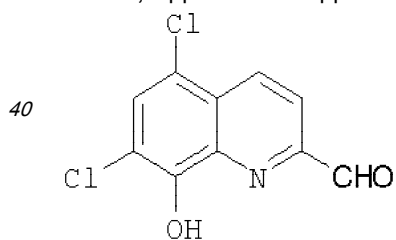
23. Способ получения соединений PBT 1051 и PBT 1033, соответствующих п.20, содержащий следующие операции:

(а) добавление раствора соединения 16



16

в 1,4-диоксане к диоксиду селена в 1,4-диоксане для получения соединения 17



17

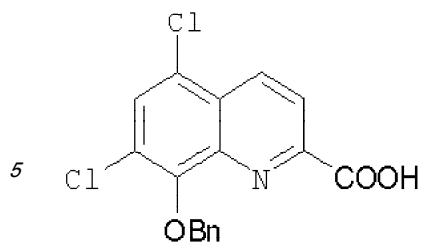
и

(b) добавление триэтиламина к раствору соединения 17 и диметиламингидрохлорида для получения PBT 1033 или

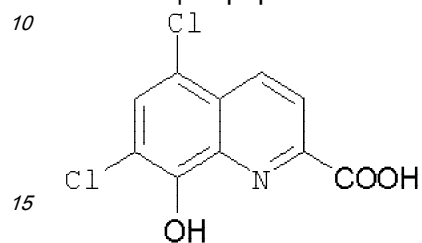
(с) добавление триэтиламина к раствору соединения 17 и этиламингидрохлорида для получения PBT 1051

50 24. Способ получения соединений PBT 1038 и PBT 1050, соответствующих п.20, содержащий следующие операции:

(а) смешивание соединения 18

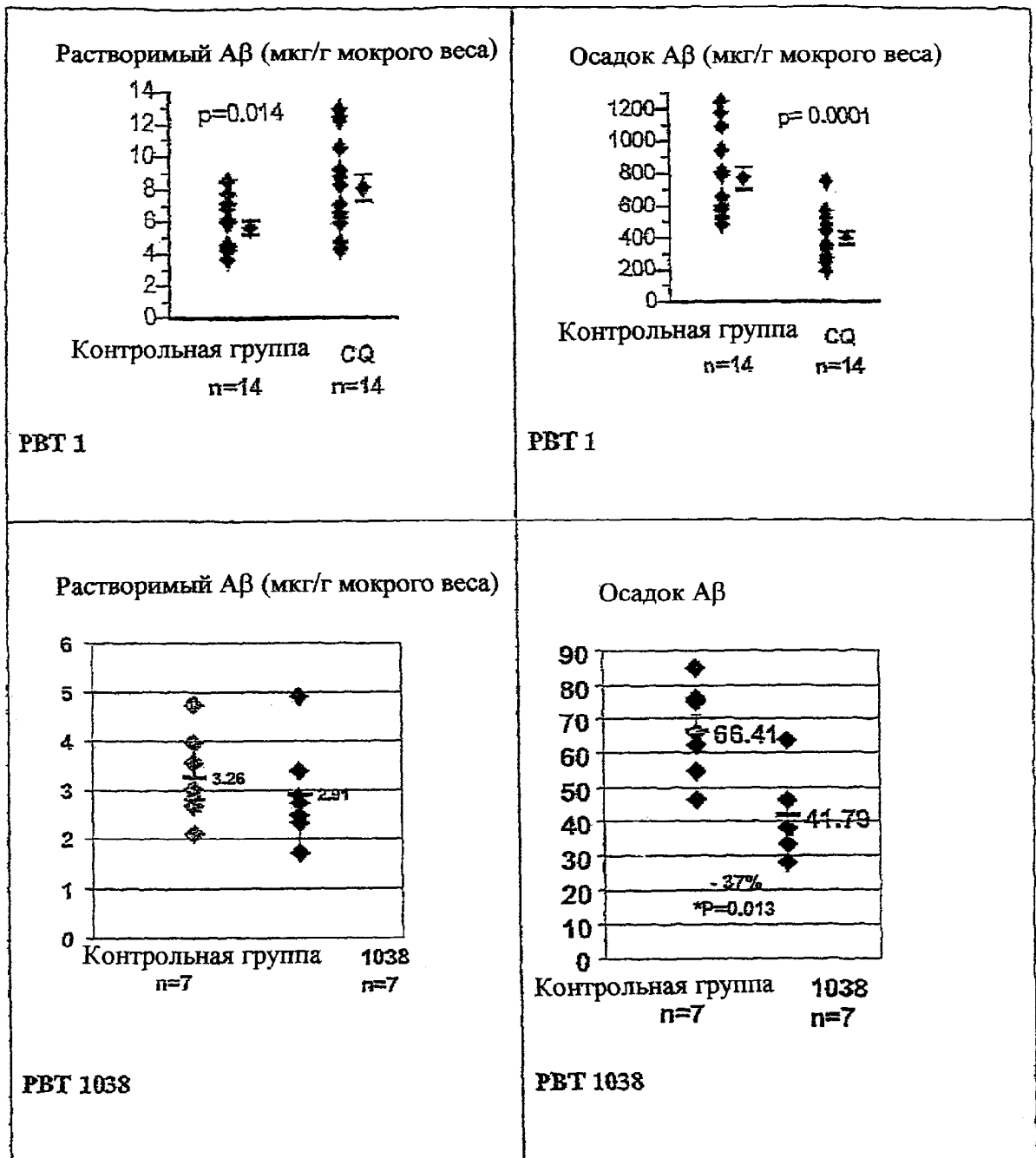


с концентрированной соляной кислотой для получения соединения 19

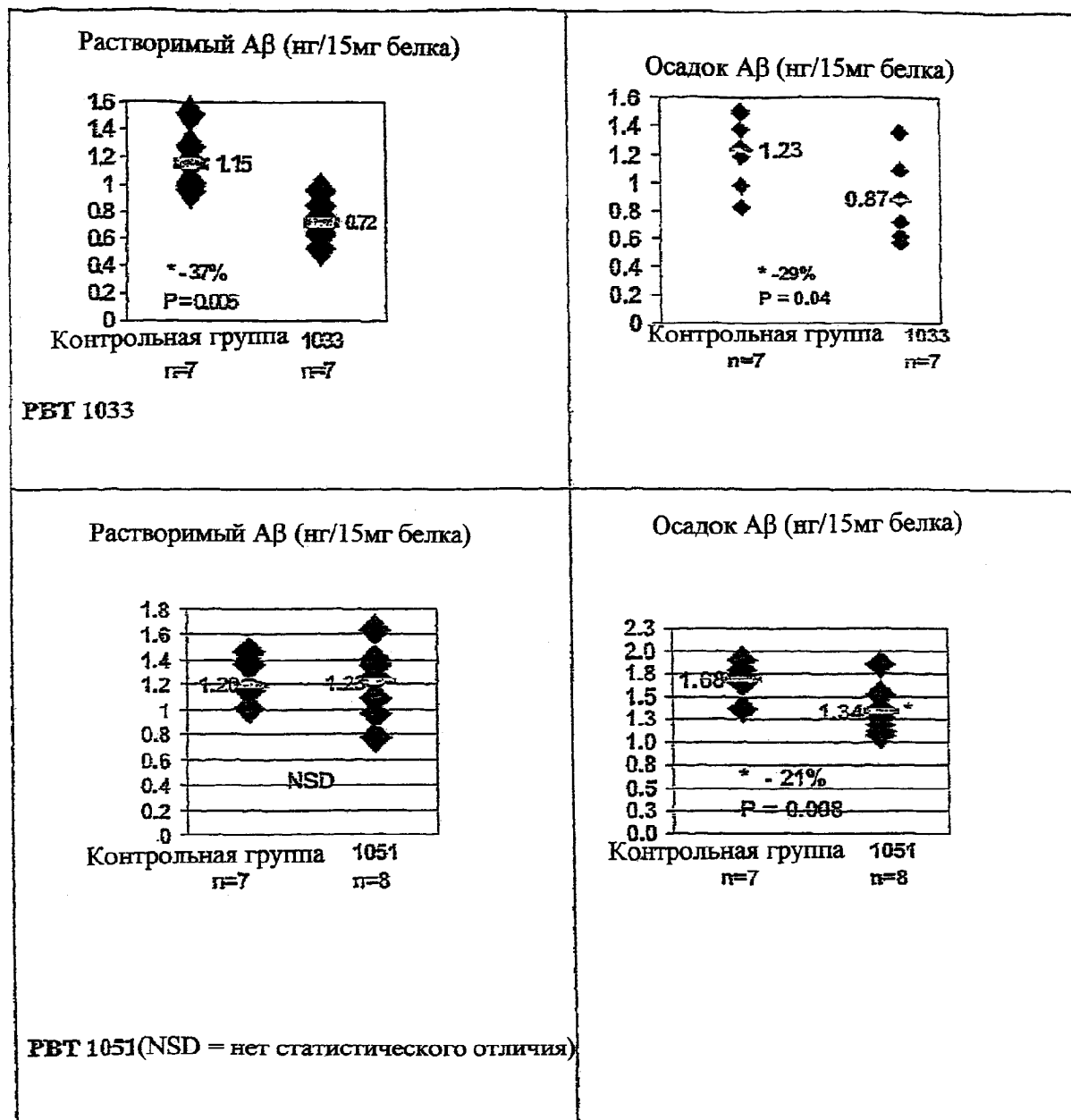


(b) обработка соединения 19 дициклогексилкарбодиимидом, 1-гидроксibenзотриазолгидратом, гистаминдигидрохлоридом и триэтиламино́м для получения PBT 1038 или

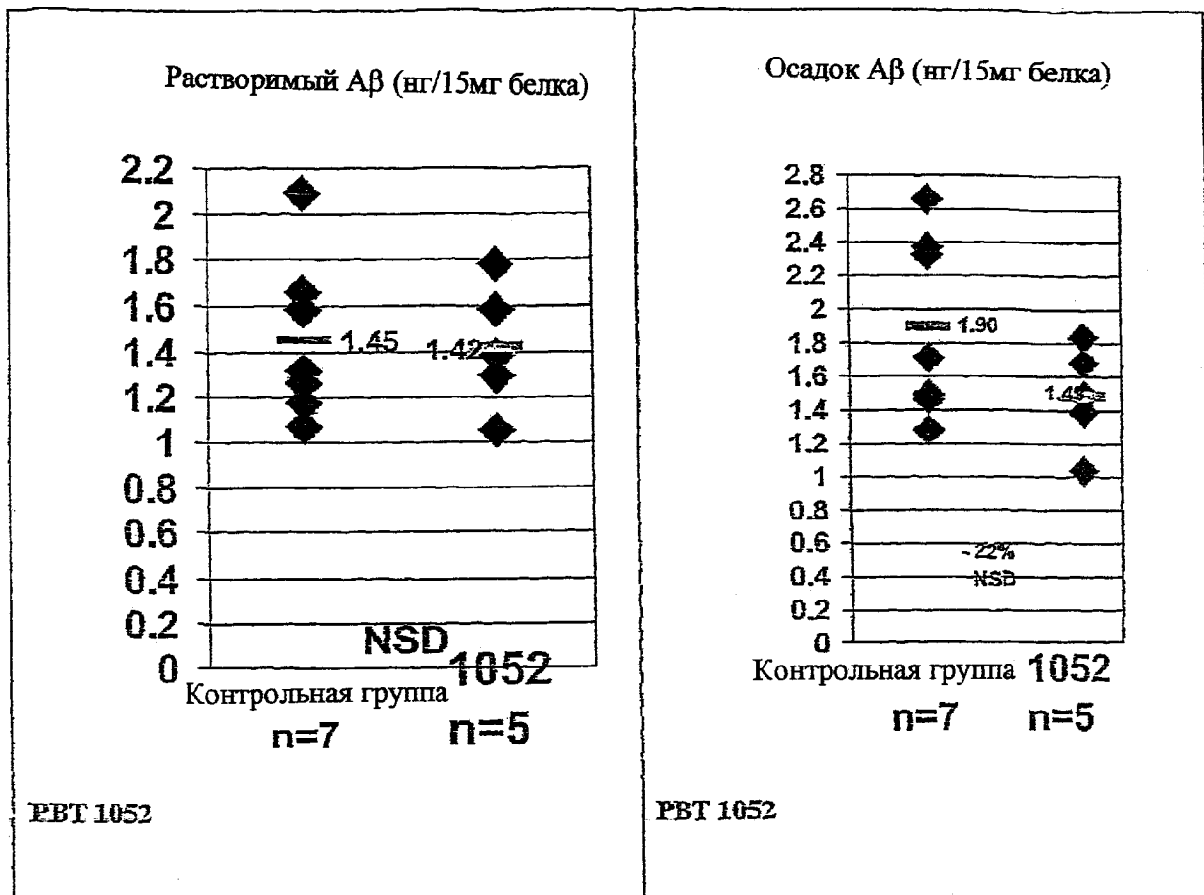
(с) обработка соединения 19 дициклогексилкарбодиимидом, 1-гидроксibenзотриазолгидратом, 1-метил-1Н-гистаминдигидрохлоридом и триэтиламино́м для получения PBT 1050.



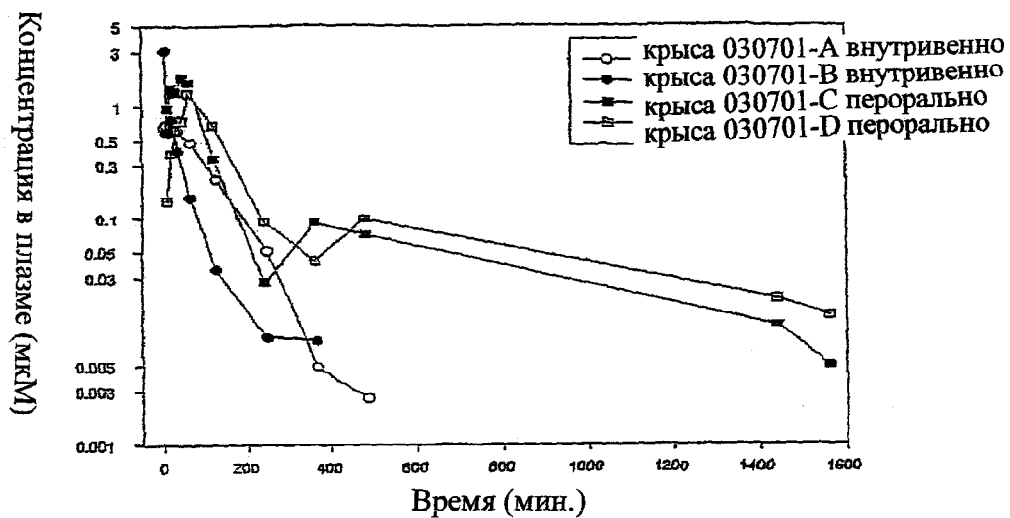
Фиг. 1



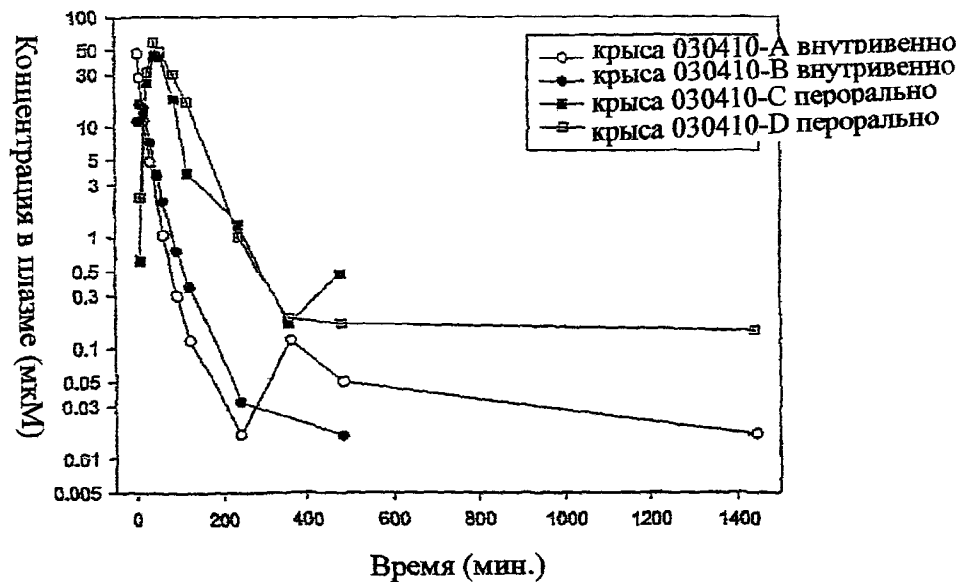
Фиг. 2



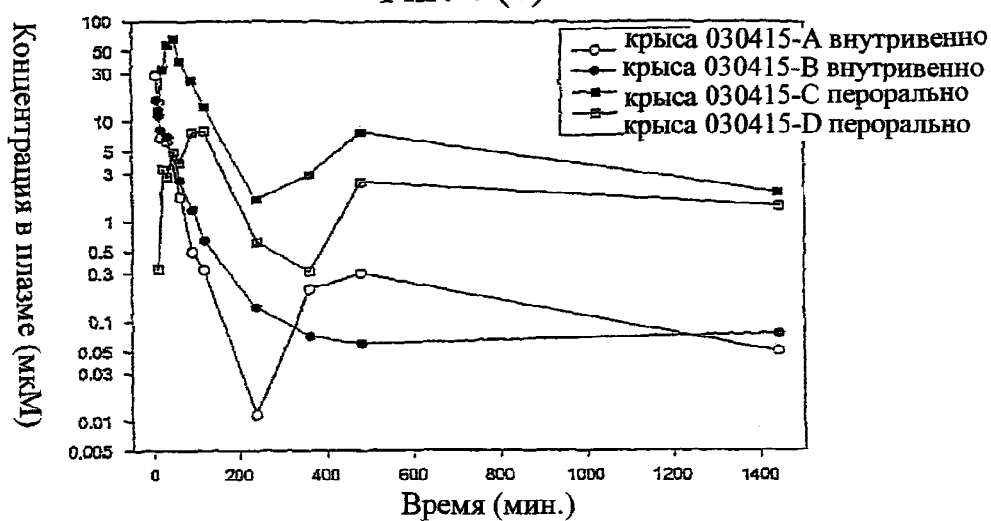
Фиг. 3



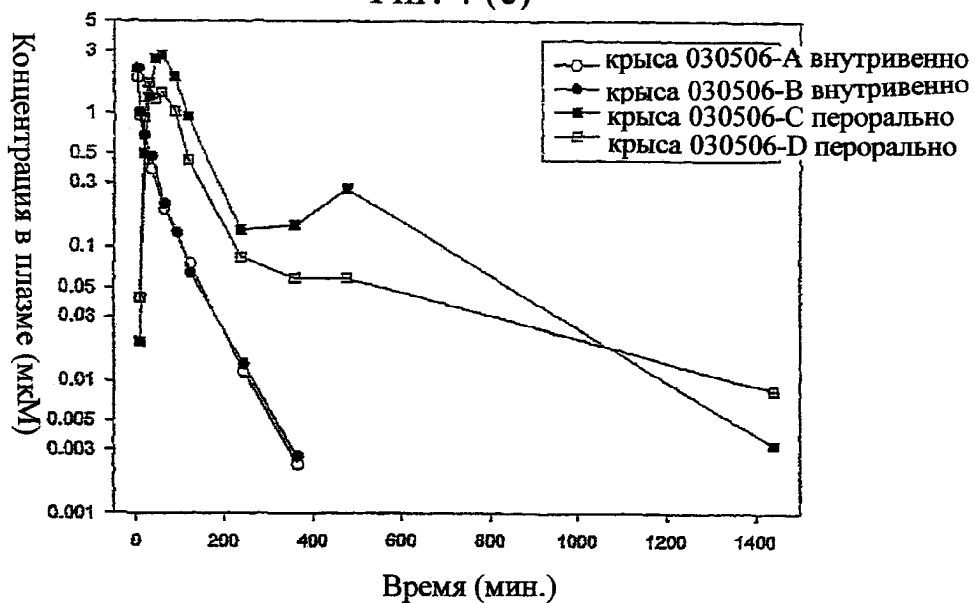
Фиг. 4 (а)



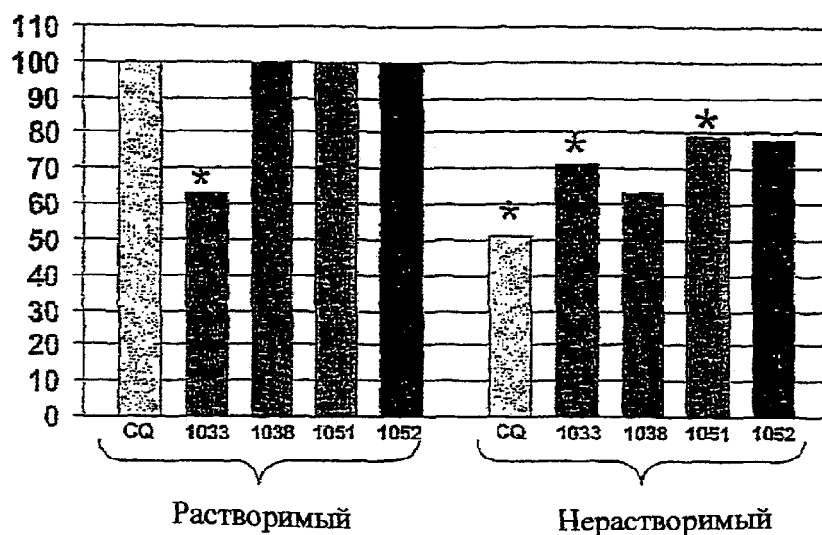
Фиг. 4 (b)



Фиг. 4 (c)



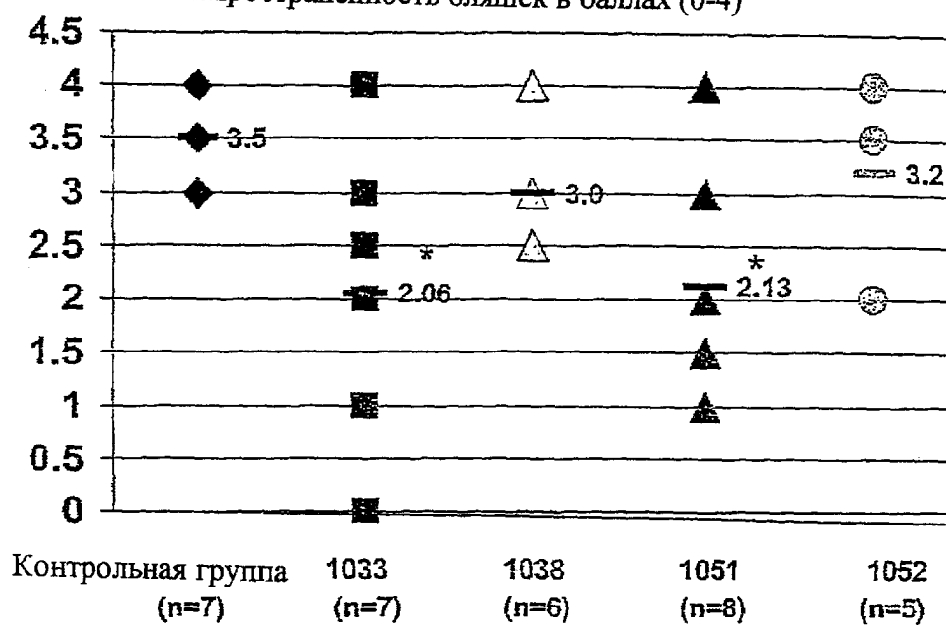
Фиг. 4 (d)



*значительно, $P \leq 0.05$

Фиг. 5

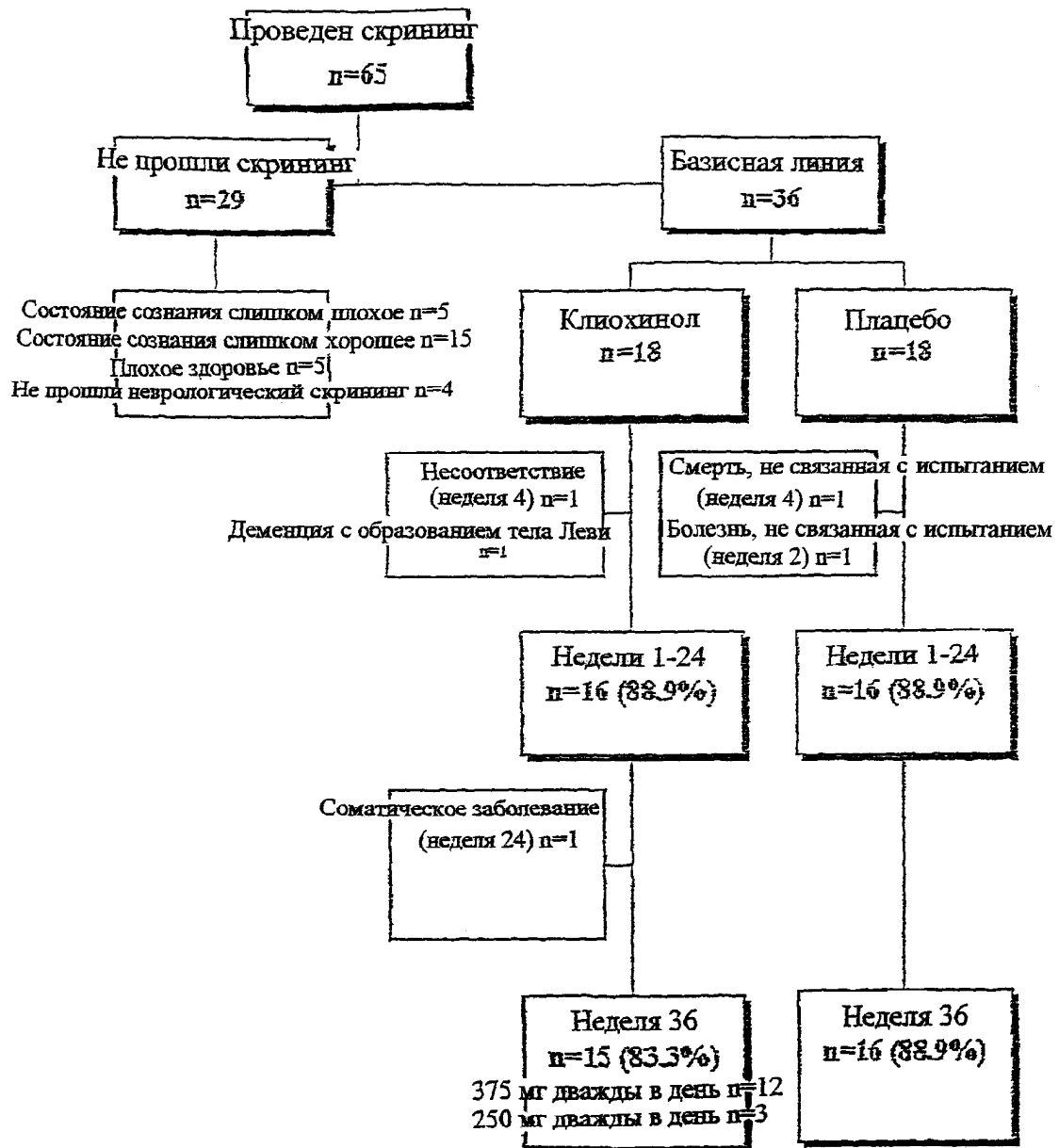
Распространенность бляшек в баллах (0-4)



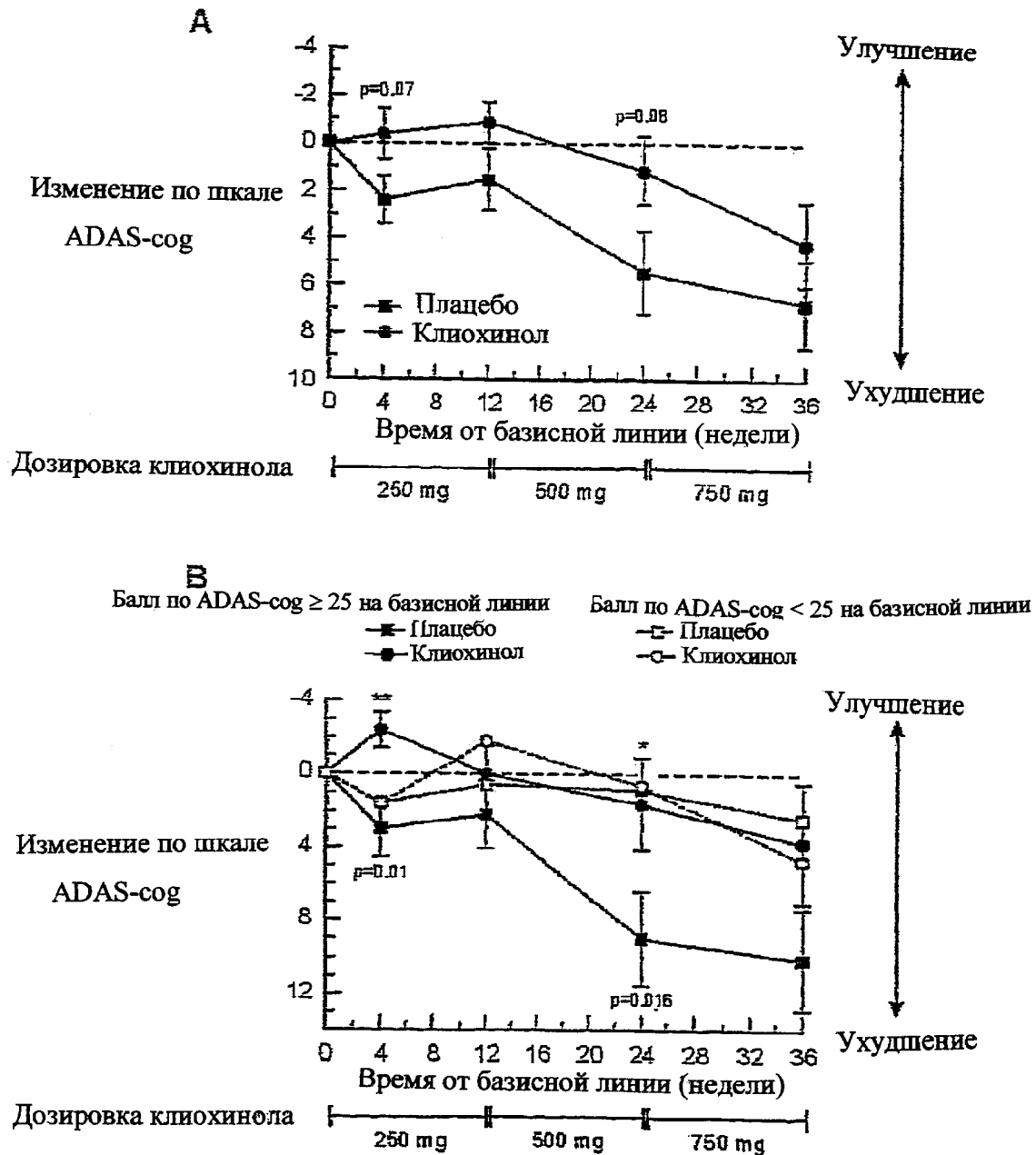
*значительно, $P \leq 0.05$

Фиг. 6

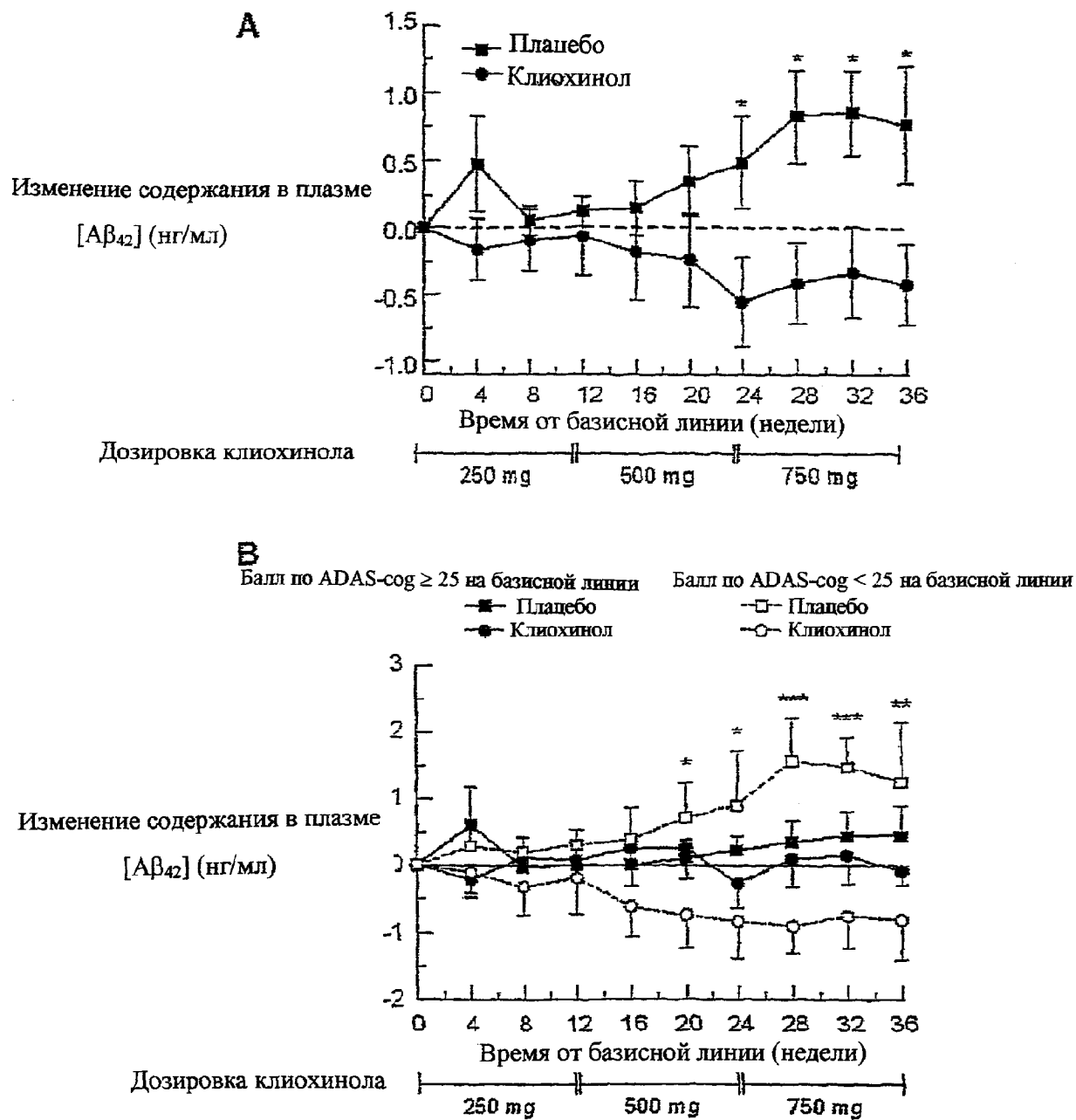
Учет испытуемых



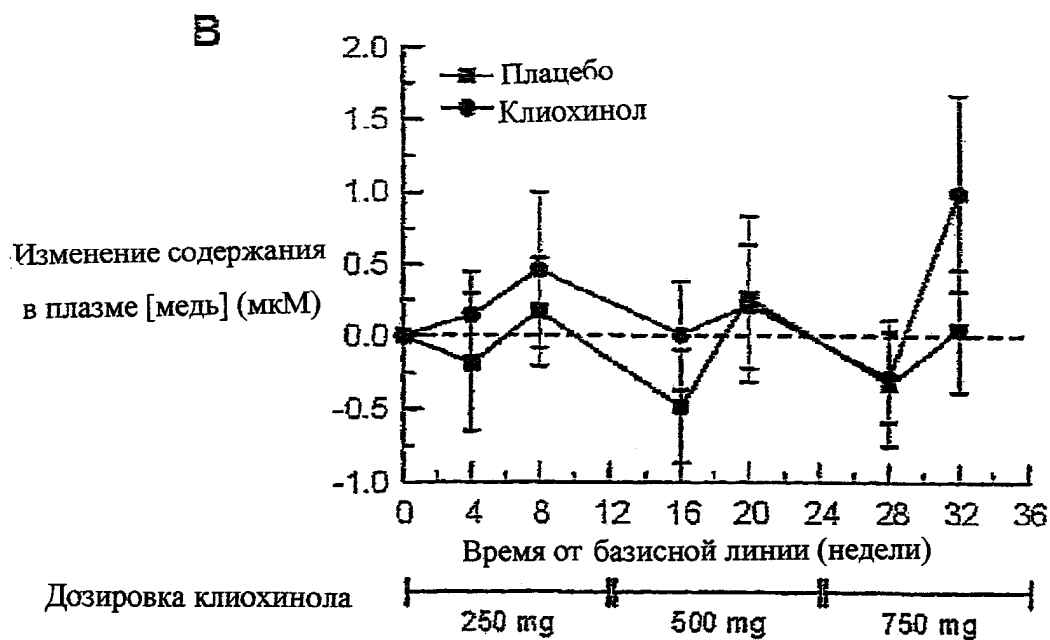
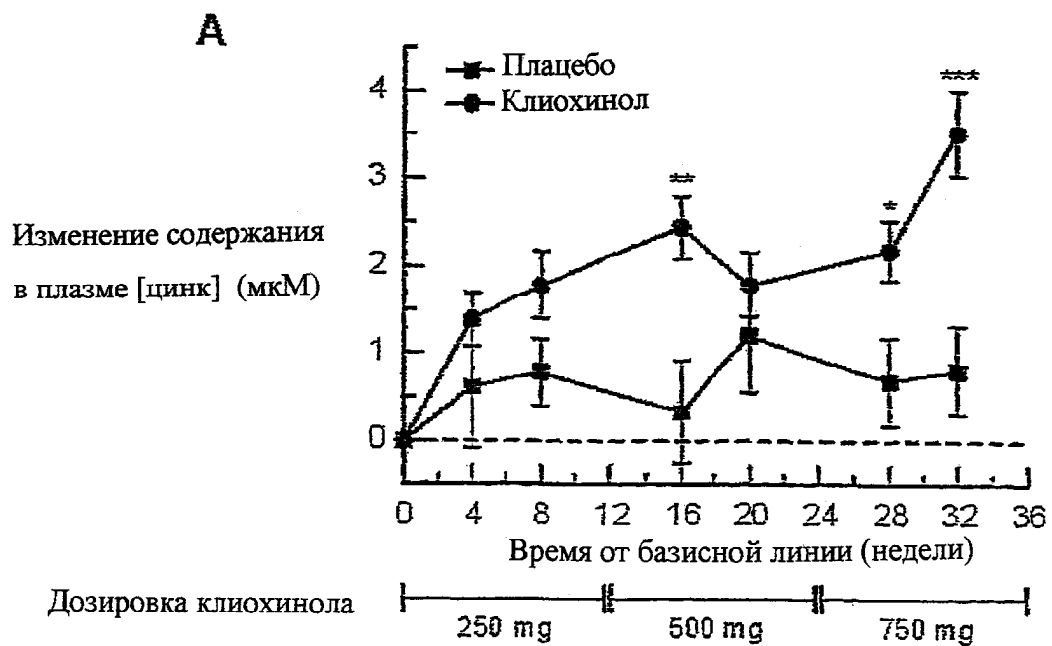
Фиг. 7



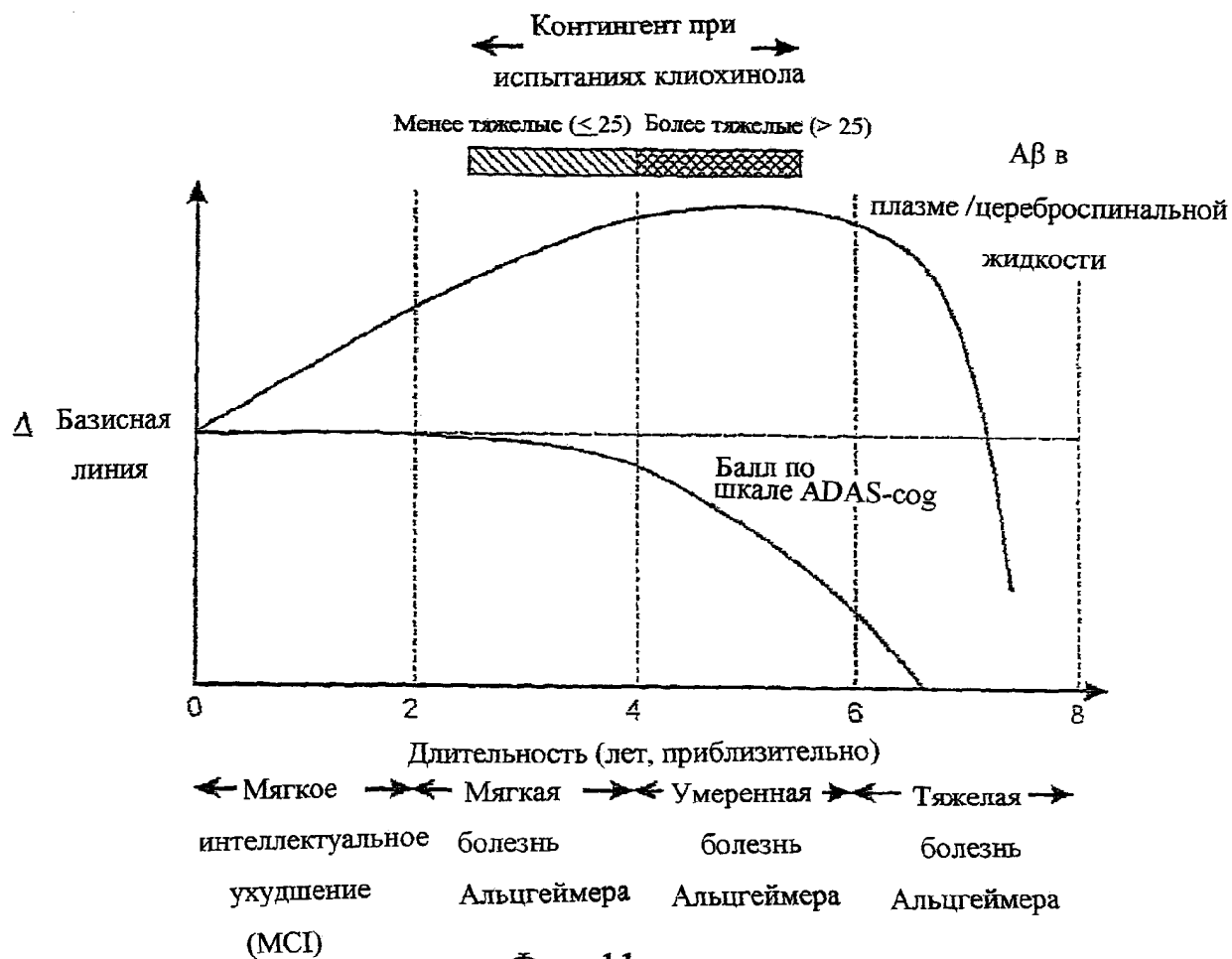
Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10



Фиг. 11