



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

(22) Přihlášeno 09 09 83
(21) [FV 6586-83]

(40) Zveřejněno 17 09 84

(45) Vydáno 15 02 87

235167
(11) (B1)

(51) Int. Cl.³
C 07 D 471/04

(75)
Autor vynálezu

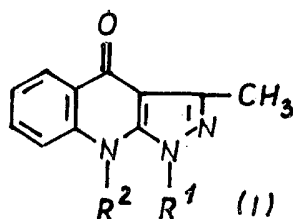
ZIKÁN VIKTOR ing. CSc., RÁDL STANISLAV ing.,
ŠMEJKAL FRANTIŠEK RNDr. CSc., ZELENÁ DANA RNDr., PRAHA

(54) Substituované 4,9-dihydro-3-methyl-4-oxo-1H-pyrazolo(3,4-b)chinoliny a způsob jejich výroby

1

2

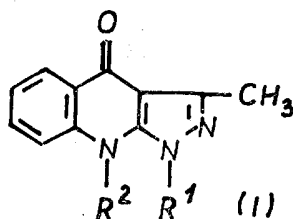
Vynález se týká substituovaných 4,9-dihydro-3-methyl-4-oxo-1H-pyrazolo(3,4-b)chinolinů obecného vzorce I



kde R¹ i R² značí atom vodíku, nebo R¹ i R² značí methylskupinu, nebo R¹ je methylskupina a R² je ethoxykarbonylmethylskupina nebo karboxymethylskupina, a způsobu jejich přípravy.

Tyto nové, dosud nepopsané látky vykazují protivirovou aktivitu proti viru chřipky A-Hongkong a proti viru encefalomyokarditidy u myši.

Vynález se týká substituovaných 4,9-dihydro-3-methyl-4-oxo-1H-pyrazolo[3,4-b]chinolinů obecného vzorce I



kde R¹ i R² značí atom vodíku, nebo R¹ i R² značí methylskupinu nebo R¹ je methylskupina a R² je ethoxykarbonylmethylskupina nebo karboxymethylskupina.

Tyto nově, dosud nepopsané látky vykazují protivirovou aktivitu proti viru A2-Hongkong a proti viru encefalomyokarditidy (EMC) u myší.

Sloučeninu obecného vzorce I, kde R¹ i R² je atom vodíku, lze podle vynálezu připravit cyklizací o sobě známé kyseliny 3-anilino-5-methyl-4-pyrazolkarboxylové (Crenshaw R. R., Luke M. G., Siminoff P.: J. Med. Chem. 19, 262 [1976] kyselinou polyfosforečnou při teplotě 80 °C až 150 °C, výhodně při teplotě 90 °C.

Sloučeninu obecného vzorce I, kde R¹ i R² je methylskupina, lze připravit podle vynálezu alkylací sodné soli o sobě známého 4,9-dihydro-1,3-dimethyl-4-oxo-1H-pyrazolo[3,4-b]chinolinu [Stein R. G., Biel J. H.: J. Med. Chem. 13, 153 [1973]], methyljodidem a dimethylformamidu při teplotě 0 °C až 30 °C, výhodně při teplotě 20 °C.

Sloučeninu obecného vzorce I, kde R¹ je methylskupina a R² je karboxymethylskupina, lze připravit alkalickým zmýdlením sloučeniny obecného vzorce I, kde R¹ je methylskupina a R² je ethoxykarbonylmethylskupina. Zmýdlení se provádí vodněmetanolickým roztokem hydroxidu sodného při teplotě 0 °C až 30 °C, výhodně při teplotě 20 °C.

Sloučeninu obecného vzorce I, kde R¹ je methylskupina a R² je ethoxykarbonylmethylskupina, lze připravit podle vynálezu alkylací 4,9-dihydro-1,3-dimethyl-4-oxo-1H-pyrazolo[3,4-b]chinolinu bromoctanem

ethylnatým v acetonu za přítomnosti uhlíčitanu draselného a jodidu draselného za varu pod zpětným chladičem.

Uvedené sloučeniny podle vynálezu patří mezi skupinu látek s protivirovými účinky. U uvedených sloučenin byly tyto účinky zjišťovány a hodnoceny proti viru chřipky A2-Hongkong a proti viru encefalomyokarditidy (EMC) u myší.

Hodnocení účinnosti proti viru chřipky A2-Hongkong u myší

Byly užity samice bílých myší SPF (Velaz) o hmotnosti 10 až 11 g. Virus byl aplikován myším v lehké etherové narkóze intranasálně. Množství LD₅₀ viru bylo stanoveno v samostatném pokuse a bylo vypočítáno podle REEDA a MUENCHA [Reed L. J., Muench H.: Amer. J. Hyg. 27, 493 (1938)]. Pro testování protivirové účinnosti byly voleny tři koncentrace viru, lišící se vždy o 1 řád. Pro každou koncentraci bylo užito 7 myší. Neléčené myši hynuly na pneumonii podle použité koncentrace viru 3 až 10 dní po infekci. Zkoušené látky byly rozpuštěny v destilované vodě, nerozpuštěné byly suspendovány pomocí monoesteru kyseliny olejové a tripolyethylenglykolanhydrobisetherem (Tween 80). Zvířatům byly látky aplikovány per os sondou, nebo byly podávány subkutánně do řasy kůže na hřbetu vždy v objemu 0,2 ml. Myši byly léčeny 2× denně po dobu 5 dní (1 den před a 4 dny po infekci). Denní dávky byly 2 × 150 mg/kg. Účinnost byla posuzována podle prodloužení průměrné doby přežití v porovnání s neléčenou kontrolou.

Po perorálním podání byly účinné sloučeniny obecného vzorce I, kde R¹ je methylskupina a R² je karboxymethylskupina (prodlužuje dobu přežití myší proti 5 LD₅₀ viru o 42 % a proti 50 LD₅₀ viru o 20 %) a kde R¹ je methylskupina a R² je ethoxykarbonylmethylskupina (prodlužuje dobu přežití myší proti 50 LD₅₀ viru o 36 %).

Hodnoty účinnosti látek obecného vzorce I proti viru chřipky A2-Hongkong u myší po subkutánním podání jsou shrnuty v tabulce I a jsou uvedeny v prodloužení průměrné doby přežití v %.

TABULKA I

R ¹	R ²	0,5 LD ₅₀	5 LD ₅₀	50 LD ₅₀
H	H	72	37	0
CH ₃	CH ₂ COOC ₂ H ₅	30	54	7
CH ₃	CH ₂ COOH	—	16	11
CH ₃	CH ₃	—	32	48

Hodnocení účinnosti proti viru EMC u myši

Byly užity samice bílých myši SPF (Vezlax) o hmotnosti 10 až 11 g. Virus byl myšim aplikován subkutánně v objemu 0,2 ml do záhybu kůže zad. Neléčené myši hynuly na koncentraci viru 3 až 7 dní po infekci. Množství viru bylo stanoveno způsobem uvedeným u hodnocení účinnosti proti viru chřipky. Subkutánní léčba byla prováděna čtyřmi dávkami po 100 mg/kg vždy 28, 22,

2 hodiny před a 2 hodiny po infekci. Perorální léčba byla provedena 24 hodin před infekcí jednorázovou dávkou 400 mg/kg. Vyhodnocení účinnosti bylo prováděno stejně jako při hodnocení účinnosti látek proti viru chřipky.

Hodnoty účinnosti látek obecného vzorce I proti viru EMC u myši po subkutánním podání jsou shrnuty v tabulce II a jsou uvedeny v prodloužení průměrné doby přežití v procentech.

TABULKA II

R ¹	R ²	5 LD ₅₀	50 LD ₅₀
H	H	96	29
CH ₃	CH ₃	44	70
CH ₃	CH ₂ COOC ₂ H ₅	52	100
CH ₃	CH ₂ COOH	68	164

Jak plyne z uvedených údajů, jsou sloučeniny obecného vzorce I účinné proti viru A2-Hongkong a proti viru EMC. Způsob přípravy sloučenin je jednoduchý a byl proveden způsobem podle vynálezu. Bližší podrobnosti vyplývají z následujících příkladů provedení. Příklady provedení uvedený vynález pouze ilustrují, nikoliv omezují.

Příklad 1

4,9-dihydro-3-methyl-4-oxo-1H-pyrazolo-[3,4-b]chinolin

Směs 10 g kyseliny 3-anilino-5-methyl-4-pyrazolkarboxylové (50 mmolů) a 75 g kyseliny polyfosforečné o obsahu 85 % kyslíčnicku fosforečného, byla míchána 4 hodiny při teplotě 90 °C. Po přidání 350 ml vody byla reakční směs ochlazená na teplotu 5 °C a při této teplotě míchána 1 hodinu. Vyloučená látka byla odsáta a promyta vodou. Překrystalování z ethanolu bylo získáno 8,8 g látky (88 %) o t. t. 333 °C až 336 °C.

Příklad 2

4,9-dihydro-1,3,9-trimethyl-4-oxo-1H-pyrazolo[3,4-b]chinolin

K roztoku 2,13 g 4,9-dihydro-1,3-dimethyl-4-oxo-1H-pyrazolo[3,4-b]chinolinu (10 mmolů) ve 25 ml dimethylformamidu bylo přidáno 0,36 g 80% hydridu sodného (12 mmolů) a směs byla míchána 1 hodinu pod dusíkem při teplotě 20 °C. Potom bylo přikapáno 1,69 g methyljodidu (12 mmolů) a směs byla míchána 5 hodin při teplotě 20 °C. Po přidání dalších 1,13 g methyljodidu (8 mmolů) byla směs míchána další 2 hodiny. Po přidání 50 ml vody a po ochlazení byla vyloučená látka odsáta a promyta vodou. Překrystalováním z methanolu by-

lo získáno 1,77 g látky (77,9 %) o t. t. 223,7 °C až 224,8 °C.

Příklad 3

4,9-dihydro-9-ethoxykarbonylmethyl-1,3-dimethyl-4-oxo-1H-pyrazolo[3,4-b]chinolin

K suspenzi 2,13 g 4,9-dihydro-1,3-dimethyl-4-oxo-1H-pyrazolo[3,4-b]chinolinu (10 mmolů) v 50 ml suchého acetonu bylo přidáno 1,37 g bezvodého uhličitánu draselného, 0,33 g jodidu draselného a 1,67 g bromoctanu ethylnatého (10 mmolů) a směs byla vařena pod zpětným chladičem 6 hodin za míchání. Po přidání 0,84 g bromoctanu ethylnatého (5 mmolů) a 0,69 g uhličitánu draselného byla směs vařena pod zpětným chladičem další 4 hodiny. Chladná reakční směs byla vlita do 200 ml vody, nerozpustný podíl byl odsát a promyt vodou. Krystalizací z acetonu bylo získáno 1,35 g látky (45,1 %) o t. t. 213,2 °C až 215,0 °C.

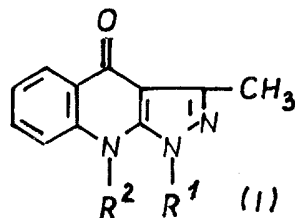
Příklad 4

4,9-dihydro-9-karboxymethyl-1,3-dimethyl-4-oxo-1H-pyrazolo[3,4-b]chinolin

Směs 1,2 g 4,9-dihydro-9-ethoxykarbonylmethyl-4-oxo-1,3-dimethyl-1H-pyrazolo[3,4-b]chinolinu (4 mmoly), 24 ml methanolu a 16 ml 1,5 M roztoku hydroxidu sodného byla míchána 1 hodinu při teplotě 20 °C. Potom byl vzniklý roztok prolit sloupcem silně kyselého katexu převedeného do kyselého cyklu a promytého 50% vodným methylalkoholem (použito 40 g Zerolitu 225 SRC 10). Sloupec byl promýván 50% vodným methanolem, roztok prošlý sloupcem byl odpařen k suchu a odparek byl překrystalován z methanolu. Bylo získáno 0,97 gramu látky (89,4 %) o t. t. 218,7 až 220,6 °C.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Substituované 4,9-dihydro-3-methyl-4-oxo-1H-pyrazolo[3,4-b]chinoliny obecného vzorce I



kde R^1 i R^2 značí atom vodíku, nebo R^1 i R^2 značí methylskupinu, nebo R^1 je methylskupina a R^2 je ethoxykarbonylmethylskupina nebo karboxymethylskupina.

2. Způsob přípravy sloučeniny podle bodu 1 vzorce I, kde R^1 i R^2 je atom vodíku, vyznačující se tím, že se kyselina 3-anilino-5-methyl-4-pyrazolkarboxylová zahřívá s kyselinou polyfosforečnou při teplotě 80 °C až 150 °C, výhodně při teplotě 90 °C.

3. Způsob přípravy sloučeniny podle bodu 1 vzorce I, kde R^1 i R^2 je methylskupina,

vyznačující se tím, že se sodná sůl 4,9-dihydro-1,3-dimethyl-4-oxo-1H-pyrazolo-(3,4-b)chinolinu methyluje methyljodidem v dimethylformamidu při teplotě 0 °C až 30 °C, s výhodou při teplotě 20 °C.

4. Způsob přípravy sloučeniny podle bodu 1 vzorce I, kde R^1 je methylskupina a R^2 je ethoxykarbonylmethylskupina, vyznačující se tím, že se 4,9-dihydro-1,3-dimethyl-4-oxo-1H-pyrazolo[3,4-b]chinolin alkyluje bromoctanem ethylnatým v acetonu za přítomnosti bezvodého uhličitanu draselného a jodidu draselného za varu pod zpětným chladičem.

5. Způsob přípravy sloučeniny podle bodu 1 vzorce I, kde R^1 je methylskupina a R^2 je karboxymethylskupina, vyznačující se tím, že se 4,9-dihydro-9-ethoxykarbonylmethyl-1,3-dimethyl-4-oxo-1H-pyrazolo[3,4-b]chinolin zmýdelní ve vodně-methanolovém roztoku hydroxidu sodného při teplotě 0 °C až 30 °C, výhodně při teplotě 20 °C, a vzniklá sodná sůl se převede na volnou kyselinu pomocí silně kyselého katexu v kyselém cyklu.