

(19)



(10)

LT 4591 B

(12)

PATENTO APRAŠYMAS

(11) Patento numeris: **4591**

(51) Int. Cl.⁶: **C07D 471/04**

(21) Paraiškos numeris: **99-007**

A61K 31/50

//(C07D 471/04

237:00

(22) Paraiškos padavimo data: **1999 01 25**

221:00)

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1999 07 26**

(45) Patento paskelbimo data: **1999 12 27**

(86) Tarptautinės paraiškos numeris: **PCT/EP97/04057**

(86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: **1997 07 25**

(85) Nacionalinės procedūros pradžia: **1999 01 25**

(31, 32, 33) Prioritetas: **686346, 1996 07 25, US**

(72) Išradėjas:

Wojciech Danysz, DE

Markus Gold, DE

Ivars Kalvinsh, LV

Christopher Graham Raphael Parsons, DE

Irene Piskunova, LV

Eugene Rozhkov, LV

(73) Patento savininkas:

MERZ + CO GmbH & CO,

Eckenheimer Landstrasse 100-104, D-60318 Frankfurt am Main, DE

(74) Patentinis patikėtinis:

Marius Jakulis-Jason, 3, A.A.A.Baltic Service Company,

Rūdninkų g. 18/2-12, 2001 Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Piridazin-[4,5-B]-chinolinų 5-oksido dariniai, jų gavimo būdas ir jų, kaip glicino antagonistų, panaudojimas

(57) Referatas:

Piridilftalazindionai, turintys formulę (I), kurioje R1 ir R2 yra parinkti iš grupės, susidedančios iš vandenilio, halogeno ir metoksigrupės, arba kurioje R1 ir R2 kartu sudaro metilendioksigrupę, ir jų farmaciškai priimtinos druskos, ir farmacinės kompozicijos, turinčios savyje efektyvų glicinui-B antagonistinį jų kiekį, skirti neurologinių susirgimų, susijusių su ekscitotoksiškumu ir glutamaterginės neurotransmisijos sutrikimais gyvūnuose, įskaitant žmogų, gydymui.

Išradimas apima naujus cheminius junginius, kurie yra
5 piridofthalazindionai, juos turinčias farmacines kompozicijas ir jų panaudojimą
prieš neurologinius susirgimus, susijusius su ekscitotoksiškumu ir
glutamaterginės neurotransmisijos sutrikimais.

Išradimo prielaidos ir technikos lygis

10

Glutamatas yra, tikriausiai, pagrindinis dirgiklių mediatorius centrinėje
nervų sistemoje, bet jis taip pat dalyvauja daugelyje patologinių ir
ekscitotoksinių procesų. Šiuo požiūriu yra labai svarbu surasti glutamato
antagonistus terapiniam naudojimui (žiūr. apžvalgą Dansyz W., Parsons C.G.,
15 Bresik I., Quack G. (1995): *Drug News & Perspectives* 8, p. 261-277).
Glutamatas aktyvuoja tris pagrindinius jonotropinių receptorių tipus, būtent, α -
amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropano rūgštį (AMPA), kainatą ir N-metil-
D-aspartatą (NMDA) ir keletą metabotropinių receptorių tipų. Antagonistai
NMDA receptoriams potencialiai gali turėti platų terapinį pritaikymą. Funkcinis
20 NMDA receptorių inhibavimas gali būti įgyvendintas veikiant įvairius atpažinimo
sritis, tokias kaip pirminio pernešėjo sritį, strichninui nejautrią glicino sritį
(glicinas-B), poliamino sritį, ir fenilciklidino sritį, esančią katijonų kanalo viduje.

Receptorių desensibilizacija gali būti fiziologinis procesas,
įgyvendinantis endogeninės kontrolės mechanizmą, siekiant užkirsti kelią
25 ilgalaikiam glutamato receptorių neurotoksiniam aktyvavimui, bet leidžiant jų
trumpalaikį fiziologinį aktyvavimą. NMDA receptorių atveju ko-agonistas glicinas
yra endogeninis ligandas, inhibuojantis tokią desensibilizaciją per glicino-B
srities aktyvavimą. Įdomu, kad išemija padidina ne tik ekstraląstelinio glutamato
koncentraciją, bet ir glicino, ir, nors pastarasis efektas yra mažiau išreikštas, jis
30 faktiškai ilgiau išlieka. Taigi, kai kurie visiškai glicino-B antagonistai tokiose

sąlygose galėtų atstatyti normalų sinaptinį perdavimą, padidinant NMDA receptoriaus desensibilizaciją iki fiziologinio lygio. Iš tikrųjų, įvedimo į laboratorinių gyvuliukų centrinę nervų sistemą pagrindu pateikta mintis, kad glicino-B antagonistai galėtų pasiūlyti geresnę terapinę nišą, negu agentai, veikiantys kitose NMDA receptorių komplekso atpažinimo vietose. Deja, daugumos glicino-B antagonistų prastos farmakokinetinės savybės iki pastarojo meto nepatvirtino šio spėjimo, įvedant į organizmą. Tačiau pranešta, kad keletas glicino-B antagonistų, įvedus juos į organizmą, turi gerus terapinius indeksus hiperalgezijos modeliuose ir kaip anksiolitikai.

10

Išradimo aprašymas

Mes išradome triciklinių piridofthalazindionų serijas. I klasės junginiai yra panašios struktūros kaip *Zeneca* užpatentuoti glicino-B antagonistai (ICI, EP 0516297 A1, 1992.12.02). II klasės junginiai yra tų junginių N-oksida, ir nėra nei aprašyti, nei pasiūlyti *Zeneca* patente. II klasės junginiai taip pat yra stiprūs glicino-B antagonistai *in vitro*, ir rodo daug geresnį *in vivo* sisteminį prieinamumą ir/arba prasiskverbimą per hemato-encefalinį barjerą, negu I klasės junginiai. Be to, šių junginių druskos, gautos, pavyzdžiui, prijungiant choliną ir tetrametilamonį ($4-NH_3$), turi dar geresnį bioprieinamumą.

20

Nauji šio išradimo junginiai turi spėjamą tinkamumą, gydant tokius sutrikimus:

1. Ūmus ekscitotoksiškumas, toks kaip išemija insulto, traumos, hipoksijos, hipoglikemijos ir encefalopatijos atvejais.

25

2. Chroniški neurodegeneraciniai susirgimai, tokie kaip Alzheimerio liga, vaskuliarinė demencija, Parkinsono liga, Hantigtono liga, išsėtinė sklerozė, šoninė amiotrofinė sklerozė, AIDS-neurodegeneracija, smegenėlių atrofija, Ture sindromas, motorinių neuronų susirgimas, mitochondrinė disfunkcija, Korsakovo sindromas ir Kroisfeldo-Jakobo susirgimas.

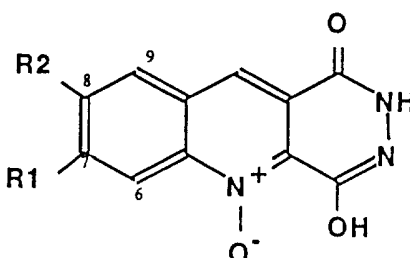
3. Kiti sutrikimai, susiję su ilgalaikiais plastiniais centrinės nervų sistemos pakitimais, tokiais kaip chroniškas skausmas, vaistų toleravimas, priklausomybė nuo jų ir įpratimas (pvz., opioidų, kokaino, benzodiazepinų ir alkoholio) ir vėlyva diskinezija.
- 5 4. Epilepsija (išplitusi ir daliniai traukuliai), šizofrenija, nerimas, depresija, raumenų spazmai ir užesys ausyse.

Išradimo tikslas

- 10 Šio išradimo tikslas yra pateikti naujus ir efektyvesnius junginius - piridofthalazindionus, jų farmacines kompozicijas ir neurologinių sutrikimų, susijusių su ekscitotoksiškumu ir glutamaterginės neurotransmisijos sutrikimais, gydymo šiais junginiais būdus. Dar vienas išradimo tikslas yra pateikti tokius naujus junginius, kompozicijas ir būdus, kurie patenkintų
- 15 aukščiau pateiktus teorinius reikalavimus. Papildomi tikslai bus aiškūs toliau, o dar kiti tikslai bus aiškūs šios srities specialistams.

Išradimo santrauka

- 20 Taigi, išradimas tarp kitų, pavieniui ar derinyje, apima šiuos aspektus:
Junginį, parinktą iš piridifthalazindionų, turintį formulę



kurioje R1 ir R2 yra parinkti iš grupės, susidedančios iš vandenilio, halogeno ir metoksigrupės, arba kurioje R1 ir R2 kartu sudaro metilendioksigrupę, ir jo farmaciškai priimtinas druskas;

5 tokį junginį, kuriame druska yra parinkta iš cholino ir 4-tetrametilamonio jo druskų;

tokį junginį, kuris yra parinktas iš grupės, susidedančios iš

4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,

8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,

10 8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,

8-fluor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,

15 7,8-dichlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,

7-brom-8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido, ir

7-chlor-8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido, ir iš bet kurio iš aukščiau pateiktų farmaciškai priimtinos druskos; ir

20 tokį junginį, parinktą iš grupės, susidedančios iš

4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

25 8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

8-fluor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

30 7,8-dichlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

7-brom-8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino
5-oksido cholino druskos, ir

7-chlor-8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino
5-oksido cholino druskos;

5 be to, apima farmacinę kompoziciją, turinčią savo sudėtyje kaip aktyvų
ingredientą tokio junginio efektyvų glicinui-B antagonistinį kiekį;

tokią farmacinę kompoziciją, turinčią savo sudėtyje kaip aktyvų
ingredientą tokio junginio efektyvų glicinui-B antagonistinį kiekį to junginio
cholino druskos pavidale;

10 tokią farmacinę kompoziciją, turinčią savo sudėtyje kaip aktyvų
ingredientą efektyvų glicinui-B antagonistinį kiekį junginio, parinkto iš grupės,
susidedančios iš

4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,

8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksi-

15 do,

8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksi-

do,

8-fluor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksi-

do,

20 7,8-dichlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-
oksido,

7-brom-8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino
5-oksido, ir

25 7-chlor-8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino
5-oksido, arba iš bet kurio iš jų farmaciškai priimtinos druskos;

tokią farmacinę kompoziciją, turinčią savo sudėtyje kaip aktyvų
ingredientą efektyvų glicinui-B antagonistinį kiekį junginio, parinkto iš grupės,
susidedančios iš

30 4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido choli-
no druskos,

8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

5 8-fluor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

7,8-dichlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

10 7-brom-8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos, ir

7-chlor-8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos;

15 be to, apima tokio junginio - glicino-B antagonistu ar farmacinės kompozicijos efektyvaus kiekio taikymą neurologinių susirgimų, susijusių su ekscitotoksiškumu ir glutamaterginės transmisijos sutrikimais gyvūnuose, gydymui;

tokį taikymą, kuriame junginys yra jo cholino druskos pavidale;

tokį taikymą, kuriame junginys yra parinktas iš grupės, susidedančios iš 4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,

20 8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,

8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,

25 8-fluor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,

7,8-dichlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,

7-brom-8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido, ir

7-chlor-8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido, arba iš bet kurio iš jų farmaciškai priimtinos druskos;

be to, apima tokio junginio - glicino-B antagonisto ar farmacinės kompozicijos efektyvaus kiekio taikymą neurologinių susirgimų, susijusių su
5 ekscitotoksiškumu ir glutamaterginės transmisijos sutrikimais gyvūnuose, gydymui, kai junginys yra parinktas iš grupės, susidedančios iš:

4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido
10 do cholino druskos,

8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

8-fluor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

7,8-dichlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido
15 cholino druskos,

7-brom-8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos, ir

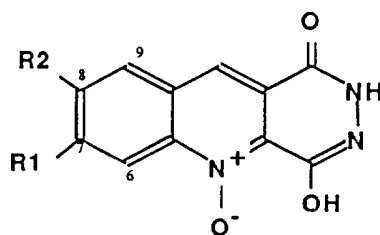
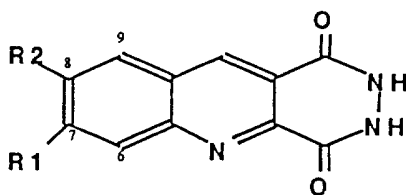
7-chlor-8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino
20 5-oksido cholino druskos.

Smulkus išradimo aprašymas

Toliau pateikiami aptarimas, pavyzdžiai ir farmakologinė dalis siekia
25 iliustruoti šį išradimą, bet jo neapriboja.

Metodikos ir rezultatai

I ir II klasių triciklinių piriđoftalazindionų pagrindinė struktūra:



R1/R2 = H ir/arba halogenas;

5 R1/R2 = H ir/arba O-CH₃;

R1/R2 = H ir/arba metilendioksigrupė;

Chemija

10 **Bendra chinolin-2,3-dimetildikarboksilatų 1-oksidų (3) gavimo metodika.**

Atšaldytas ledo vonioje 2-nitrobenzaldehido **1** (25 mM) ir natrio (27 mM) tirpalas sausame metanolyje (40 ml) per 30 min. paveikiamas dimetil(dietoksifosfinil)sukcinatu **2** (30 mM, pagamintas pagal metodiką, aprašytą S.Linke et al., *Lieb. Ann. Chem.*, 1980(4), 542) sausame metanolyje (10 ml). Susidaręs tamsus tirpalas 1,5 val. maišomas 0-5 °C temperatūroje, tirpiklis nugarinamas vakuume, o liekana paskirstoma tarp etilo acetato ir vandens. Etilo acetatas išdžiovinamas natrio sulfatu, po to nugarinamas vakuume. Liekana perkristalinama iš izopropanolio ir gauna chinolin-2,3-

15

20

dimetildikarboksilato 1-oksida¹ nevisai baltų (arba šviesiai geltonų) miltelių pavidale.

Junginių **3** fizikinės savybės ir ¹H-BMR spektrų duomenys pateikti 1 ir 2 lentelėse.

5

a. 5-Brom-4-chlor-2-nitrobenzaldehydas (1f).

I sulfato rūgšties (40 ml) ir natrio nitrato (2,66 g, 31,3 mM) mišinį 0-5 °C temperetūroje sudedamas 3-brom-4-chlorbenzaldehydas (6,25 g, 28,5 mM). Susidaręs mišinys 7 val. maišomas kambario temperatūroje, po to praskiedžiamas lediniu vandeniu (300 ml). Iškritusios nuosėdos nufiltruojamos, praplaunamos vandeniu ir išdžiovinus gauna miltelius. Šią medžiagą perkristalinus iš izopropanolio ir vandens (2:1), gauna antraštėje nurodytą 2-nitrobenzaldehydą **1f** (3,6 g, 51,5 %) šviesiai gelsvų miltelių pavidale; l. temp. 81-82 °C.

15

Analizės duomenys C₇H₃BrClNO₃:

apskaičiuota (%): C 31,79 H 1,14 N 5,30

gauta (%): C 31,55 H 0,98 N 5,09

¹H-BMR (CDCl₃), δ: 8,22 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 10,39 (s, 1H).

20

b. 4-Brom-5-chlor-2-nitrobenzaldehydas (1g).

Pagal (a) metodiką, bet pradedant nuo 4-brom-3-chlorbenzaldehydo (2,97 g, 13,5 mM), gauna antraštėje nurodytą **1g** junginį (1,9 g, 53,0 %) šviesiai geltonų miltelių pavidale; l. temp. 95-98 °C.

Analizės duomenys C₇H₃BrClNO₃:

25

apskaičiuota (%): C 31,79 H 1,14 N 5,30

gauta (%): C 31,60 H 1,01 N 5,11

¹H-BMR (CDCl₃), δ: 8,02 (s, 1H), 8,43 (s, 1H), 10,39 (s, 1H).

Bendra chinolin-2,3-dimetildikarboksilatų (7) gavimo metodika.

N-oksido 3 (10 mM) ir fosforo trichlorido (30 mM) tirpalas sausame choroforme (100 ml) virinamas su grįžtamu šaldytuvu 7 val. Tirpiklis pašalinamas vakuume, o liekana paskirstoma tarp etilo acetato ir vandens.

- 5 Organinis sluoksnis išdžiovinamas natrio sulfatu, po to nugarinamas vakuume. Liekaną perkristalina iš izopropanolio ir gauna antraštėje nurodytą chinolin-2,3-dimetildikarboksilatą 7 nevisai baltų (arba šviesiai geltonų) miltelių pavidale.

Junginių 7 fizikinės savybės ir ^1H -BMR spektrų duomenys pateikti 3 ir 4 lentelėse.

10

Bendra 4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolinų 5-oksido (5) gavimo metodika.

- Į maišomą chinolin-2,3-dimetildikarboksilato 1-oksido 3 (5 mM) tirpalą
15 (arba suspensiją) verdančiame etanolyje (25 ml) argono atmosferoje pridedama hidrazinhidrato (15 mM) ir mišinys virinamas su grįžtamu šaldytuvu 3 val., kol per tą laiką susidaro tamsios nuosėdos. Atšaldžius iki kambario temperatūros, reakcijos mišinys nufiltruojamas, o atskirta kieta medžiaga praplaunama etanoliu ir eteriu, išdžiovinama ir gauna hidrazino druską 4. Ši
20 medžiaga maišoma acto rūgštyje 70-110 °C temperatūroje 3 val., atšaldžius iki kambario temperatūros, mišinys praskiedžiamas vandeniu (45 ml) ir nufiltruojamas. Atskirta kieta medžiaga praplaunama etanoliu, išdžiovinama ir gauna tamsiai geltoną kietą medžiagą. Šią medžiagą keletą kartų perkristalinus iš dimetilformamido, gauna antraštėje nurodytą piridazin-[4,5-b]-chinolino 5-
25 oksidą 5 oranžinių miltelių pavidale.

Junginių 5 fizikinės savybės ir ^1H -BMR duomenys pateikti 5 ir 6 lentelėse.

Bendra 1,4-diokso-1,2,3,4-tetrahidropiridazin-[4,5-b]-chinolinų (9) gavimo metodika.

Į maišomą chinolin-2,3-dimetildikarboksilato **7** (5 mM) tirpalą (arba suspensiją) verdančiame etanolyje (25 ml) pridedama hidrazinhidrato (30 mM) ir mišinys virinamas su grįžtamu šaldytuvu 8 val., kol susidaro nuosėdos. Atšaldžius iki kambario temperatūros, reakcijos mišinys nufiltruojamas, o atskirta kieta medžiaga praplaunama etanoliu, eteriu ir išdžiovinama; gauna hidrazino druską **8**. Ši medžiaga 3 val. maišoma acto rūgštyje (15 ml) 70-100 °C temperatūroje, ir, atšaldžius iki kambario temperatūros, mišinys praskiedžiamas vandeniu (45 ml) ir nufiltruojamas. Atskirta kieta medžiaga praplaunama etanoliu ir eteriu, išdžiovinama, ir gauna antraštėje nurodytą piridazin-[4,5-b]-chinoliną **9** geltonų miltelių pavidale.

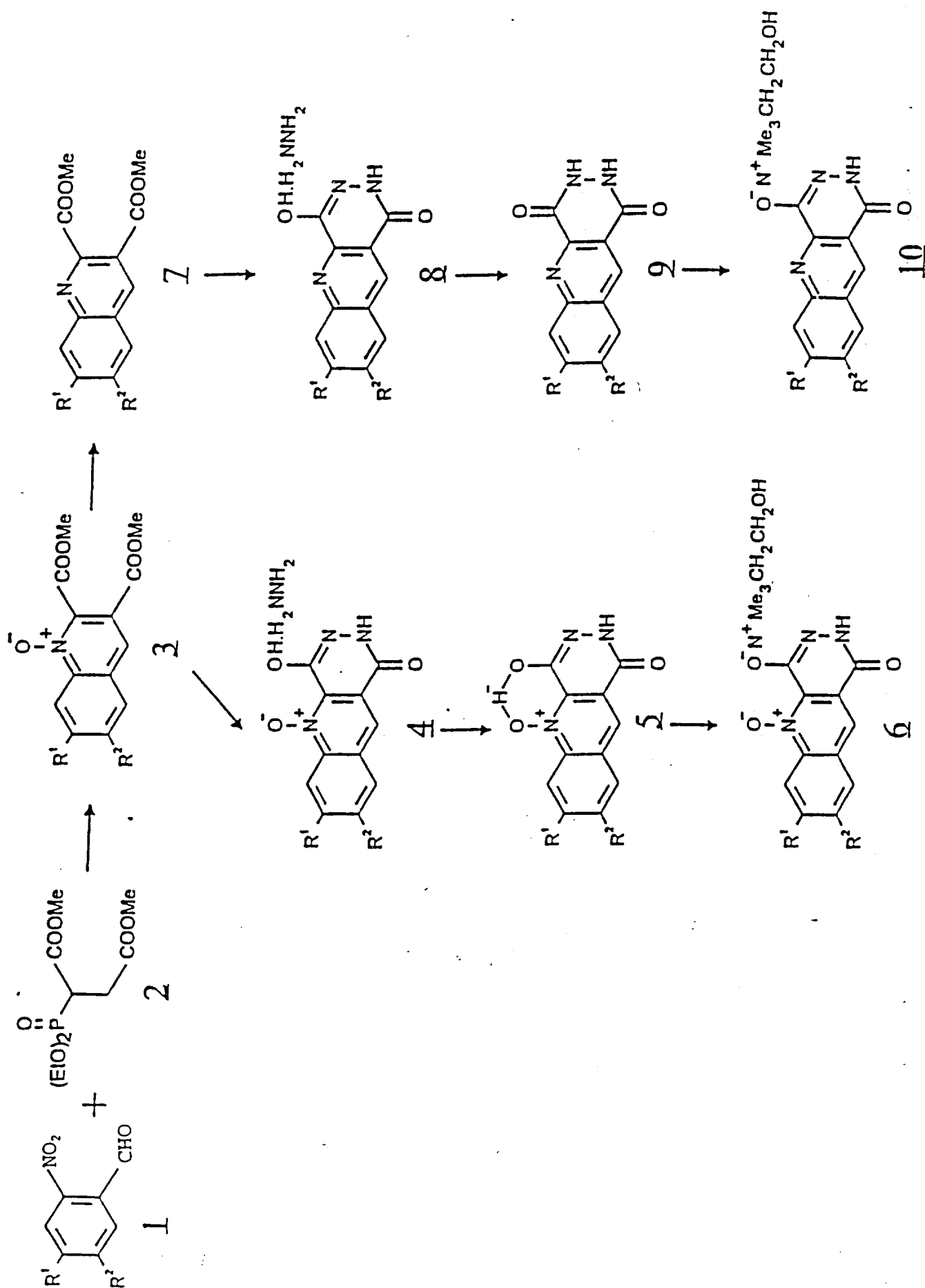
Junginių **9** fizikinės savybės ir ¹H-BMR duomenys pateikti 7 ir 8 lentelėse.

15

Bendra 4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolinų 5-oksido cholino druskų (6) ir 1,4-diokso-1,2,3,4-tetrahidropiridazin-[4,5-b]-chinolinų cholino druskų (10) gavimo metodika.

Į maišomą piridazin-[4,5-b]-chinolino **9** arba N-oksido **5** (10 mM) suspensiją metanolyje (50 ml) pridedama cholino hidroksido (10,5 mM, 45 masės % tirpalas metanolyje). Susidaręs tirpalas sukonzentruojamas rotoriniame garintuve, o kieta liekana perkristalinama iš etanolio; gauna antraštėje nurodytą cholino druską **10** arba **6** oranžinių (arba raudonų) higroskopinių miltelių pavidale.

Junginių **6** ir **10** fizikinės savybės ir ¹H-BMR duomenys pateikti 9,10 ir 11, 12 lentelėse, atitinkamai.



2 lentelė. Junginių 3 ¹H-BMR (CDCl₃) spektrų duomenys.

Junginys	δ (m.d.), J (Hz)
3a	3,98(s, 3H), 4,11, (s, 3H), 7,66-8,05 (m, 3H), 8,43 (s, 1H), 8,75 (dd, J ₁ = 8,5, J ₂ = 2,0, 1H)
3b	3,98 (s, 3H), 4,11 (s, 3H), 7,71 (dd, J ₁ = 8,5, J ₂ = 2,5, 1H), 7,91 (d, J = 8,5, 1H), 8,38 (s, 1H), 8,74 (d, J = 2,5, 1H)
3c	3,91 (s, 3H), 4,07 (s, 3H), 7,13 (dd, J ₁ = 9,5, J ₂ = 2,0, 1H), 7,44 (d, J = 2,0, 1H), 8,22 (s, 1H), 8,58 (d, J = 9,5, 1H)
3d	3,98 (s, 3H), 4,11 (s, 3H), 7,48-7,72 (m, 2H), 8,31 (s, 1H), 8,73 (dd, J ₁ = 10,0, J ₂ = 5,0, 1H)
3e	3,97 (s, 3H), 4,10 (s, 3H), 8,08 (s, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,83 (s, 1H)
3f	3,97 (s, 3H), 4,09 (s, 3H), 8,26 (s, 2H), 8,82 (s, 1H)
3g	3,97 (s, 3H), 4,09 (s, 3H), 8,06 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), (02 9s, 1H)

1 lentelė. Chinolin-2,3-dimetilidikarboksilatų 1-oksido 3.

Junginys	R ¹	R ²	Formulė (mol. masė)	Elementų analizė									Lyd. temp. (°C)	Išga (%)
				Apskaičiuota (%)			Rasta (%)							
				C	H	N	C	H	N					
3a	H	H	C ₁₃ H ₁₁ NO ₅ (261,2)	59,77	4,24	5,36	59,84	4,11	5,31		175-176	61,5		
3b	H	Cl	C ₁₃ H ₁₀ ClNO ₅ (295,7)	52,81	3,41	4,74	52,80	3,32	4,78		126-127	49,0		
3c	H	Br	C ₁₃ H ₁₀ BrNO ₅ (340,2)	45,89	2,96	4,11	45,57	2,75	4,00		168-170	72,0		
3d	H	F	C ₁₃ H ₁₀ FNO ₅ (279,2)	55,86	3,60	5,01	55,19	3,38	4,95		194-196	49,0		
3e	Cl	Cl	C ₁₃ H ₉ Cl ₂ NO ₅ (330,1)	47,30	2,75	4,24	47,18	2,62	4,14		183-186	41,0		
3f	Cl	Br	C ₁₃ H ₉ BrClNO ₅ (374,6)	41,69	2,42	3,74	41,39	2,13	3,65		171-173	60,0		
3g	Br	Cl	C ₁₃ H ₉ BrClNO ₅ (374,6)	41,69	2,42	3,74	41,68	2,25	3,75		206-208	62,5		

3 lentelė. Chinolin-2,3-dimetildikarboksilatai 7.

Junginys	R ¹	R ²	Formulė (mol. masė)	Elementų analizė										Lyd. temp. (°C)	Išiga (%)
				Apskaičiuota (%)						Rasta (%)					
				C	H	N	C	H	N	C	H	N			
7a	H	H	C ₁₃ H ₁₁ NO ₄ (245,2)	63,67	4,52	5,71	63,48	4,52	5,63			104-106	88,0		
7b	H	Cl	C ₁₃ H ₁₀ ClNO ₄ (279,7)	55,83	3,60	5,01	55,74	3,59	5,00			152-154	90,0		
7c	H	Br	C ₁₃ H ₁₀ BrNO ₄ (324,1)	48,17	3,11	4,32	48,09	3,05	4,26			155-157	81,5		
7d	H	F	C ₁₃ H ₁₀ FNO ₄ (263,2)	59,32	3,83	5,32	59,23	3,79	5,26			119-121	85,0		
7e	Cl	Cl	C ₁₃ H ₉ Cl ₂ NO ₄ (314,1)	49,71	2,89	4,46	49,56	2,85	4,41			113-115	96,0		
7f	Cl	Br	C ₁₃ H ₉ BrClO ₄ (348,6)	43,55	2,53	3,91	43,60	2,48	3,88			128-130	95,0		
7g	Br	Cl	C ₁₃ H ₉ BrClO ₄ (348,6)	43,55	2,53	3,91	43,47	2,51	3,87			142-144	67,0		

4 lentelė. Junginių 7 ¹H-BMR (CDCl₃) spektrų duomenys.

Junginys	δ (m.d.), J (Hz)
7a	3,98(s, 3H), 4,06 (s, 3H), 7,58-8,00 (m, 3H), 8,21 (dd, J ₁ = 9,5, J ₂ = 2,0, 1H), 8,77 (m, 2H), 8,77 (s, 3H)
7b	3,97 (s, 3H), 4,06 (s, 3H), 7,76 (dd, J ₁ = 9,5, J ₂ = 2,0, 1H), 7,90 (d, J = 2,0, 1H), 8,67 (s, 1H)
7c	3,97 (s, 3H), 4,07 (s, 3H), 7,90 (dd, J ₁ = 9,5, J ₂ = 2,0, 1H), 8,09 (m, 2H), 8,66 (s, 1H)
7d	3,98 (s, 3H), 4,07 (s, 3H), 7,49-7,72 (m, 2H), 8,20 (dd, J ₁ = 10, J ₂ = 5,0, 1H), 8,69 (s, 1H)
7e	3,97 (s, 3H), 4,04 (s, 3H), 8,02 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,64 (s, 1H)
7f	3,98 (s, 3H), 4,06 (s, 3H), 8,24 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 8,68 (s, 1H)
7g	3,96 (s, 3H), 4,04 (s, 3H), 8,03 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 8,62 (s, 1H)

5 lentelė. 4-Hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazin-[4,5-b]-chinolinų 5-oksida 5.

Mrz 2/	Junginys	R ¹	R ²	Formulė (mol. masė)	Elementų analizė										Lyd. temp. (°C)	Išsiga (%)
					Apskaičiuota (%)					Rasta (%)						
					C	H	N	C	H	N	C	H	N			
499	5a	H	H	C ₁₁ H ₇ N ₃ O ₃ (229,2)	57,65	3,08	18,33	57,56	2,93	18,22			>300	44,5		
502	5b	H	Cl	C ₁₁ H ₆ ClN ₃ O ₃ (263,6)	50,11	2,29	15,94	49,34	2,29	15,40			>300	88,0		
514	5c	H	Cl	C ₁₁ H ₆ BrN ₃ O ₃ (308,1)	42,88	1,96	13,63	42,57	1,91	13,49			>300	78,0		
516	5d	H	F	C ₁₁ H ₆ FN ₃ O ₃ (247,2)	55,44	2,44	16,99	53,44	2,35	16,90			297-298	37,0		
518	5e	Cl	Cl	C ₁₁ H ₅ Cl ₂ N ₃ O ₃ (298,1)	44,32	1,69	14,10	44,17	1,91	14,34			>300	16,0		
551	5f	Cl	Br	C ₁₁ H ₅ BrClN ₃ O ₃ (342,5)	38,57	1,47	12,27	37,93	1,33	11,94			>300	15,0		
568	5g	Br	Cl	C ₁₁ H ₅ BrClN ₃ O ₃ (342,5)	38,57	1,47	12,27	38,17	1,31	12,00			>300	17,0		

6 lentelė. Junginių 5 ^1H -BMR (DMSO- d_6) spektrų duomenys

Junginys	δ (m.d.), J (Hz)	
	aromatiniai protonai (ir OCH_3)	NH, OH (besikeičiantys)
5a	7,88-8,28 (m, 2H), 8,46-8,79 (m, 2H), 9,07 (s, 1H)	10,65 (pl. s, 1H), 12,00 (pl. s, 1H)
5b	8,07 (dd, $J_1 = 9,0$, $J_2 = 2,5$, 1H), 8,59 (d, $J = 9,0$, 1H), 8,69 (d, $J = 2,5$, 1H), 9,11 (s, 1H)	12,05 (pl. s, 1H), 14,60 (pl. s, 1H)
5c	8,27 (dd, $J_1 = 9,0$, $J_2 = 2,0$, 1H), 8,60 (d, $J = 9,0$, 1H), 8,82 (d, $J = 2,0$, 1H), 9,00 (s, 1H)	11,00 (pl. s, 1H), 12,00 (pl. s, 1H)
5d	8,07 (ddd, $J_1 = 9,5$, $J_2 = 8,5$, $J_3 = 2,5$, 1H), 8,36 (dd, $J_1 = 9,5$, $J_2 = 2,5$, 1H), 8,75 (dd, $J_1 = 9,5$, $J_2 = 5,0$, 1H), 9,02 (s, 1H)	10,92 (pl. s, 1H), 12,00 (pl. s, 1H)
5e	8,83 (s, 1H), 8,90 (s, 1H), 9,06 (s, 1H)	11,25 (pl. s, 1H), 12,05 (pl. s, 1H)
5f	8,80 (s, 1H), 9,00 (s, 1H), 9,01 (s, 1H)	12,06 (pl. s, 1H), 14,28 (pl. s, 1H)
5g	8,90 (s, 1H), 9,01 (s, 1H), 9,04 (s, 1H)	12,13 (pl. s, 1H), 14,32 (pl. s, 1H)

7 lentelė. 1,4-Diokso-1,2,3,4-tetrahidropiridazin-[4,5-b]-chinolinai 9.

MrZ 2/	Junginys	R ¹	R ²	Formulė (mol. masė)	Elementų analizė										Lyd. temp. (°C)	Išėiga (%)
					Apskaičiuota (%)					Rasta (%)						
					C	H	N	C	H	N	C	H	N			
585	9a	H	H	C ₁₁ H ₇ N ₃ O ₂ (213,2)	61,97	3,31	19,71	61,43	3,45	19,16			>300	86,0		
501	9b	H	Cl	C ₁₁ H ₆ ClN ₃ O ₂ (247,6)	53,35	2,44	16,97	32,89	2,28	16,68			>300	88,5		
503	9c	H	Br	C ₁₁ H ₆ BrN ₃ O ₂ (292,1)	45,23	2,07	14,39	44,74	2,11	14,09			>300	82,0		
519	9d	H	F	C ₁₁ H ₆ FN ₃ O ₂ (231,2)	57,14	2,60	18,18	56,73	2,47	17,99			>300	84,0		
515	9e	Cl	Cl	C ₁₁ H ₅ Cl ₂ N ₃ O ₂ (282,1)	46,84	1,79	14,90	46,44	1,70	14,87			>300	82,5		
539	9f	Cl	Br	C ₁₁ H ₅ BrClN ₃ O ₂ (326,5)	40,46	1,54	12,87	40,16	1,42	12,88			>300	69,5		
538	9g	Br	Cl	C ₁₁ H ₅ BrClN ₃ O ₂ (326,5)	40,46	1,54	12,87	40,23	1,40	12,98			>300	88,0		

8 lentelė. Junginių 9 ¹H BMR (DMSO-d₆) spektrų duomenys.

Junginys	δ (m.d.), J (Hz)	
	aromatiniai protonai	NH (besikeičiantys)
9a	7,76-8,16 (m, 2H), 8,22-8,47 (m, 2H), 9,30 (s, 1H)	11,60 (pl. s, 2H)
9b	8,02 (dd, J ₁ = 9,0, J ₂ = 2,5, 1H), 8,28 (d, J = 9,0, 1H), 8,52 (d, J = 2,5, 1H), 9,26 (s, 1H)	11,60 (pl. s, 2H)
9c	8,16 (m, 2H), 8,60 (pl. s, 1H), 9,25 (s, 1H)	11,55 (pl. s, 2H)
9d	7,93 (ddd, J ₁ = 9,5, J _{2(H,F)} = 9,0, J ₃ = 2,5, 1H), 8,18 (dd, J _{1(H,F)} = 9,5, J ₂ = 2,5, 1H), 8,36 (dd, J ₁ = 9,5, J _{2(H,F)} = 5,5, 1H), 9,24 (s, 1H)	11,90 (pl. s, 2H)
9e	8,47 (s, 1H), 8,67 (s, 1H), 9,22 (s, 1H)	11,60 (pl. s, 2H)
9f	8,52 (s, 1H), 8,91 (s, 1H), 9,28 (s, 1H)	11,65 (pl. s, 2H)
9g	8,68 (s, 1H), 8,71 (s, 1H), 9,26 (s, 1H)	11,70 (pl. s, 2H)

9 lentelė. 4-Hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazin-[4,5-b]-chinolinų 5-oksido druskos 6.

Mrz 2/	Junginys	R ¹	R ²	Formulė (mol. masė)	Elementų analizė									Lyd. temp. (°C)	Išga (%)
					Apskaičiuota dėl 6xH ₂ O* (%)						Rasta (%)				
					C	H	N	C	H	N	C	H	N		
577	6a	H	H	C ₁₆ H ₂₀ N ₄ O ₄ (332,4)	54,84	6,32	15,99	54,76	6,32	15,86	179-180	52,5			
576	6b	H	Cl	C ₁₆ H ₁₉ ClN ₄ O ₄ (366,8)	49,93	5,50	14,55	49,31	5,47	14,24	185-188	87,5			
570	6c	H	Br	C ₁₆ H ₁₉ BrN ₄ O ₄ (411,4)	44,75	4,92	13,04	44,85	4,93	12,86	191-193	71,5			
571	6d	H	F	C ₁₆ H ₁₉ FN ₄ O ₄ (366,4)	51,19	5,63	14,92	51,74	5,73	14,95	201-203	27,0			
574	6e	Cl	Cl												
	6f	Cl	Br												
	6g	Br	Cl												

* x = 1,0 (a, b, c)
0,5 (d)

10 lentelė. Cholino druskų 6 ¹H-BMR (CD₃OD) spektrų duomenys.

Junginys	δ (m.d.), J (Hz)	
	cholino protonai	aromatiniai protonai
6a	3,20 (s, 9H), 3,47 (m, 2H), 3,98 (m, 2H)	7,69-8,00 (m, 2H), 8,18 (d, J = 8,0, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,76 (d, J = 8,5, 1H)
6b	3,22 (s, 9H), 3,50 (m, 2H), 4,01 (m, 2H)	7,88 (dd, J ₁ = 9,0, J ₂ = 2,5, 1H), 8,27 (d, J = 2,5, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,76 (d, J = 9,0, 1H)
6c	3,20 (s, 9H), 3,48 (m, 2H), 3,99 (m, 2H)	7,99 (dd, J ₁ = 9,5, J ₂ = 2,0, 1H), 8,41 (d, J = 2,0, 1H), 8,53 (s, 1H), 8,64 (d, J = 9,5, 1H)
6d	3,22 (s, 9H), 3,51 (m, 2H), 4,02 (m, 2H)	7,64-7,98 (m, 2H), 8,62 (s, 1H), 8,87 (dd, J ₁ = 10,0, J ₂ = 5,0, 1H)
6e		
6f		
6g		

11 lentelė. 1,4-Diokso-1,2,3,4-tetrahidropiridazin-[4,5-b]-chinolinų cholino druskos 10.

Mrz 2/	Junginys	R ¹	R ²	Formulė (mol. masė)	Elementų analizė									Lyd. temp. (°C)	Išga (%)
					Apskaičiuota dėl 10xH ₂ O* (%)			Rasta (%)							
					C	H	N	C	H	N					
604	10a	H	H	C ₁₆ H ₂₀ N ₄ O ₃ (316,36)	54,26	7,59	14,06	54,23	7,39	14,25		102-110	82,0		
596	10b	H	Cl	C ₁₆ H ₁₉ ClN ₄ O ₃ (350,8)	54,08	5,53	15,76	54,10	5,55	15,61		189-191	84,0		
586	10c	H	Br	C ₁₆ H ₁₉ BrN ₄ O ₃ (395,3)	43,64	5,49	12,72	44,07	5,14	12,73		234-236	61,0		
572	10d	H	F	C ₁₆ H ₁₉ Cl ₂ N ₄ O ₃ (334,4)	52,16	15,20	5,74	52,08	6,23	15,19		229-230	95,0		
574	10e	Cl	Cl	C ₁₆ H ₁₈ Cl ₂ N ₄ O ₃ (385,3)	47,65	4,99	13,89	47,24	5,03	13,60		205-208	83,0		
598	10f	Cl	Br	C ₁₆ H ₁₈ BrClN ₄ O ₃ (429,7)	42,92	4,5	12,51	42,78	4,60	12,44		207-209	92,0		
597	10g	Br	Cl	C ₁₆ H ₁₈ BrClN ₄ O ₃ (429,7)	42,92	4,5	12,51	42,66	4,57	12,37		201-203	95,0		

* x = 0,25 (d)
1,0 (d, e)
2,5 (c)

12 lentelė. Cholino druskų 10^1H -BMR (CD_3OD) spektrų duomenys.

Junginys	δ (m.d.), J (Hz)	
	cholino protonai	aromatiniai protonai
10a	3,21 (s, 9H), 3,51 (m, 2H), 4,01 (m, 2H)	7,64-8,57 (m, 4H), 9,17 (s, 1H)
10b	3,25 (s, 9H), 3,52 (m, 2H), 4,02 (m, 2H)	7,89 (dd, $J_1 = 9,0$, $J_2 = 2,5$, 1H), 8,23 (d, $J = 2,5$, 1H), 8,34 (d, $J = 9,0$, 1H), 9,13 (s, 1H)
10c	3,22 (s, 9H), 3,47 (m, 2H), 3,97 (m, 2H)	7,99 (dd, $J_1 = 9,0$, $J_2 = 2,0$, 1H), 8,26 (d, $J = 9,0$, 1H), 8,41 (d, $J = 2,0$, 1H), 9,09 (s, 1H)
10d	3,20 (s, 9H), 3,49 (m, 2H), 3,98 (m, 2H)	7,64-7,81 (m, 2H), 8,39 (dd, $J_1 = 9,5$, $J_2 = 5,0$, 1H), 9,12 (s, 1H)
10e	3,22 (s, 9H), 3,50 (m, 2H), 4,02 (m, 2H)	8,46 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 9,14 (s, 1H)
10f	3,22 (s, 9H), 3,50 (m, 2H), 4,00 (m, 2H)	8,53 (s, 1H), 8,64 (s, 1H), 9,13 (s, 1H)
10g	3,22 (s, 9H), 3,50 (m, 2H), 4,02 (m, 2H)	8,43 (s, 1H), 8,73 (s, 1H), 9,13 (s, 1H).

FARMAKOLOGIJA

In vitro

Receptorių surišimo tyrimai

5

Membranų preparatai ir baltymo nustatymas.

Audinių preparatai paruošti pagal Fosterio ir Vongo metodiką (Foster A.C., Wong E.H.F. (1987): *Brit. J. Pharmacol.* **91**, p. 403-409). Sprague-Dawley žiurkių patinėliai (200-250 g) buvo dekapituoti, ir jų smegenys iš karto pašalintos. Išpjauta galvos smegenų žievė homogenizuota 20 tūrių ledu atšaldytos 0.32 M sacharozės stiklo-teflono homogenizatoriuje. Homogenatas centrifuguotas 10 min. su 1000 x g. Nuosėdos resuspenduotos 20 tūrių distiliuoto vandens ir centrifuguotos 20 min. su 8000 x g. Po to supernatantas ir krešulio šviesusis sluoksnis centrifuguojamas tris kartus (20 min., su 48000 x g), esant 5 mM Tris-HCl, pH 7,4. visi centrifugavimai atlikti 4 °C temperatūroje. Resuspendavus 5 tūriuose 5 mM Tris-HCl, pH 7,4, membranų suspensija staigiai atšaldyta iki -80 °C ir palikta iki tyrimų dienos. Tyrimų dieną membranų buvo atšildytos ir praplautos keturis kartus, resuspenduojant 5 mM Tris-HCl, pH 7,4 ir centrifuguotos 20 min. su 48000 x g. Galutinės nuosėdos suspenduotos tyrimo buferyje.

Baltymo kiekis galutiniame membranų preparate nustatytas Lowry metodu su kai kuriomis modifikacijomis (Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randell R.J. (1951): *J. Biol. Chem.* **193**, p. 265-275; Hartfree E.F. (1972): *Analytical Biochemistry* **48**, p. 422-427). Trys vienodi baltymo pavyzdžiai po 50 µl praskiesti iki 1 ml distiliuotu vandeniu ir paveikti 0,9 ml tirpalo, susidedančio iš 2 g kalio natrio tartrato ir 100 g Na₂CO₃ 500 ml 1N NaOH ir 500 ml vandens. Palyginimo ir standartinis (su jaučio serumo albuminu) tirpalai paruošti tokia pat būdu. Mėgintuvėliai 10 min. palikti 50 °C temperatūros vandens vonioje, po to atšaldyti iki kambario temperatūros. Pridedama 100 µl tirpalo, susidedančio iki iš 2 g kalio natrio tartrato ir 1 g CuSO₄ x 5H₂O 90 ml vandens ir 10 ml 1N

NaOH. Pavyzdžiai laikomi kambario temperatūroje mažiausiai 10 min., po to maišant greitai pridedama 3 ml Folin-Ciocalteu reagento (1 ml reagento praskiesto 15 ml vandens). Mėgintuvėliai vėl kaitinami 10 min. 50 °C temperatūroje, po to atšaldomi iki kambario temperatūros. Išmatuojama
5 absorbcija 1 cm kiuvetėse ties 650 nm. Galutinė baltymo koncentracija, naudota mūsų tyrimuose, buvo tarp 100 ir 250 µg/ml.

Inkubavimas abiejuose surišimo tyrimuose buvo nutrauktas naudojant Millipore filtrus. Pavyzdžiai, kiekvienas trijuose egzemplioriuose, praplaunami tris kartus 2,5 ml ledu atšaldyto tyrimo buferio ant stiklo filtro, įsigyto iš
10 Schleicher & Schuell, pastoviam vakuume. Atskyrus ir praplovus, filtrai sumerkiami į scintiliacinį skystį (5 ml; Ultima Gold) ir, naudojant įprastą skysčių scintiliacijos skaitiklį (Hewlett Packard, Liquid Scintillation Analyser), išmatuojamas ant filtrų likęs radioaktyvumas. "Visas surišimas" buvo absoliutus radioligando kiekis, surištas nesant jokių priedų, tuo tarpu "nespecifinis
15 surišimas" buvo nustatytas esant didelei konkurencinio reagento koncentracijai.

[³H]5,7-DCKA surišimo tyrimas

Eksperimentai atlikti pagal modifikuotą ankstesnių tyrėjų metodiką
20 (Canton T., Doble A., Miquet J.M., Jimonet P., Blanchard J.C. (1992): J. Pharm. Pharmacol. 44, p. 812-816). Membranos suspenduotos ir inkubuotos 10 mM Tris-HCl buferyje, pH 7,4. Inkubavimo laikas - 45 min. 4 °C temperatūroje. Nespecifinis [³H]5,7-DCKA surišimas nustatytas pridedant 0,1 mM nežymėto glicino. Sustabdymo tirpalas susideda iš 10 mM Tris-HCl ir 10 mM magnio
25 sulfato, pH 7,4. Filtruojama kaip įmanoma greičiau. Pakeitimo eksperimentai atlikti su pastovia [³H]5,7-DCKA 10 nM koncentracija. Tiriami junginiai praskiesti vandeniu arba DMSO, ir pridedami mažiausiai 5 skirtingų koncentracijų pavidale.

[³H]glicino surišimo tyrimas

[³H]glicino surišimo tyrimai atlikti pagal metodiką, aprašytą Kessler ir bendradarbių (Kessler M., Terramani T., Lynch G., Baudry M. (1989): *J. Neurochem.* **52**, p. 1319-1328). Žiurkių kortikalinės membranos paruoštos kaip aprašyta anksčiau, ir galutinės nuosėdos suspenduotos 50 mM Tris-acetate, pH 7,4. Mažiausiai 5 skirtingos tiriamų junginių koncentracijos inkubuotos su 20 nM [³H]glicino 30 min. 4 °C temperatūroje, esant 100 μM strichnino. Visi junginiai buvo ištirpinti vandenyje arba DMSO, atitinkamai. Nespecifinis surišimas nustatytas įvedant 100 μM glicino į inkubavimo mišinį. Inkubavimas nutrauktas praskiedžiant pavyzdžius 2 ml stabdymo tirpalo (50 mM Tris-HCl, turintis 10 mM magnio sulfato, pH 7,4, atšaldytas iki 2 °C) ir po to praplaunant 2,5 ml buferio. Filtruota kaip įmanoma greičiau.

15 Rezultatai

Iš visų tirtų junginių [³H]-DCKA tyrime aštuoni turėjo $IC_{50} \leq 1 \mu M$. Šešių parinktų junginių stiprumas [³H]-glicino tyrime iš pirmo žvilgsnio atrodo didesnis, bet tai neatsispindi dideliuose skirtumuose tarp K_d reikšmių (neparodyta). Ypač įdomių junginių porų atveju II klasės junginiai pasižymi didesniu afiniškumu, nei I klasės junginiai, [³H]-glicino tyrime.

Ryšio fiksavimas

Viršutiniai požieivio kalneliai išskirti iš žiurkių embrionų (E20 iki E21) ir patalpinti į atšaldytą ledu buferinį Hank druskos tirpalą, neturintį kalcio ir magnio (Gibco). Ląstelės mechaniškai disocijuojamos 0,05 % DNR-azės/0,3 % ovomukoido tirpale (Sigma), prieš tai 15 minučių inkubavus 0,66 % tripsino/0,1 % DNR-azės tirpale (Sigma). Disocijavusios ląstelės centrifuguojamos su 18 g 10 minučių, resuspenduojamos minimaliame pagrindinės terpės tūryje (Gibco), ir užnešamos ant poli-L-lizinu (Sigma) padengtų plastikinių Petri lėkštelių

(Falcon) 200000 ląstelių į cm² tankiu. Ląstelės maitinamos NaHCO₃/HEPES ištirpinta pagrindine terpe, papildyta 5 % fetalinio veršelio serumo ir 5 % arklio

13a lentelė

Mrz2/	Junginys	[³ H]-DCKA IC ₅₀ μM	[³ H]glicinas IC ₅₀ μM
499	II	16,0	
501	8-Cl-I	0,120	0,080
502	8-Cl-II	0,020	0,013
503	8-Br-I	0,250	0,013
	8-Br-II	0,010	0,004
	8-F-I	1,100	0,015
	8-F-II	0,300	0,017
	7,8-diCl-I	0,530	
	7,8-diCl-II	0,650	

5

13b lentelė

Mrz2/	Junginys	[³ H]-DCKA IC ₅₀ μM
572	8-F-I (Chol)	1,14
571	8-F-II (Chol)	0,32
569	8-Cl-I (Chol)	0,97
576	8-Cl-II (Chol)	0,45

serumo (Gibco), ir inkubuojamos 37 °C temperatūroje 5 % CO₂ ir 95 % drėgnumo atmosferoje. Neuroglijų mitozė inhibuojama su citozin-β-D-arabinofuranozidu (20 μM, Sigma) po maždaug 7 dienų *in vitro*, po to terpė pilnai pakeičiama. Toliau terpė keičiama dukart per savaitę. Viršutinių kaulnelių kultūra parinkta šiems eksperimentams, nes ji duoda stabilius atsakus, kas yra būtina sąlyga nuo potencialo priklausančiuose ir kinetiniuose eksperimentuose.

Be to, santykinai maži neuronai (kūno $\varnothing$ 15-20 μm) idealiai tinka sumažinti su buferio difuzija susijusioms problemoms.

Ryšio fiksavimo tyrimai šiuose neuronuose atlikti, naudojant poliruotą stiklo elektrodą visos gardelės modelyje kambario temperatūroje (20-22 $^{\circ}\text{C}$), naudojant EPC-7 stiprintuvą (List). Junginiai tiriami perjungiant kanalus įprastinėje greito supylimo sistemoje su įprastiniu ištekėjimu (pasikeitimo laikas - 10-20 ms). Tirpalo gardelės viduje sudėtis buvo tokia (mM): CsCl (120) TEACl (20), EGTA (10), MgCl_2 (1), CaCl_2 (0,2), gliukozė (10), ATP (2), cAMP (0,25); pH privedamas iki 7,3 su CsOH arba HCl. Tirpalų gardelės išorėje sudėtis buvo tokia (mM): NaCl (140), KCl (3), CaCl_2 (0,2), gliukozė (10), HEPES (10), sacharozė (4,5), tetrodoksinas ($\text{TTX } 3 \cdot 10^{-4}$). Daugelyje eksperimentų tirpaluose buvo 1 μM glicino. Eksperimentai glicino priklausomybės nuo piridofthalazindionų nustatymui atlikti su tolygiai didėjančiomis glicino koncentracijomis (1-10 μM).

15

Rezultatai

Penkios poros triciklinių piridofthalazindionų turi IC_{50} vidinių srovių dėl NMDA (200 μM) atžvilgiu mažų μM srityje, ir II klasės junginiai paprastai buvo 2-3 kartus stipresni už I klasės junginius (žiūr. 14a lentelę). Stipriausi iš jų buvo Mrz 2/502 ir Mrz 2/514. Šis efektas pasireiškia glicino-B surišimo vietoje, kas parodoma lygiagrečiu pasislinkimu atsako į koncentraciją kreivėse, esant didėjančiai glicino koncentracijai. Tokiu būdu, junginio Mrz 2/502 K_b , įvertintos pagal Čengo-Prusovo priklausomybę, turėjo panašias reikšmes glicinui 1, 3, ir 10 μM (80, 124 ir 118 nM, atitinkamai. Be to, Mrz 2/501 ir 2/502 įtaka nepriklauso nuo potencialo. Visi tirti junginiai buvo maždaug 3-10 kartų stipresni stacionarios būklės srovių atžvilgiu, negu piko srovių atžvilgiu. Cholino dariniai buvo panašaus stiprumo, kaip ir laisvos rūgštys *in vitro* sąlygose (14b lentelė).

Priešingai, trys iš šių stiprių glicino-B antagonistų buvo tik labai silpni antagonistai vidinių srovių dėl AMPA (100 μM) atžvilgiu. Mrz 2/502, 2/514 ir

30

2/516 IC₅₀ reikšmės AMPA indukuotų srovių atžvilgiu buvo, atitinkamai, 25, 73 ir 18 μ M, bet jie buvo visiškai neaktyvūs plato srovių atžvilgiu, visos IC₅₀ > 100 μ M (14a lentelė). Toks veikimo pobūdis, nors ir labai silpnas, yra tipiškas konkurenciniams AMPA receptorių antagonistams, kurie pirmenybiškai blokuoja piko nedesensibilizuotą būklę, receptoriaus mažo afiniškumo būklę (žiūr. Parsons C.G., Gruner R., Rozental J. (1994): *Neuropharmacology* **33**, p. 589-604).

14a lentelė

10

Mrz2/	Junginys	Piko NMDA IC ₅₀ μ M	Plato NMDA IC ₅₀ μ M	Piko AMPA IC ₅₀ μ M	Plato AMPA IC ₅₀ μ M
585	I	65,9	19,1		
499	II	51,2	13,8		
501	8-Cl-I	2,3	0,7		
502	8-Cl-II	0,8	0,3	25,0	150,0
503	8-Br-I	1,7	0,6		307,0
514	8-Br-II	0,5	0,2	72,7	
519	8-F-I	18,0	5,8		
516	8-F-II	6,3	1,6	17,6	>100
515	7,8-diCl-I	3,7	0,9		
518	7,8-diCl-II	3,8	0,8		
539	7-Cl,8-Br-I	5,3	0,7		
551	7-Cl,8-Br-II	2,4	0,6		
538	7-Br,8-Cl-I	93,9	2,5		
568	7-Br,8-Cl-II	10,0	1,5		
554	8-O-CH ₃ -I	170	36,2		

14b lentelė

Mrz 2/	Junginys	Pikas NMDA IC ₅₀ μM	Plato NMDA IC ₅₀ μM
569	8-Cl-I (Chol)	2,0	0,5
576	8-Cl-II (Chol)	1,1	0,5
586	8-Br-I (Chol)	2,2	0,6
570	8-Br-II (Chol)	0,6	0,1
572	8-F-I (Chol)	12,4	3,5
571	8-F-II (Chol)	4,9	1,0
578	8-O-CH ₃ -II (Chol)	101	7,7
575	7-O-CH ₃ -I (Chol)	94,0	14,5

Ekscitotoksiškumas *in vitro*

- 5 Kortikalinų neuronų išskyrimas vyko panašiai, kaip aprašyta ryšio fiksavimo eksperimentuose, išskyrus tai, kad naudoti žiurkių 17-19 dienų nėštumo embrionai. Neuronai paskleisti 24 duobučių plokštelėje (Greiner), padengtoje poli-L-lizinu, 300000 ląstelių į duobutę tankiu. Ląstelės kultivuojamos modifikuotoje Dulbeko terpėje (DMEM, GIBCO), papildytoje
- 10 kaitinant inaktyvuotu fetaliniu veršelių serumu (GIBCO). Kultūra laikoma 37 °C temperatūroje ir 5 % CO₂ atmosferoje. Terpė pirmą kartą pakeičiama po savaitės, o po to kas trys dienos pusė terpės pakeičiama šviežia. Eksperimentams naudota 17 dienų kultūra.

- Kontaktas su EAA atliktas MEM-N2 terpėje be serumo (Bottenstein J.E.,
- 15 Sato G.H. (1979): *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**, p. 514-517), turinčioje 0,5 mM NMDA/1 μM glicino ir vaisto, kuris tiriamas. Prieš pridedant NMDA, ląstelės 15 min. inkubuojamos su vaistu ir 1 μM glicino. Po 24 val. citotoksiniai efektai tiriami morfologiškai, naudojant fazių kontrasto mikroskopą, ir kiekybiškai įvertinami biochemiškai pagal LDH emanaciją.

LDH aktyvumas supernatante po 24 val. nustatytas Vrublevskio ir La Due metodu (Wroblevski F., La Due J.S. (1955): *Soc. Exp. Biol. Med.* **90**, p. 210). Trumpai, 0,1 ml supernatanto kambario temperatūroje pridedama į natrio fosfatinio buferio 0,9 ml (pH 7,5), turinčio natrio piruvato (22,7 mM) ir NADH (0,8 mg/10 ml). Piruvato virtimas į laktatą užregistruojamas po 10 minučių, matuojant optinį tankį ties 340 nm Kontron spektrofotometru.

Rezultatai

Pilnų atsako priklausomybės nuo koncentracijos kreivių šiuo metu dar neturime. Tačiau, Mrz 2/501 ir Mrz 2/502 žemos μM koncentracijos veikia kaip efektyvūs neuroprotektoriai *in vitro*, ir šiuo požiūriu Mrz 2/502 atrodo stipresnis (žiūr. 15 lentelę).

15 lentelė

Mrz 2/	Junginys	Citotoksiškumas <i>in vitro</i> , $\text{IC}_{50} \mu\text{M}$
501	8-Cl-I	<5
502	8-Cl-II	<<5
503	8-Br-I	>20

In vivo

Antispazminis aktyvumas

Tikslas - įvertinti tirtųjų agentų antagonistines savybes NMDA receptorių atžvilgiu, įvertinant antispazminius efektus. Be to, naudojant inhibitorių, probenicidą, dar buvo įvertintas organinių rūgščių transportuojantis vaidmuo, pašalinant iš smegenų tiriamus agentus.

Metodikos

- Baltųjų Šveicarijos pelių patinėliai (19-21 g), patalpinti po 10-15 narvelyje, buvo naudoti NMDA letaliniam testui (Leander J.D., Lawson R.R., Ornstein P.L., Zimmerman D.M. (1988): *Brain Res.* **448**, p. 115).
- 5 Pentilentetrazolo (PTZ) indukuotoms konvulsijoms naudoti baltųjų Šveicarijos pelių patinėliai (25-34 g), patalpinti po 40 narvelyje (58x38x20 cm), o maksimalaus elektrošoko ir motorinio pakenkimo tyrimuose naudotos NMR pelių patelės (18-28 g), patalpinamos po 5 narvelyje. Visi gyvuliukai buvo laikomi *ad libitum* su vandeniu ir maistu, sudarant 12 val. šviesos-tamsos ciklą (šviesa
- 10 įjungama 6 val. ryto), kontroliuojamoje temperatūroje ($20 \pm 0,5$ °C). Visi eksperimentai atlikti tarp 10 val. ryto ir 5 val. popiet. Tiriami junginiai įvedami intraperitoniškai 15 min. prieš konvulsijų sukėlimą, jei nenurodoma kitaip (žiūr. Žemiau). Mrz 2/502 ištirpintas druskos tirpale, pridėjus NaOH. Dauguma kitų agentų ištirpinti tokiame tirpiklyje: 0,606 g Tris, 5,0 g gliukozės, 0,5 g Tween 80,
- 15 95 ml vandens. Cholino ir tetrametilamonio druskos ištirpintos distiliuotame vandenyje.

- Tiriant NMDA indukuotas konvulsijas pelėse, dozės - atsako priklausomybė NMDA pirmąsyk atlikta siekiant nustatyti ED₉₇ dozę, kuri po to buvo naudota tiriant antagonistines savybes. Įvedus ED₉₇ NMDA dozę,
- 20 gyvuliukai patalpinti į mažą narvelį (20x28x14 cm) ir stebimi 20 minučių. Mirtis po kloninių konvulsijų ir toninių priepuolių buvo farmakologinė baigtis.

- Pentilentetrazolas įvestas intraperitoniškai 90 mg/kg doze. Po to 30 minučių vertinamas bendrų tonių konvulsijų buvimas, kadangi šis parametras yra jautresnis NMDA receptorių antagonistams negu kloninės konvulsijos.
- 25 Farmakologinė baigtis skaičiuojama, kai užpakalinės galūnės nevalingai įsitempia išsitiesdamos.

- MES (100Hz, šoko trukmė 0,5 s, šoko intensyvumas 50 mA, impulso trukmė 0,9 ms, Ugo Basile) taikomas per ragenos elektrodus. Vertinamas toninių konvulsijų buvimas (toninis užpakalinių galūnių ištempimas su
- 30 minimaliu kampu kūno atžvilgiu 90°). Papildomuose eksperimentuose 30 min.

- prieš tiriamų junginių įvedimą eksperimentinėms pelėms suleidžiama probenicido (200 mg/kg), siekiant įvertinti organinės rūgšties transporto vaidmenį eliminavime (veikimo trukmė). Tikslas buvo gauti visų parametrų ED₅₀ reikšmes, panaudojant Litčfildo Vilkoksono (Litchfield J.T., Wilcoxon F. (1949): *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **96**, p.99) testą kiekybiniam atsako į dozę įvertinimui.

Rezultatai

- Iš visų tirtų junginių tik keturi junginiai, visi iš II klasės, buvo efektyvūs MES teste įvedus juos intraperitoniškai (Mrz 2/499, Mrz 2/502, Mrz 2/516 ir Mrz 2/514, žiūr. 16a lentelę). Atitinkami I klasės junginiai buvo neaktyvūs. Panašu, kad keturi junginiai turi labai trumpus gyvavimo laikus *in vivo*. PTZ testas pasirodė kaip jautresnis modelis glicino-B antagonistų, įvestų intraperitoniškai, aktyvumui, ir iš tikrųjų, tie patys II klasės junginiai buvo aktyvūs esant 2-4 kartus mažesnėms dozėms, kai I klasės junginiai liko neaktyvūs (16a lentelė).

- Tų pačių N-oksidų darinių cholino druskos (II struktūra) pasižymėjo aiškiai išreikštu antikonvulsiniu aktyvumu visuose trujuose modeliuose, tuo tarpu jų ne N-oksidų dariniai buvo arba neaktyvūs, arba silpni (16b lentelė). Be to, atrodo, kad cholino druskos pasižymi ilgesniu veikimo laiku. Probenicido injekcijos žymiai pratęsė visų tirtų agentų antikonvulsinio veikimo trukmę. Pavyzdžiui, 2/514 ir 2/570 gyvavimo puslaikiai, nesant probenicido, buvo atitinkamai apie 40 ir 80 minučių. Įvedus probenicido, gyvavimo puslaikiai pailgėjo atitinkamai iki 180 ir 210 minučių. Tokiu būdu, atrodo, kad organinių rūgščių transportas kraujagysliniame rezginyje iš smegenų vaidina svarbų vaidmenį dėl tirtų junginių trumpos veikimo trukmės. Naudota probenicido dozė (200 mg/kg) neduoda jokio nepriklausomo efekto MES indukuotų konvulsijų *per se* atžvilgiu.

16a lentelė

Mrz 2/	Medžiaga	MES i.p. (ID ₅₀ mg/kg)	NMDA i.p. (ID ₅₀ mg/kg)	PTZ i.p. (ID ₅₀ mg/kg)
585	I	>100,0	58,9	59,0
499	II	87,0		18,6
501	8-Cl-I	>100,0	>100,0	>40,0
502	8-Cl-II	47,6	26,0	8,3
503	8-Br-I	>100,0	>100,0	>100,0
514	8-Br-II	20,2	99,0	12,8
519	8-F-I	>60,0	>100,0	>100,0
516	8-F-II	16,6	40,0	7,9
515	7,8-diCl-I	>100,0	98,0	>100,0
518	7,8-diCl-II	>60,0	>100,0	
539	7-Cl, 8-Br-I	>60,0	>100,0	>100,0
538	7-Br, 8-Cl-I	>60,0	106,0	>100,0
554	8-OCH ₃ -I	>100,0		

16b lentelė

Mrz 2/	Medžiaga	MES i.p. (ID ₅₀ mg/kg)
577	II (Chol)	23,7
569	8-Cl-I (Chol)	>50
576	8-Cl-II (Chol)	7,7
586	8-Br-I (Chol)	>50
570	8-Br-II (Chol)	12,8
572	8-F-I (Chol)	>100
571	8-F-II (Chol)	15,5
574	7,8-diCl-I (Chol)	>100
578	7,8-diCl-II (Chol)	>100,0
575	7-OCH ₃ -I (Chol)	>100,0

EAA agonistų mikroeлектроforetinis įvedimas į nugaros smegenų neuronus *in vivo*

Šių glicino-B antagonistų sugebėjimas veikti kaip NMDA receptorių antagonistai *in vivo* ištirtas įvedant intraveniniu būdu ir matuojant pavienių neuronų žiurkių nugaros smegenyse atsaką į AMPA ir NMDA mikroeлектроforetinį įvedimą. II klasės junginiai Mrz 2/502 ir Mrz 2/516 pasireioškė kaip stiprūs NMDA receptorių antagonistai *in vivo*, kurių ID₅₀ atitinkamai 1,2 ir 1,8 mg/kg, tuo tarpu giminingi I klasės junginiai buvo visiškai neaktyvūs iki 16 mg/kg intaveniškai. Tris-keturi kartus aukštesnės dozės taip pat veikė antagonistiškai į atsaką į AMPA, nors šis tariamas selektyvumo nebuvimas kontrastuoja su *in vitro* tyrimais (17a lentelė).

17a lentelė

Mrz 2/	Medžiaga	Mikroeлектроforezė NMDA (ID ₅₀ mg/kg iv.)	Mikroeлектроforezė AMPA (ID ₅₀ mg/kg iv.)
501	8-Cl-I	>16,0	>16,0
502	8-Cl-II	1,2	4,9
519	8-F-I	>16,0	>16,0
516	8-F-II	1,8	3,6

Šiame modelyje cholino druskos buvo maždaug tiek pat stiprios, kaip ir laisvos rūgštys, įvedus intraveniniu būdu, bet buvo šiek tiek selektyvesnės NMDA atžvilgiu, negu AMPA (17b lentelė). Be to ne N-oksido dariniai (I klasės junginiai) buvo neaktyvūs.

17b lentelė

Mrz 2/	Medžiaga	Mikroelektroforezė NMDA (ID ₅₀ mg/kg iv.)	Mikroelektroforezė AMPA (ID ₅₀ mg/kg iv.)
577	II (Chol)	34,0	>32,0
569	8-Cl-I (Chol)	>16,0	>16,0
576	8-Cl-II (Chol)	2,8	>16,0
586	8-Br-I (Chol)	>16,0	>16,0
570	8-Br-II (Chol)	4,5	>16,0
572	8-F-I (Chol)	>16,0	>16,0
571	8-F-II (Chol)	4,7	9,2

5 Aptarimas

Keturi II klasės junginiai - Mrz 2/499, 2/501, 2/514 ir 2/516 yra glicino-B antagonistai *in vitro* ir pasižymi daug geresniu *in vivo* sisteminiu ir/arba CNS prieinamumu negu atitinkami I klasės junginiai (Mrz 2/585, 2/501, 2/503 ir 10 2/519). Patekimas į CNS yra pagrindinė beveik visų iki šiol surastų glicino-B antagonistų problema, bet ši nauja junginių klasė apeina tokią pagrindinę kliūtį ir, atitinkamai, yra terapiškai reikšmingi glicino-B antagonistai.

Prisijungimo druskos

15 Pagal metodikas, aprašytas čia aukščiau, pagamintos junginių 5, 6, 7, 8, 9 ir 10 prisijungimo druskos su ketvirtiniais aminorais (pavyzdžiui, 4-tetrametilamonio, 4-tetraetilamonio druskos), ketvirtiniais aminoalkoliais (pavyzdžiui, cholino), arba ketvitinėmis aminorūgštimis (pavyzdžiui, N,N,N-trimetilserino druskos). Cholino ir 4-tetrametilamonio druskos žymiai pagerina 20 bioprieinamumą, ir joms teikiama pirmenybė.

Farmacinės kompozicijos

Šio išradimo junginiai gali būti įtraukti į farmacinės kompozicijas, susidedančias iš farmaciškai priimtino nešiklio arba skiediklio ir aktyvaus šio
5 išradimo junginio. Tokios kompozicijos gali būti skiriamos gyvūnui, ypač žmogui, peroraliniu arba parenteraliniu būdu. Pavyzdžiui, kieti preparatai arba farmacinės kompozicijos peroraliniam įvedimui gali būti kapsulių, tablečių, piliulių, miltelių arba granulių pavidale. Tokiose kietose farmacinėse kompozicijose aktyvi medžiaga arba jos provaistas yra sumaišytas su
10 mažiausiai vienu farmaciškai priimtinu skiedikliu arba nešikliu, tokiu kaip cukrašvendrių cukrus, laktozė, krakmolai, talkas arba sintetinė ar natūrali derva, rišiklis, tokiu kaip želatina, lubrikantai, tokiu kaip natrio stearatas ir/arba dezingruojančiu agentu, tokiu kaip natrio bikarbonatas. Kad būtų įgyvendintas sulėtinto atpalaidavimo efektas, į farmacinę kompoziciją gali būti įjungta
15 medžiaga, tokia kaip hidrokoloidas arba kitas polimeras. Gali būti pridėta papildomų medžiagų, tokių kaip lubrikantai arba buferiai, kaip įprasta šioje srityje. Jei norima, tabletės, piliulės arba granulės gali būti padengtos enterine danga. Skysčiai peroraliniam vartojimui gali būti liposomų, emulsijų, tirpalų arba suspensijų, turinčių įprastai vartojamų inertinių skiediklių, tokių kaip
20 vanduo, pavidale. Be to, tokios skystos farmacinės kompozicijos gali turėti drėkinančių, emulsuojančių, disperguojančių arba aplamai paviršinio aktyvumo agentų, taip pat saldinančių, skonį arba aromatą suteikiančių medžiagų.

Tinkami parenteraliniam įvedimui preparatai, be kitų, gali būti sterilūs vandeniniai arba nevandeniniai tirpalai, suspensijos, liposomos arba emulsijos.
25 Šiai farmacinės kompozicijos pateikimo formai jau žinomos papildomos medžiagos, kurių yra daugybė, gali būti vartojamos kaip farmaciškai priimtinas skiediklis arba nešiklis.

Priklausomai nuo norimos įvedimo formos ir gydymo trukmės, tiksli aktyvaus junginio dozė šio išradimo preparatuose gali varijuoti, ypač
30 priklausomai nuo to, kaip mano esant tinkamu gydantis gydytojas ar veterinaras.

Šio išradimo aktyvus agentas jį skiriant paprastai gali būti derinamas su kitais farmaciškai aktyviais agentais.

Šio išradimo kompozicijose aktyvaus agento ar agentų dalis gali varijuoti plačiose ribose, reikia tik, kad šio išradimo aktyvus ingredientas ar jo provaistas sudarytų efektyvų kiekį, t.y., kad tinkama efektyvi dozė būtų gauta sutinkamai su naudojama dozavimo forma. Paprastai tuo pat metu ar netgi toje pačioje farmacinėje kompozicijoje ar vaisto formoje skiriamos kelios dozavimo formos, taip pat keli individualūs aktyvūs junginiai.

Kaip nurodyta anksčiau, šio išradimo junginiai tinka, ypač farmacinių kompozicijų ar jų vaisto formų pavidale, peroraliniam arba parenteraliniam įvedimui, o tikslus individualus dozavimas, taip pat paros dozės kiekvienu konkrečiu atveju nustatomos pagal gerai žinomus medicinos ir/arba veterinarijos principus, sutinkamai su gydančiojo gydytojo ar veterinaro nurodymais.

Be peroralinio ir parenteralinio įvedimo, gali būti vartojamas rektalinis ir/arba intraveninis; paprastai dozės būna žymiai mažesnės, kai naudojamas parenteralinis įvedimas, nors pirmenybė teikiama peroraliniam įvedimui. Tinka maždaug 1-3 gramų kiekis per dieną kartotinių arba padalintų dozių pavidale. Platesnės ribos, maždaug 0,5-10 gramų per dieną, taip pat gali būti naudojamos, priklausomai nuo individualaus atvejo aplinkybių. Tačiau nustatyta, kad 500 mg aktyvaus junginio ypač tinka naudoti tabletėse, individuali dozė gali varijuoti nuo maždaug 200 iki 1000 mg, ir 500 mg kiekis, pasiūlytas naudoti tabletėmis, gali būti įvedamas peroraliai, pavyzdžiui, 1-3 kartus per dieną. Nereikia sakyti, kad gali būti įvedama daugiau nei viena tabletė vienoje dozėje, jei to reikia pasiekti aukščiau nurodytą siūlomą dienos peroralinio įvedimo kiekį 1-3 g per dieną.

Kaip jau minėta, šio išradimo junginys arba jo provaistas gali būti skiriamas gyvūnui, įskaitant žmogų, bet koku iš daugelio būdų, pavyzdžiui, peroraliai kapsulių arba tablečių pavidale, parenteraliai sterilių tirpalų arba suspensijų pavidale, arba implantuojant po oda, ir kai kuriais atvejais

intraveniniu būdu sterilių tirpalų pavidale. Kiti įprastiniai įvedimo būdai yra per odą, po oda, per gleivinę, į raumenis ir intraperitoniškai, ir konkretus įvedimo būdas kaip įprasta, bus parinktas gydančiojo gydytojo arba veterinaro.

Suprantama, kad šis išradimas neapsiriboja aprašytais konkrečiais junginiais, kompozicijomis, metodais ar būdais, kadangi daug jų modifikacijų ir pakeitimų bus tuoj pat akivaizdūs šios srities specialistui, susijusiam su šiuo išradimu, dėl to išradimas suprantamas kaip apribotas tik tokia apimtimi, kurią teisiškai apibrėžia pridedama apibrėžtis.

10

15

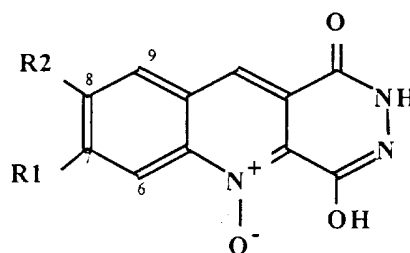
20

25

30

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Junginys, parinktas iš piridilftalazindionų, turinčių formulę



5 kurioje R1 ir R2 yra parinkti iš grupės, susidedančios iš vandenilio, halogeno ir metoksigrupės arba R1 ir R2 kartu sudaro metilendioksigrupę, arba jo farmaciškai priimtinos druskos.

2. Junginys pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad druska yra
10 parinkta iš jo cholino ir 4-tetrametilamonio druskų.

3. Junginys pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis yra parinktas iš grupės, susidedančios iš:

- 4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,
15 8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,
8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,
8-fluor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,
20 7,8-dichlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,
7-brom-8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido, ir
7-chlor-8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino
25 5-oksido,

ir iš bet kurio iš aukščiau pateiktų farmaciškai priimtinos druskos.

4. Junginys pagal 2 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis yra parinktas iš grupės, susidedančios iš:

5 4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido choli-no druskos,

8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksi-do cholino druskos,

10 8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksi-do cholino druskos,

8-fluor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

7,8-dichlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

15 7-brom-8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos, ir

7-chlor-8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos.

20 5. Farmacinė kompozicija, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad turi savo sudėtyje kaip aktyvų ingredientą efektyvų glicinui-B antagonistinį kiekį junginio pagal 1 punktą kartu su farmaciškai priimtinu nešikliu arba skiedikliu.

25 6. Farmacinė kompozicija, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad turi savo sudėtyje kaip aktyvų ingredientą efektyvų glicinui-B antagonistinį kiekį junginio pagal 1 punktą jo cholino druskos pavidale kartu su farmaciškai priimtinu nešikliu arba skiedikliu.

30 7. Farmacinė kompozicija pagal 5 punktą b e s i s k i r i a n t i tuo, kad turi savo sudėtyje kaip aktyvų ingredientą efektyvų glicinui-B antagonistinį kiekį junginio pagal 1 punktą, parinkto iš grupės, susidedančios iš:

- 4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,
 8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksi-
 do,
 8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksi-
 5 do,
 8-fluor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksi-do,
 7,8-dichlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-
 oksido,
 7-brom-8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino
 10 5-oksido, ir
 7-chlor-8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino
 5-oksido,
 ir iš bet kurio iš aukščiau pateiktų farmaciškai priimtinos druskos.
- 15 8. Farmacinė kompozicija pagal 6 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad
 turi savo sudėtyje kaip aktyvų ingredientą efektyvų glicinui-B antagonistinį kiekį
 junginio pagal 1 punktą, parinkto iš grupės, susidedančios iš:
- 4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido choli-no
 druskos,
 20 8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksi-do
 cholino druskos,
 8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksi-do
 cholino druskos,
 8-fluor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido
 25 cholino druskos,
 7,8-dichlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-
 oksido cholino druskos,
 7-brom-8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino
 5-oksido cholino druskos, ir
 30 7-chlor-8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino
 5-oksido cholino druskos.

9. Junginys pagal 1 punktą, skirtas neurologinių susirgimų, susijusių su ekscitotoksiškumu ir glutamaterginės neurotransmisijos sutrikimais, gydymui.

5 10. Junginio pagal 1 punktą cholino druska, skirta neurologinių susirgimų, susijusių su ekscitotoksiškumu ir glutamaterginės neurotransmisijos sutrikimais, gydymui.

10 11. Junginys pagal 9 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis yra parinktas iš grupės, susidedančios iš:

4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,

8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,

15 8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,

8-fluor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,

7,8-dichlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,

20 7-brom-8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido, ir

7-chlor-8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido,

ir iš bet kurio iš aukščiau pateiktų farmaciškai priimtinos druskos.

25 12. Junginys pagal 10 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis yra parinktas iš grupės, susidedančios iš:

4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

30 8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

8-fluor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

7,8-dichlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos,

5 7-brom-8-chlor-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos, ir

7-chlor-8-brom-4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazino-[4,5-b]-chinolino 5-oksido cholino druskos.

10 13. 4-Hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazin-[4,5-b]-chinolino 5-oksido (5) gavimo būdas, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis apima chinolin-2,3-dimetildikarboksilato 1-oksido (3) virtimo į hidrazino druską (4) stadiją, reaguojant su hidrazino hidratu, ir hidrolizuojant susidariusią hidrazino druską (4), kad gautų norimą 4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazin-[4,5-b]-chinolino 5-oksida (5).
15

14. Būdas pagal 13 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad tuo būdu gautą 4-hidroksi-1-okso-1,2-dihidropiridazin-[4,5-b]-chinolino 5-oksida (5) paverčia į jo cholino druską reakcijoje su cholino hidroksidu.

20