



(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **314939**

(13) B1

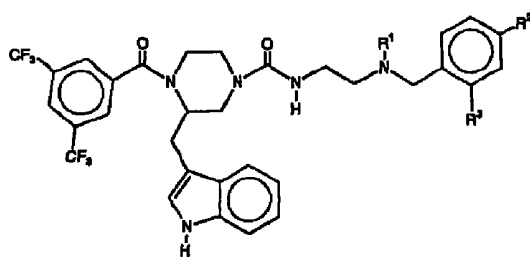
(51) Int Cl⁷

C 07 D 403/06, A 61 K 31/496,
A 61 P 29/00

Patentstyret

(21) Søknadsnr	19983918	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	
(22) Inng. dag	1998.08.26	(85) Videreføringsdag	
(24) Løpedag	1998.08.26	(30) Prioritet	1997.08.27, DE, 19737274
(41) Alm. tilgj.	1999.03.01		
(45) Meddelt dato	2003.06.16		
(71) Patenthaver	Solvay Pharmaceuticals GmbH, Hans-Böckler-Allee 20, D-30173 Hannover, DE		
(72) Oppfinner	Daniel Jasserand, D-30625 Hannover, DE Samuel David, D-30559 Hannover, DE Jochen Antel, D-31848 Bad Münder, DE Reinhard Brückner, D-30559 Hannover, DE Christian Eeckhout, D-29690 Lindwedel, DE Gerhard-Wilhelm Bielenberg, D-31061 Alfeld, DE		
(74) Fullmektig	Tandbergs Patentkontor AS, 0306 Oslo		
(54) Benevnelse	Nye ureaderivater med neurokininreseptorantagonistiske egenskaper, legemidler som inneholder disse, og fremgangsmåte for fremstilling av forbindelsene		
(56) Anførte publikasjoner	Ingen		
(57) Sammendrag			

Det beskrives forbindelser med formel I



hvor R^1 står for hydrogen eller lavere alkyl, R^2 står for hydrogen eller halogen, og R^3 står for hydrogen eller lavere alkoksy, og deres fysiologisk aksepterbare syreaddisjonssalter, og legemidler som inneholder disse forbindelsene, så vel som fremgangsmåte for fremstilling av disse forbindelsene.

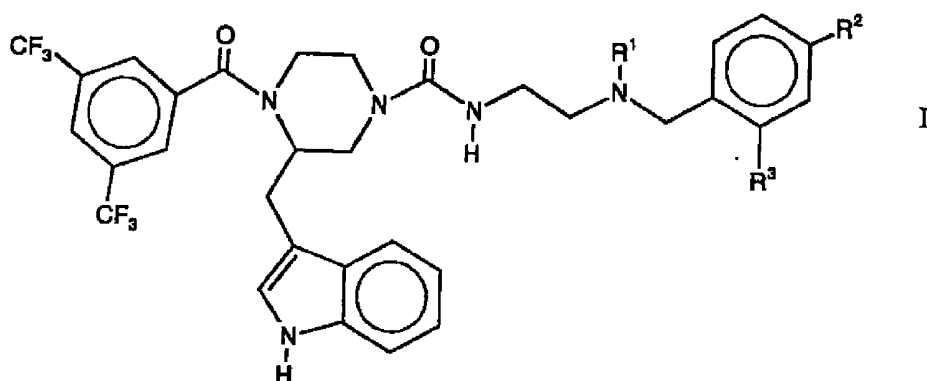
Foreliggende oppfinnelse gjelder nye ureaderivater i hvilke ett nitrogenatom inngår i en piperazinring og det andre er substituert med en benzylaminoetylrest. Disse nye ureaderivater særpreges ved neurokininreseptorantagonistiske egenskaper, med en virkningsprofil som er gunstig for behandling av funksjonelle og betennelsesaktige forstyrrelser i mage- og tarmkanalen hos større pattedyr, særlig mennesker. Videre gjelder oppfinnelsen legemidler som inneholder disse nye forbindelser, så vel som fremgangsmåte for fremstilling av disse forbindelser.

Til grunn for oppfinnelsen ligger oppgaven å utvikle nye medikamenter for behandling av funksjonelle og betennelsesaktige forstyrrelser i mage- og tarmkanalen.

Piperazinderivater med neurokininreseptorantagonistiske egenskaper er allerede kjent fra europeisk patentsøknad med publikasjonsnr. 655 442.

Det er nå oppdaget at en gruppe nye piperazinderivater som er substituert i 2-stilling med en indolylmetylrest og hvor nitrogenatomet i 4-stilling i piperazinringen er en del av en ureagruppe som bærer en benzylaminoetylsubstituent, viser en virkningsprofil som gjør dem egnet for behandling av funksjonelle og betennelsesaktige forstyrrelser i mage- og tarmkanalen. Gruppen av forbindelser ifølge oppfinnelsen særpreges videre ved god tolererbarhet og god oral biotilgjengelighet.

Oppfinnelsens gjenstand er følgende nye forbindelser med formel I,



hvor

R^1 står for hydrogen eller C_1 - C_4 alkyl,

R^2 står for hydrogen eller halogen, og

R^3 står for hydrogen eller C_1 - C_4 alkoksy,

og deres fysiologisk aksepterbare syreaddisjonssalter, så vel som legemidler som kan fremstilles av disse forbindelser.

Dersom substituentene i forbindelser med formel I står for eller inneholder C_1 - C_4 alkyl, kan disse være uforgrenede eller forgrenede, og de inneholder fra 1 til 4, fortrinnsvis fra 1 til 2, karbonatomer.

Dersom R^1 står for C_1 - C_4 alkyl, foretrekkes metyl.

Dersom substituenten R^2 står for halogen, foretrekkes fluor.

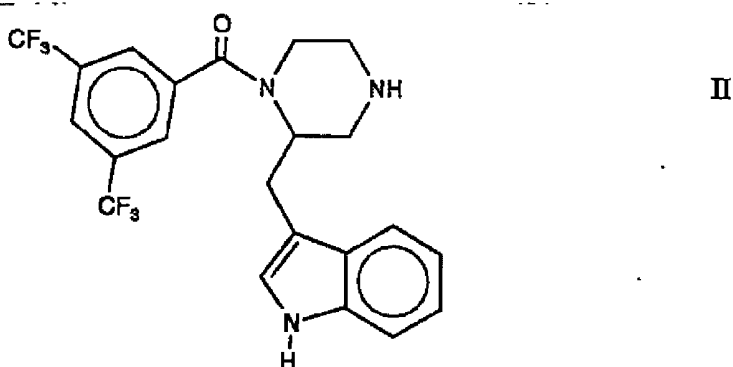
Dersom substituenten R^3 står for C_1 - C_4 alkoksy, foretrekkes metoksy.

Forbindelser med formel I hvori R^2 står for hydrogen og R^3 står for metoksy, eller forbindelser med formel I hvor R^2 står for fluor og R^3 står for hydrogen, foretrekkes.

1H-indolyl-3-yl-metylresten foretrekkes anordnet i 2R-stilling i piperazinringen.

Forbindelsene kan fremstilles på i og for seg kjent måte. Særlig gunstig kan forbindelsene med formel I fremstilles ved at man

a) omsetter forbindelsen med formel II,

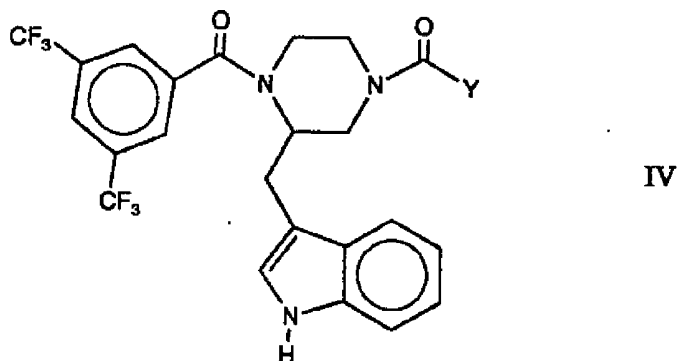


med en reaktiv karbonylforbindelse med den generelle formel III,

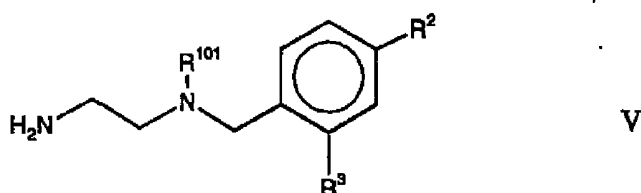


20

hvor Y står for en forlatende gruppe som kan fortrenses med nukleofilt angrep av et primært eller sekundært amin, slik at det dannes en karbamoylforbindelse med den generelle formel IV,

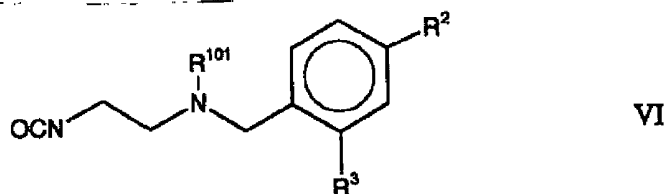


hvor Y har betydningen som angitt ovenfor, og, dersom en syre kan oppstå ved avspaltning av den forlatende gruppe Y fra en forbindelse med formel IV, tilsetning til forbindelsen med formel IV av en ikke-nukleofil organisk base, og deretter omsetning av forbindelsen med formel IV med en forbindelse med den generelle formel V,



hvor R^{101} står for C_1 - C_4 alkyl eller en aminobeskyttelsesgruppe, og R^2 og R^3 har betydningen som angitt ovenfor, fulgt av avspaltning av en eventuell beskyttelsesgruppe R^{101} , eller

b) omsetning av forbindelsen med formel II med en forbindelse med den generelle formel VI,



hvor R^{101} , R^2 og R^3 har betydningene som angitt ovenfor, og deretter avspaltning av en eventuell aminobeskyttelsesgruppe R^{101}

og, om ønskelig, alkylering av de erholdte forbindelser med formel I hvor R^1 står for hydrogen, til forbindelser med formel I hvor R^1 står for C_1 - C_4 alkyl, og om ønskelig overføring av de erholdte forbindelser med formel I til sine syreaddisjonssalter eller overføring av syreaddisjonssalter til frie forbindelser med formel I.

Det kan være hensiktsmessig å omsette en forbindelse med formel II med en reaktiv karbonylforbindelse med formel III ifølge fremgangsmåtevariant a) til en karbamoylforbindelse med formel IV, fulgt av direkte omsetning in situ av denne, eventuelt etter tilsetning av en ikke-nukleofil organisk base, med et amin med formel V. Som forlatende gruppe Y i forbindelser med f.eks. formel III egner seg f.eks. halogener, fortrinnsvis klor, trihalometoksygrupper, fortrinnsvis triklormetoksygrupper, eller imidazolylgrupper. Fortrinnsvis kan fosgen, bis-(triklormetyl)karbonat (trifosgen), klormaursyretriklor-metylester (difosgen) eller karbonyldiimidazol

benyttes som reaktive karbonylforbindelser med formel III. Ved omsetning av et amin med formel V med en karbamoylforbindelse med formel IV fortrenses den forlatende gruppe Y fra forbindelsen med formel IV. Dersom en syre kan oppstå av den således frisatte gruppe Y, kan forbindelsen med formel IV før omsetning med forbindelsen med formel V med fordel tilsettes en ikke-nukleofil organisk base. Dersom Y f eks står for klor, kan saltsyren som dannes ved avspalting av Y oppfanges ved tilsetning av en slik base. Som ikke-nukleofile baser egner seg organiske baser som tertiære nitrogenbaser som er løselige i reaksjonsblandingen, f eks nitrogenholdige N-alkylerte heterosykliske forbindelser som N-lavere alkyl-morfolin eller N-lavere alkylpiperidin, eller tertiære lavere alkylaminer og pyridin, f eks trietylamin, tripropylamin, diisopropyletylamin, pyridin, 4-dimetyl-aminopyridin, 4-dietylaminopyridin eller 4-pyrrolidinopyridin. Baser tilsatt i overskudd kan også benyttes som løsemiddel. Reaksjonen kan utføres i en beholder i et polart, aprotisk løsemiddel som et delvis halogenert lavere hydrokarbon, f eks diklormetan, ved temperaturer mellom -20 °C og romtemperatur, fortrinnsvis ved romtemperatur.

Omsetning av forbindelsen II med et isocyanat med formel VI kan foregå ifølge fremgangsmåtevariant b) på i og for seg kjent måte. Forbindelsene med formel VI kan f eks erholdes fra aminer med formel V ved omsetning med egnede, reaktive karbonylforbindelser. Som reaktive karbonylforbindelser egner seg f eks forbindelser med formel III. Det er hensiktsmessig først å fremstille et isocyanat med formel VI fra et amin med formel V, og dette omsettes så direkte in situ med en forbindelse med formel II. Reaksjonen kan utføres i en reaksjonsbeholder under de betingelser som er angitt ovenfor for fremstilling av forbindelser med formel I ifølge fremgangsmåtevariant a). Det kan være hensiktsmessig å tilsette reaksjonsblandingen et syrebindende reagens. Som syrebindende reagens egner seg de ovenfor angitte ikke-nukleofile baser.

Som aminobeskyttelsesgruppe R^{101} dreier det seg om i seg selv kjente aminobeskyttelsesgrupper, f eks fra peptidkjemien, som kan innføres og senere avspaltes ifølge i seg selv kjente fremgangsmåter. Egnede beskyttelsesgrupper er f eks kjent fra J.A.W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press 1973, eller T.W. Green og P.G.M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley and Sons 1991.

Som aminobeskyttelsesgruppe R^{101} egner seg f eks grupper med omfattende stabilitet i surt og alkalisk miljø som kan avspaltes under hydrogenolytiske betingelser. Et eksempel på slike grupper er fenyl-lavere-alkyl-oksykarbonylgrupper som benzyloksykarbonylgruppen (i det påfølgende forkortet CbO). Fortrinnsvis kan benzyloksykarbonylgrupper som kan avspaltes ved kjente fremgangsmåter, f eks ved katalytisk hydrogenering, anvendes for erholdelse av forbindelser med formel I, hvori R^1 står for hydrogen. Avspalting av beskyttelsesgruppen kan foregå i et organisk

løsemiddel som er ikke-reaktivt under de benyttede reaksjonsbetingelser, f eks en lavere alifatisk eter som tetrahydrofuran (i det påfølgende forkortet som THF), eller dietyleter, lavere alkanoler, f eks metanol eller etanol, eller organiske syrer, f eks lavere alifatiske karboksylsyrer som eddiksyre, eller i blandinger av disse løsemidler, og i nærvær av en hydrogeneringskatalysator. Som hydrogeneringskatalysator egner seg f eks edelmetallkatalysatorer som palladium av aktivt kull. Reaksjonen utføres hensiktsmessig ved romtemperatur. Et hydrogentrykk som er egnet for hydrogenering, ligger mellom 2 og 7 bar, fortrinnsvis mellom 3 og 5 bar.

Forbindelsene med formel I hvori R^1 står for hydrogen, kan om ønskelig overføres til forbindelser med formel I hvori R^1 står for C_1 - C_4 alkyl, etter i og for seg kjente fremgangsmåter for aminoalkylering. For å oppnå dette kan forbindelsene med formel I f eks alkyleres reduktivt ved omsetning med C_1 - C_4 alifatiske aldehyder som formaldehyd. Omsetningen kan skje under betingelser som er egnet for reduktiv alkylering av aminer, f eks under betingelser som benyttes for katalytisk hydrogenering. Som hydrogeneringskatalysatorer egner seg metallkatalysatorer som Raney-nikkel. Som løsemiddel kan fortrinnsvis lavere alkanoler benyttes. Den katalytiske hydrogenering kan gjennomføres under de samme betingelser som er beskrevet ovenfor for hydrogenolytisk avspalting av aminobeskyttelsesgruppe R^{101} .

En annen mulighet for alkyleringen er omsetning av forbindelser med formel I hvori R^1 står for hydrogen, med C_1 - C_4 alifatiske alkylhalogenider som alkylbromider eller alkyljodider, fortrinnsvis metyljodid, alkylsulfater eller alkylsulfonsyreestere, under reaksjonsbetingelser som generelt er egnet for nukleofile substitusjonsreaksjoner. Reaksjonen kan utføres i et polart, aprotonisk løsemiddel som dimetylformamid (i det påfølgende forkortet DMF), dimetylsulfoksid (i det påfølgende forkortet DMSO) eller acetonitril ved temperaturer mellom $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ og $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, fortrinnsvis mellom $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ og $90\text{ }^{\circ}\text{C}$, og ved anvendelse av et syrebindende reagens. Som syrebindende reagens egner seg f eks de organiske baser som er angitt ovenfor for omsetning av forbindelser med formel IV med forbindelser med formel V.

Som fysiologisk aksepterbare salter av forbindelser med formel I kommer disses salter med uorganiske syrer, f eks svovelsyre, fosforsyre eller hydrogenhalogenidsyrer, fortrinnsvis saltsyre, eller organiske syrer, f eks lavere alifatiske mono-, di- eller trikarboksylsyrer som maleinsyre, fumarsyre, melkesyre, vinsyre, sitronsyre, eller med sulfonsyrer, f eks lavere alkansulfonsyrer som metansulfonsyre eller eventuelt benzensulfonsyrer substituert i benzenringen med halogen eller lavere alkyl, f eks p-toluensulfonsyre, på tale.

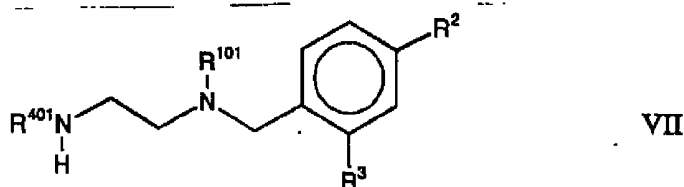
Forbindelsene med formel I kan isoleres fra reaksjonsblandingen og renses ifølge kjente fremgangsmåter. Syreaddisjonssalter kan overføres til frie baser på egnet vis, og disse kan om ønskelig overføres til farmasøytisk aksepterbare syreaddisjonssalter på kjent måte.

Forbindelsene med formel I inneholder et kiralt karbonatom, nemlig karbonatomet i 2-stilling i piperazinskjelettet som bærer 1H-indol-3-yl-metylresten. Forbindelsene med formel I kan følgelig foreligge i flere stereoisomere former. Foreliggende oppfinnelse omfatter både blandinger av optiske isomerer og isomerrene forbindelser med formel I. Forbindelser med formel I hvori indolylmetylresten er anordnet i 2R-stilling i piperazinringen foretrekkes.

Dersom det ved syntese av forbindelser med formel I benyttes blandinger av optiske isomerer av utgangsforbindelsen med formel II, erholdes også forbindelsene med formel I i form av blandinger av optiske isomerer. Med utgangspunkt i stereo-kjemisk enhetlige former av utgangsforbindelsen kan også stereokjemisk enhetlige forbindelser med formel I erholdes. De stereokjemiske enhetlige forbindelser med formel I kan erholdes fra blandinger av optiske isomerer på kjent måte, f eks ved kromatografisk separasjon i kirale medier eller ved omsetning med egnede, optisk aktive syrer, f eks vinsyre eller kamfer-10-sulfonsyre, fulgt av separasjon av de optisk aktive antipoder ved fraksjonert krystallisering av de diastereomere salter.

Begge de mulige enantiomerer av forbindelsen med formel II er kjent fra EP-A 655 422 og kan fremstilles ved fremgangsmåten som er beskrevet i denne patentsøknad eller ved analoge fremgangsmåter.

Aminene med formel V kan erholdes fra dobbelt aminobeskyttede diaminoforbindelser med den generelle formel VII,

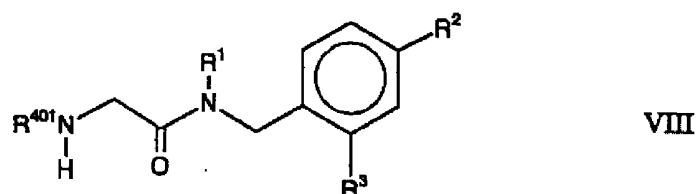


hvor R^{101} , R^2 og R^3 har betydningene som angitt ovenfor og R^{401} står for en aminobeskyttelsesgruppe, ved at man selektivt avspalter aminobeskyttelsesgruppen R^{401} fra forbindelsene med formel VII på kjent måte.

Som aminobeskyttelsesgruppe R^{401} egner seg aminobeskyttelsesgrupper som er alminnelig kjent f eks fra peptid-kjemien, f eks de som er kjent fra kilden angitt ovenfor. Som aminobeskyttelsesgruppe R^{401} egner seg f eks grupper som kan avspaltes selektivt i det minste i moderat surt miljø, f eks ved tilsetning av p-toluen-sulfonsyre, trifluoreddiksyre eller saltsyre i gassform eller løst i løsemiddelet, og som har høy stabilitet under hydrogenolytiske og alkaliske betingelser. Blant disse regnes f eks skjulte lavere alkyloksykarbonyl-grupper som tert.-butyloksykarbonylgrupper (i det påfølgende forkortet BOC). Fortrinnsvis kan R^{401} stå for tert.-butyloksy-karbonyl-gruppen.

Forbindelser med formel VII kan erholdes ved kjente fremgangsmåter,

f eks ved reduksjon av amider med den gene-relle formel VIII,

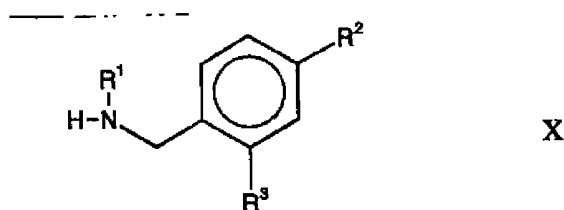


hvor R^1 , R^2 , R^3 og R^{401} har betydningene angitt ovenfor, og, dersom R^1 står for hydrogen, påfølgende innføring av en beskyttelsesgruppe R^{101} . Reduksjonen kan utføres med komplekse alkalimetallhydrider som litiumaluminiumhydrid som reduksjonsmiddel. Som løsemidler egner seg organiske løsemidler som er ikke-reaktive under reaksjonsbetingelsene, f eks lavere alifatisk eter som dioksan, THF eller dietyl-eter, eller blandinger av disse løsemidler. Et egnet temperaturområde ligger mellom -20 °C og reaksjonsblandingens koketemperatur. Reduksjonen kan fortrinnsvis utføres ved romtemperatur.

Amidene med formel VIII kan erholdes ved omsetning av amino-beskyttede ω -aminokarboksyler med den generelle formel IX,



hvor R^{401} har betydningen som angitt ovenfor, med aminer med den generelle formel X,



hvor R^1 , R^2 og R^3 har betydningene som er angitt ovenfor, ved fremgangsmåter som er egnet for dannelsen av amidgrupper ved aminoacylering. Som acyleringsmiddel kan syrene med formel IX eller egnede derivater av disse benyttes. Som egnede derivater kommer først og fremst blandede syreanhydrider og syreklorider eller syrebromider av syrene med formel IX, eller blandede estere av syrene med formel IX med klormaursyre eller med organiske sulfonsyrer, f eks aromatiske sulfonsyrer, f eks benzensulfonsyrer substituert med lavere alkyl eller halogen, for eksempel p-toluensulfonsyre, på tale. Acyleringen kan utføres i et organisk løsemiddel som er ikke-reaktivt under reaksjonsbetingelsene ved temperaturer mellom -20 °C og

romtemperatur, fortrinnsvis ved romtemperatur. Som løsemiddel egner seg aromatiske hydrokarboner som benzen eller toluen, alifatiske etere som dietyleter, THF eller dioksan, delvis halogenerte lavere hydrokarboner som diklormetan, eller blandinger av disse løsemidler.

5 Acyleringen kan hensiktsmessig utføres i nærvær av et syrebindende reagens, særlig når et syrehalogenid av syrene med formel IX anvendes som acyleringsmiddel. Som syrebindende reagenser egner seg de ikke-nukleofile organiske baser som er angitt ovenfor, for omsetning av karbamoylforbindelser med formel IV med forbindelsene med formel V.

10 Dersom syrene med formel IX selv benyttes som acyleringsmiddel, kan omsetning av aminer med formel X med syrene med formel IX hensiktsmessig utføres i nærvær av et koblingsreagens egnet for amiddannelse kjent fra peptidkjemien. Som eksempel på koblingsreagenser som fremmer amiddannelse med de frie syrer ved at de reagerer med syren in situ under dannelse av et reaksjonsaktivt syrederivat, kan
15 spesielt nevnes: alkylkarbodiimider, f eks sykloalkylkarbodiimider som di-sykloheksylkarbodiimid eller 1-etyl-3-[(dimetylamino)-propyl]-karbomdiimid, diisopropylkarbodiimid og karbonyldiimidazol. Omsetning i nærvær av et koblingsreagens kan med fordel utføres ved temperaturer mellom -30 °C og +50 °C i løsemidler som halogenerte hydrokarboner og/eller aromatiske løsemidler som eventuelt substituerte
20 benzener, og eventuelt i nærvær av en syrebindende organisk forbindelse, f eks en av de ovenfor beskrevne ikke-nukleofile nitrogenbaser. Syrene med formel IX danner aminobeskyttede derivater av 2-aminoeddiksyrederivatet som er kjente i ubeskyttet form og som kan overføres til de aminobeskyttede derivater ved kjente fremgangsmåter.

25 Forbindelsene med formel X er kjente, eller de kan fremstilles ved kjente fremgangsmåter fra kjente forbindelser.

Forbindelsene med formel I og deres syreaddisjons-salter besitter neurokinin (= NK)-reseptorantagonistiske egenskaper og er egnede for behandling av sykdomstilstander hvor neurokininer deltar som formidlere. I tillegg særpreges gruppen
30 av forbindelser ifølge oppfinnelsen ved en spesielt gunstig, selektiv aktivitetsprofil som særpreges ved en høy affinitet overfor NK-1-reseptorer og relativt lav affinitet for NK-2-reseptorer. Videre viser disse forbindelser god oral aktivitet.

Grunnet sin aktivitetsprofil egner seg gruppen av forbindelser ifølge oppfinnelsen spesielt for hemming av reaksjoner hvor binding til NK-1-reseptorene av
35 neurokininer som substans P inngår. Følgelig egner forbindelsene seg selektivt til behandling av sykdomstilstander hvor substans P deltar. Substans P spiller en rolle ved smerteoverføring, emesis, neurogene betennelser, urinblærebetennelser, leddbetennelsessykdommer og astmatiske plager. Grunnet den på fordelaktig måte mot mage- og tarmkanalen rettede virkning egner seg forbindelsenes aktivitetsprofil for

funksjonelle og betennelsesmessige forstyrrelser i mage- og tarmkanalen. Videre antas det generelt for forbindelser som i tillegg til høy affinitet for NK-1-reseptorene også viser en viss affinitet for NK-2-reseptorene, at disse to virkningskomponenter har en gunstig synergistisk innflytelse på mekanismer som deltar i dette sykdomsbildet.

- 5 Blant de funksjonelle forstyrrelser som kan behandles med forbindelsene ifølge oppfinnelsen, regnes spesielt forstyrrelsene i den lavere tarmkanal som betegnes "irritable bowel syndrome" (= IBS) eller irritabelt tarmsyndrom. Fremstående symptomer ved IBS er smerter i den lavere buk som ser ut til å skyldes en oversensitivitet i det viscerale efferente nervesystem, og unormal avføring, særlig
- 10 unormalt påskyndet passasje av avføringen i kolon. Den forhøyede viscerale smertefølsomhet overfor mekanisk eller kjemisk irritasjon i tarmkanalen fører til at IBS-pasienter allerede ved fysiologisk, fordøyelsesbetinget, svak utvidelse av kolon, f.eks. allerede ved lav gassdannelse og lett oppblåsning som hos friske mennesker knapt merkes, lider av kraftige viscerale smerter. Blant inflammatorisk betingede
- 15 forstyrrelser i mage- og tarmkanalen som påvirkes gunstig av forbindelsene ifølge oppfinnelsen, hører de betennelsesaktige forstyrrelser i tynntarm- og tykktarmområdet som generelt gis fellesbetegnelsen IBD (= "inflammatory bowel disease"), blant annet Colitis ulcerosa og Morbus Crohn. Forbindelsenes virkningsprofil særpreges ved god oral biotilgjengelighet med gunstig selektivitet for de neurokininreseptor-
- 20 antagonistiske virkninger, i forhold til uønskede bivirkninger. I farmakologiske analyseforsøk kunne således ingen kardiovaskulære kalsiumantagonistiske virkninger påvises i doseområdet som blokkerer NK-1-reseptoren.

De angitte eksempelnumre viser til de senere beskrevne fremstillings-
eksempler.

25

Beskrivelse av de farmakologiske analysefremgangsmåter

1. Bestemmelse av analyseforbindelsenes bindingsevne til NK-1-reseptorer *in vitro*.

30

Analyseforbindelsenes affinitet for humane NK-1-reseptorer måles *in vitro*. Hemming av binding av det fysiologiske neurokinin (substans P) til neurokinin-1-reseptorer bestemmes.

35

Reseptorbindingsundersøkelsene utføres med [^3H]-substans P som ligand. For bindingsforsøket inkuberes forskjellige prøver av et membranpreparat fra CHO-celler (= eggceller fra kinesisk hamster, "chinese hamster oocytes"), som uttrykker den humane NK-1-reseptor, med en løsning av den merkede ligand, hvor inkubasjonsblandingen er uten analyseforbindelse eller er tilsatt forskjellige konsentrasjoner av analyseforbindelsen. Deretter utføres i prøvene en atskillelse av bundet og fri ligand ved hjelp av glassfiberfiltrering. Fraksjonen som forblir i filteret,

vaskes flere ganger med bufferløsning, og deretter måles radioaktiviteten i fraksjonen som forblir i filteret i en beta-scintillasjonsteller. IC_{50} bestemmes som den konsentrasjon av den aktuelle analyseforbindelse som gir halvt maksimal fortregning av den bundne ligand. Fra denne beregnes inhibisjonskonstanten (K_1 -verdien) for den aktuelle analyseforbindelse. I denne analysemodell viste forbindelsen ifølge eksempel 1 en K_1 -verdi på 2,1 nmol/l for affiniteten til humane NK-1-reseptorer.

2. Bestemmelse av analyseforbindelsenes bindingsevne til NK-2-reseptorer *in vitro*

Analyseforbindelsenes affinitet for humane NK-2-reseptorer måles *in vitro*. Hemming av binding av forbindelsen SR-48 968 til NK-2-reseptorer måles. SR-48 968 er en syntetisk fremstilt forbindelse som er kjent som en spesifikk NK-2-antagonist.

Reseptorbindingsundersøkelsene utføres med SR 48 968 som ligand. Forsøkets utførelse tilsvarer fremgangsmåten i den farmakologiske analyse for bestemmelse av analyseforbindelsenes bindingsevne til NK-1-reseptorer *in vitro*. Her anvendes imidlertid, til forskjell fra den tidligere beskrevne fremgangsmåte, forskjellige prøver av et membran-preparat fra CHO-celler som uttrykker den humane NK-2-reseptor. I denne analysemodellen viste forbindelsene som er angitt i tabell 1 nedenfor, de angitte K_1 -verdier for affinitet til humane NK-2-reseptorer:

Tabell 1: Analyseforbindelsenes affinitet for humane NK-2-reseptorer

Eksempel nr.	K_1 [μ mol/l]
1	0,06
2	0,05
3	0,30

3. Bestemmelse av analyseforbindelsenes funksjonelle NK-1-antagonisme i isolert vev fra marsvin *in vitro*

Den NK-1-reseptorantagoniserende virkning av analyseforbindelsene ble målt *in vitro* i aorta-preparat fra Pir-bright-White marsvin inkubert i et oksygenert næringsmedium. Analyseforbindelsenes hemming av aortapreparatenes tonusreaksjon etter stimulering med en NK-1-agonist substans P ble bestemt.

For måling av karmuskulaturens kontraksjon ble preparatet festet på en krok og forbundet med et kraftmålingsinstrument med en tråd, og kontraksjonene ble således registrert på en skriver. Aortapreparatene ble tonisert med fenylefrin. Deretter

ble NK-1-reseptorene i preparatet stimulert med 0,01 μmol substans P før og etter tilsetning av analyseforbindelsen, hvorved relaksasjon av tonus ble oppnådd. Relaksasjon før og etter tilsetning av analyseforbindelse ble kvantifisert som prosent. Som mål på forbindelsenes effektivitet ble konsentrasjonen halv maksimal hemming (= IC_{50}) beregnet. Denne angir den konsentrasjonen som gir halv maksimal hemming av tonusrelaksasjonen. I denne analysemodell viste analyseforbindelsene angitt i den påfølgende tabell 2 de angitte IC_{50} -verdier for halvmaksimal hemming:

Tabell 2: Funksjonell NK-1-antagonisme av analyseforbindelsene på isolert marsvinvev

Eksempel nr.	IC_{50} [$\mu\text{mol/l}$]
1	0,001
2	0,0012
3	0,0015

4. Bestemmelse av analyseforbindelsenes substans P-antagonistiske aktivitet *in vivo*

For påvisning av analyseforbindelsenes substans P-antagonistiske virkning ble hypotensjon hos marsvin fremkalt ved tilførsel av substans P benyttet som standardanalysemodell for substans P-induserte farmakologiske virkninger. Analyseforbindelsenes hemmende aktivitet ovenfor substans P-indusert blodtrykk-reduksjon etter intravenøs (= i.v.) og intraduodenal (= i.d.) tilførsel av analyseforbindelsene ble bestemt.

Hannmarsvin fikk implantert et kateter i en Arteria Carotis Communis og i en Vena Jugularis under narkose (ketamin 67 mg/kg, Xylazin 13 mg/kg). Arteriekateteret benyttes til blodtrykksmåling. Målingen utføres med en Stratham 23d/B trykkmåler. Venekateteret benyttes til tilførsel av substans P henholdsvis tilførsel av analyseforbindelse på intravenøs måte. Etter en ekvibreringsfase på 20 minutter tilføres 50 pmol/dyr substans P som Bolus i.v. Deretter følger tilførsel av analyseforbindelsen. Ved den intravenøse undersøkelse tilføres analyseforbindelsen i doser på 0,1, 0,46 hhv. 1,0 $\mu\text{mol/kg}$ til grupper som hver består av 4 til 6 dyr. Kontrollgruppen mottar den tilsvarende mengde av en fysiologisk saltløsning. 1, 15, 30, 45 og 60 minutter etter tilførsel av forbindelse tilføres 50 pmol substans P intravenøst til hvert dyr. Ved forsøkene med intraduodenal tilførsel av forbindelsene ble i motsetning til beskrivelsen ovenfor i tillegg et kateter implantert i forsøksdyrenes duodenum. Analyseforbindelsene ble tilført 3 til 6 dyr i doser på 0,046, 0,1, 0,46, 1,0, 4,6 og 10,0

$\mu\text{mol/kg}$ gjennom disse katetere. I disse forsøkene ble tylose benyttet som bærerstoff. Gjennomsnittlig arterielt blodtrykk ble bestemt før og ca et minutt etter første tilførsel av substans P (før tilførsel av analyseforbindelsen), og fra denne ble den maksimale substans P-induserte blodtrykkssenkning bestemt. Etter 60 minutter sammenlignes
 5 gjennomsnittlig arteriell blodtrykksverdi hos kontrolldyr som kun er behandlet med substans P og dyr som er behandlet med substans P og analyseforbindelse, og fra forskjellen beregnes hemming av substans P-indusert blodtrykks-senkning bevirket av den aktuelle analyseforbindelsesdose i prosent, relativt til den maksimale blodtrykkssenkning. Som ED_{50} bestemmes den dose som gir 50 % hemming av den
 10 substans P-induserte blodtrykkssenkning.

I denne analysemodellen viste forbindelsen ifølge eksempel 1 etter intravenøs tilførsel en ED_{50} på $0,2 \mu\text{mol/kg}$, og etter i.d.-tilførsel en ED_{50} på $0,08 \mu\text{mol/kg}$. Dette forhold mellom i.d.- og i.v.-aktivitet kan tyde på at forbindelsen er godt egnet for oral tilførsel, og at virkningen først og fremst inntreffer i mage- og
 15 tarmkanalen.

I den samme analysemodellen ble analyseforbindelsene også undersøkt for blodtrykkssenkende virkninger beroende på kalsiumantagonistiske egenskaper. For dette ble kontrolldyrgrupper kun tilført analyseforbindelsesdoser uten tilførsel av substans P. Forbindelsen ifølge eksempel 1 viste i det undersøkte doseområdet (i.v.-
 20 doser opp til $1 \mu\text{mol/kg}$ og i.d.-doser opp til $10 \mu\text{mol/kg}$) ingen signifikant blodtrykks-senkning. Dette tyder på at ingen kalsiumantagonistiske virkninger opptrer i dette doseringsområdet. De overraskende lave kalsiumantagonistiske bivirkninger av forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan også påvises i *in vitro*-standardanalysemodeller, f.eks i isolert aortavev fra marsvin.

Forbindelsene kan tilføres i egnede farmasøytiske preparater. De
 25 anvendte doser kan variere fra individ til individ og ut fra hvilken tilstand som skal behandles og den anvendte forbindelse. Generelt egner imidlertid legemiddelformer med et innhold av aktiv forbindelse på fra 0,1 til 80 mg, fortrinnsvis fra 1 til 10 mg aktiv forbindelse pr enhetsdose, seg for tilførsel til mennesker og større pattedyr.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen tilføres sammen med øvrige farmasøytiske hjelpe- og/eller bærerstoffer i faste eller flytende farmasøytiske preparater. Som eksempler på faste preparater kan oralt tilførbare preparater som tabletter, drasjeer, kapsler, pulvere eller granulater nevnes, likeså stikkpiller. Disse preparater kan inneholde farmasøytisk vanlige uorganiske og/eller organiske bærerstoffer,
 30 f.eks talkum, melkesukker eller stivelse, i tillegg til farmasøytisk vanlige hjelpemidler, f.eks glidemidler eller tablettedintegreringsmidler. Flytende preparater som suspensjoner eller emulsjoner av den aktive forbindelse kan inneholde vanlige fortynningsmidler som vann, oljer og/eller suspensjonsmidler som polyetylglykol

og lignende. I tillegg kan ytterligere hjelpestoffer tilsettes, f eks konserveringsmidler, smakskorrigerende midler og lignende.

De aktive forbindelser kan blandes og utformes med de farmasøytiske hjelpe- og/eller bærerstoffer ifølge kjente fremgangsmåter. For fremstilling av faste legemiddelformer kan de aktive forbindelser for eksempel blandes med hjelpe- og/eller bærerstoffene på sedvanlig måte og granuleres vått etter tørt. Granulatet eller pulveret kan fylles direkte i kapsler eller presses til tablettkjerne på sedvanlig måte. Disse kan om ønskelig belegges på kjent måte.

De påfølgende eksempler er ment å illustrere oppfinnelsen nærmere.

Eksempel 1:

(2R)-1-[3,5-bis(trifluormetyl)benzoyl]-2-(1H-indol-3-yl-metyl)-4-{2-[N-(2-metoksybenzyl)aminoetyl]aminokarbonyl}-piperazin

A) 101,5 g tert.-butyloksykarbonylglycin løses under nitrogenatmosfære i 800 ml diklormetan og omsettes med 96,5 ml trietylamin. 58 ml klormaursyretrietylester tildryppes langsomt under isavkjøling, og blandingen omrøres i ytterligere 2 timer ved romtemperatur, hvorefter en løsning av 79,8 g 2-metoksybenzyl-amin i 400 ml diklormetan tildryppes. Etter omrøring over natten tilsettes 1400 ml av en 50 % vandig vinsyreløsning, og det omrøres i 30 minutter. Deretter atskilles den organiske fase, tørkes over natriumsulfat og inndampes under redusert trykk. Restmaterialet krystalliseres fra dietyler/diklormetan og tørkes under høyvakuum. 88,9 g N-BOC-C-(2-metoksy)-benzylamin glycin erholdes som et hvitt pulver, smp. = 97 - 97,7 °C.

B) 40,0 g av produktet erholdt ovenfor løses under nitrogenatmosfære i 600 ml av en blanding av toluen og THF (1:1), og tilsettes dråpevis til en isavkjølt blanding av 21,0 g LiAlH₄ i 500 ml THF. Blanding omrøres over natten ved romtemperatur og tilsettes deretter dråpevis en blanding av 20 ml vann og 150 ml THF under isavkjøling, og deretter ved romtemperatur først 20 ml 15 % vandig natriumhydroksid, fulgt av 60 ml vann. Løsningen avsuges fra det dannede bunnfall, og filtratet inndampes under redusert trykk. Restmaterialet løses i 240 ml 7,5 % vandig vinsyre, og vannfasen ekstraheres med diklormetan. Deretter tvinges vannfasen til pH 10 ved tilsetning av 200 ml 10 % vandig natriumhydroksid, og den ekstraheres ytterligere 3 ganger med diklormetan. De sammenslåtte diklormetanfaser tørkes over natriumsulfat, inndampes under redusert trykk og tørkes under høyvakuum. 28,0 g oljeaktig N-BOC-N'-(2-

metoksy)benzyl-1,2-diamino-etan erholdes og omsettes videre uten rensing.

5 C) 5,0 g av produktet erholdt ovenfor løses under nitrogenatmosfære i 50 ml THF. 20 ml 1N vandig natriumhydroksid tilsettes. I alt 3,05 g klormaur-syrebenzylester tilsettes dråpevis sammen med 1N vandig natriumhydroksid under isavkjøling, slik at pH-verdien ikke kommer under 10. Etter avsluttet tilsetning omrøres det over natten ved romtemperatur. Deretter tilsettes 150 ml metyl-tert.-butyleter, vannfasen fjernes, og den 10 organiske fase vaskes 2 ganger med 50 ml vann, en gang med 50 ml 15 % vandig vinsyreløsning og ytterligere 2 ganger med 50 ml vann. Den organiske fase tørkes så over natriumsulfat, inndampes under redusert trykk og tørkes under høyvakuum. 4,9 g N-BOC-N'-(2-metoksy)benzyl-N'-Cbo-1,2-diaminoetan erholdes og omsettes videre uten rensing.

15 D) 4,8 g av produktet erholdt ovenfor løses i 50 ml diklormetan. 4,4 g p-toluensulfonsyre tilsettes, og reaksjonsblandingen omrøres over natten. Deretter tilsettes en løsning av 7,5 g NaOH i 75 ml vann. Den organiske fase atskilles, vaskes en gang med 75 ml vann og tørkes over 20 natriumsulfat. Løsemiddelet inndampes under redusert trykk, og produktet tørkes under høyvakuum. 3,5 g oljeaktig N-(2-metoksy)benzyl-N-Cbo-1,2-diaminoetan erholdes og omsettes videre uten rensing.

25 E) 2,0 g (2R)-1-[3,5-bis(trifluormetyl)benzoyl]-2-(1H-indol-3-ylmetyl)-piperazin løses i 100 ml diklor-metan. Til dette tilsettes først 0,6 g trifosgen løst i 20 ml diklormetan, deretter 12,0 ml diisopropyletylamin løst i 20 ml diklormetan. Reaksjonsblandingen omrøres i 1 time ved romtemperatur og tilsettes deretter dråpevis 2,8 g av aminoforbindelsen erholdt ovenfor, løst i 20 ml diklormetan. Reaksjonsblandingen omrøres i 30 ytterligere 18 timer, og vaskes deretter først med 10 % vandig kaliumhydrogensulfatløsning, så med vann og på ny med natriumhydrogenkarbonatløsning. Deretter tørkes diklormetanfasen over natriumsulfat og inndampes under redusert trykk. Kromatografi av restmaterialet på kiselgel (løsemiddel: diklormetan/metanol 3:1) ga 2,5 g 35 oljeaktig (2R)-1-[3,5-bis(trifluormetyl)benzoyl]-2-(1H-indol-3-ylmetyl)-4-{2-[N-(2-metoksybenzyl)-N-Cbo-aminoetyl]aminokarbonyl}piperazin som omsettes videre uten rensing.

F) 2,5 g av produktet erholdt ovenfor løses i 400 ml etanol og tilsettes 0,5 g 10 % palladiumkatalysator på aktivt kull. Deretter hydrogeneres blandingen ved et hydrogentrykk på 4 bar i 6 timer. Katalysatoren frafiltreres og løsemidlet inndampes under redusert trykk. Kromatografi på kiselgel (løsemiddel: diklor-metan/metanol 9:1) ga 1,0 g rå tittel-forbindelse som ble overført til hydroklorider ved behandling med dietyleter tilsatt HCl. Smp. = 138 til 140 °C.

Ifølge fremgangsmåtene beskrevet ovenfor kunne også forbindelsene angitt i den påfølgende tabell 3 fremstilles:

Tabell 3:

Ytterligere forbindelser med formel I

Eksempel nr.	R ¹	R ²	R ³
2	CH ₃	H	OCH ₃
3	H	F	H

Eksempel I:

(2R)-1-[3,5-bis(trifluormetyl)benzoyl]-2-(1H-indol-3-ylmetyl)-4-{2-[N-(2-metoksybenzyl)-aminoetyl]aminokarbonyl}-piperazin-holdige tabletter

Tabletter med følgende sammensetning ble fremstilt:

(2R)-1-[3,5-bis(trifluormetyl)-benzoyl]-2-(1H-indol-3-ylmetyl)-4-{2-[N-(2-metoksybenzyl)-amino-etyl]aminokarbonyl}-piperazin-

hydroklorid	20 mg
maisstivelse	60 mg
melkesukker	135 mg
gelatin (som 10 %-ig løsning)	6 mg

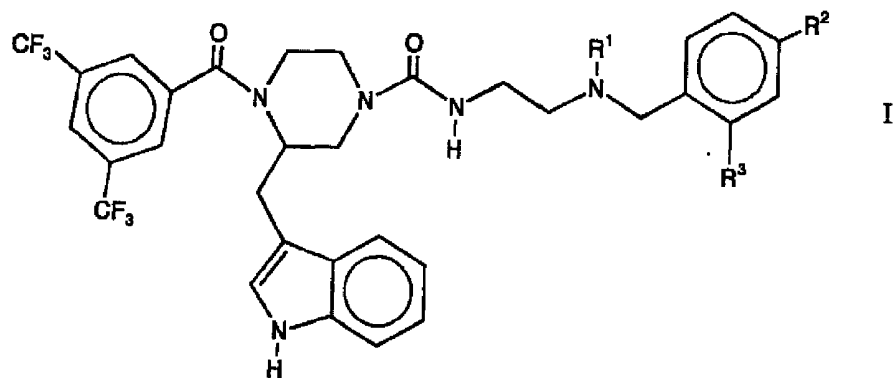
Den aktive forbindelse, maisstivelsen og melkesukkeret ble utrørt i den 10 %-ige gelatinløsning. Massen ble knust, og det fremstilte granulat ble overført til et egnet brett og tørket ved 45 °C. Det tørkede granulat ble ført gjennom en knusemaskin og blandet i en mikser med de ytterligere, følgende hjelpestoffer:

Talkum	5 mg
Magnesiumstearat	5 mg
Maisstivelse	9 mg

og deretter utpresset til tabletter på 240 mg.

Patentkrav

1. Forbindelse,
 5 karakterisert ved at den har den generelle formel I



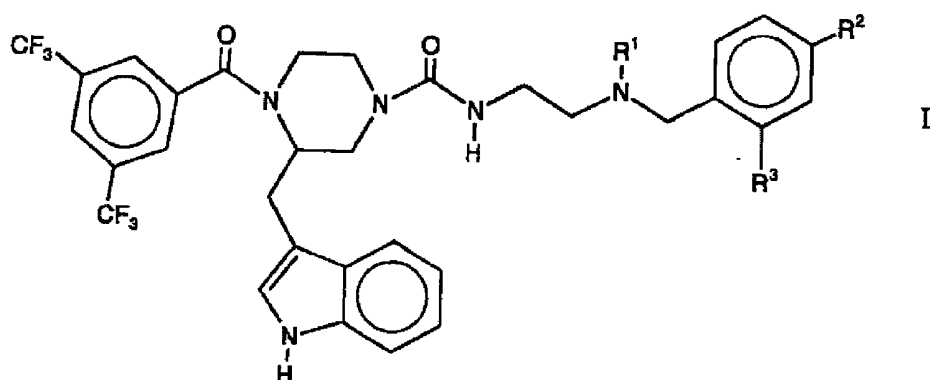
hvor

- R^1 står for hydrogen eller C_1 - C_4 alkyl,
 R^2 står for hydrogen eller halogen, og
 10 R^3 står for hydrogen eller C_1 - C_4 alkoksy,
 så vel som dens fysiologisk aksepterbare syreaddisjonssalter.

2. Forbindelse ifølge krav 1,
 karakterisert ved at den er (2R)-1-[3,5-bis-(trifluormetyl)-benzoyl]-2-(1H-
 15 indol-3-ylmetyl)-4-{2-[N-(2-metoksybenzyl)-aminoetyl]aminokarbonyl}-piperazin og
 dennes fysiologisk aksepterbare syreaddisjonssalter.

3. Legemiddel,
 karakterisert ved at det inneholder en farmakologisk aktiv mengde av en
 20 forbindelse ifølge krav 1 og vanlige farmasøytiske hjelpe- og/eller bærerstoffer.

4. Fremgangsmåte for fremstilling av forbindelser med den generelle
 formel I,



hvor

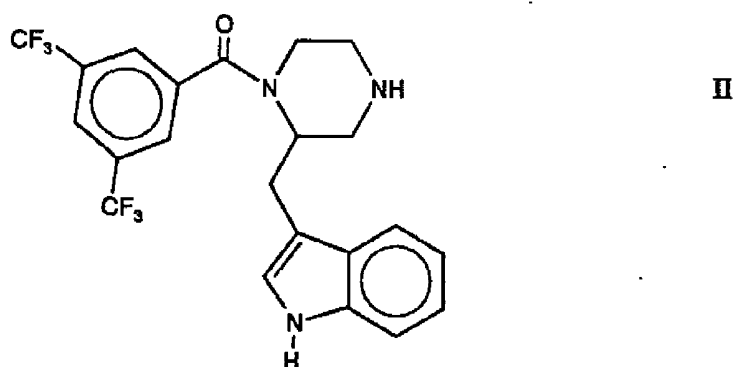
R^1 står for hydrogen eller C_1 - C_4 alkyl,

R^2 står for hydrogen eller halogen, og

R^3 står for hydrogen eller C_1 - C_4 alkoxy,

så vel som disses fysiologisk aksepterbare syreaddisjonssalter, karakterisert ved at den omfatter

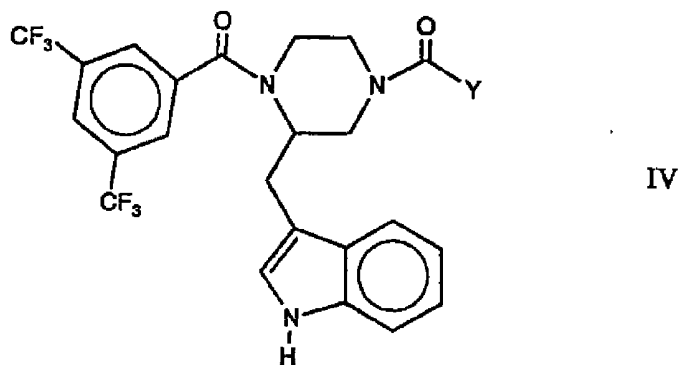
a) omsetning av forbindelsen med formel II



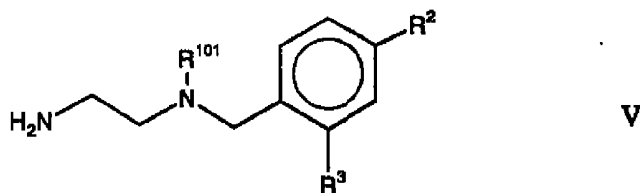
med en reaktiv karbonylforbindelse med den generelle formel III,



hvor Y står for en forlatende gruppe som kan fortrenses ved nukleofilt angrep av et primært eller sekundært amin, til en karbamoylforbindelse med den generelle formel IV,

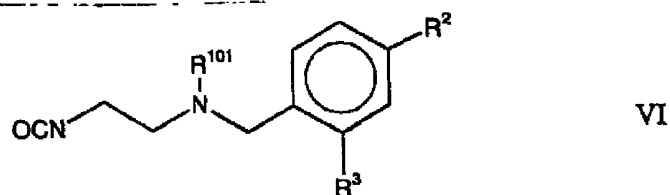


hvor Y har betydningen som angitt ovenfor, og, dersom en syre oppstår ved avspalting av den forlatende gruppe Y fra en forbindelse med formel IV, tilsetning til den erholdte forbindelse med formel IV av en ikke-nukleofil organisk base, og deretter omsetning av forbindelsen med formel IV med en forbindelse med den generelle formel V,



hvor R^{101} står for C_1 - C_4 alkyl eller en aminobeskyttelsesgruppe, og R^2 og R^3 har betydningene som angitt ovenfor, fulgt av avspalting av en eventuell beskyttelsesgruppe R^{101} , eller

b) omsetning av forbindelsen med formel II med en forbindelse med den generelle formel VI, _____



hvor R^{101} , R^2 og R^3 har betydningene som angitt ovenfor, fulgt av avspalting av en eventuell aminobeskyttelsesgruppe R^{101} ,

og om ønskelig alkylering av en erholdt forbindelse med formel I hvor R^1 står for hydrogen, til en forbindelse med formel I hvori R^1 står for C_1 - C_4 alkyl, og om ønskelig overføring av en erholdt forbindelse med formel I til et syreaddisjonssalt eller overføring av et syreaddisjonssalt til en fri forbindelse med formel I.

5

10

15

20

25

30

35