



NORGE

(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **304519**

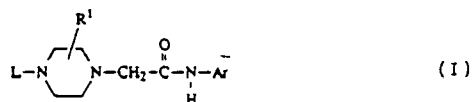
(13) B1

(51) Int Cl⁶ C 07 D 241/04

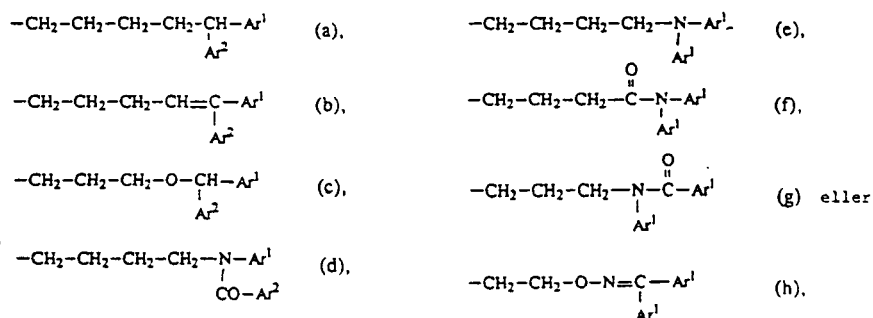
Patentstyret

(21) Søknadsnr	19912511	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	19.11.1990, PCT/EP90/01985
(22) Inng. dag	26.06.1991	(85) Videreføringsdag	26.06.1991
(24) Løpedag	19.11.1990	(30) Prioritet	22.11.1989, US, 440142
(41) Alm. tilgj.	26.08.1991		
(45) Meddelt dato	04.01.1999		
(73) Patenthaver	Janssen Pharmaceutica NV, Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse, BE		
(72) Oppfinner	Herman van Belle, Beerse, BE		
	Willy Joannes Carolus van Laerhoven, Beerse, BE		
(74) Fullmektig	Jan E. Helgerud, Bryns Patentkontor AS, 0106 Oslo		

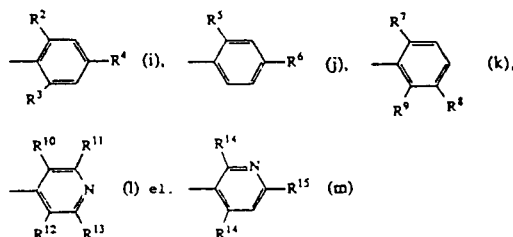
- (54) **Benevnelse** Fremstilling av (1)-(-)-2-(aminokarbonyl)-N-(4-amino-2,6-diklorfenyl)-4-[5,5-bis(4-fluorfenyl)pentyl]-1-piperazinacetamid
- (56) **Anførte publikasjoner** NO A 881407, NO C 163691
European Journal of Pharmacology - Molecular Pharmacology Section, Vol 172 (January 1989), pp 273-281
- (57) **Sammendrag** N-arylpiperazinalkanamidforbindelser med formelen I



en stereokjemisk isomer form derav eller et farmasøytisk akseptabelt syreaddisjonssalt derav, der L er en rest med formelen:



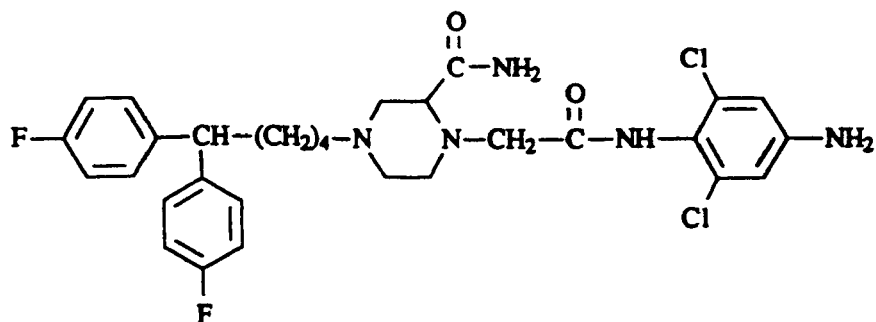
der Ar¹ og Ar² er eventuelt substituert fenyl, R¹ er C₁₋₄-alkyl, aminokarbonyl eller (C₁₋₄-alkyl)amino-karbonyl, Ar er en rest med formelen:



der R² til R¹⁵ kan ha forskjellige betydninger.

Forbindelsene med formel I rapporteres å ha evnen til å forhindre eller begrense reperfusjonsskader og får derfor anvendelse i forbindelse med behandling av pasienter som undergår trombolyse, åpen hjertekirurgi eller mottar et donorhjerte.

Foreliggende oppfinnelse angår fremstilling av den terapeutisk aktive forbindelse (1)-(-)-2-(aminokarbonyl)-N-(4-amino-2,6-diklorfenyl)-4-[5,5-bis(4-fluorfenyl)pentyl]-1-piperazinacetamid



(1)-(-)(I-a)

Et stadig opptredende problem under reperfusjon, det vil si gjenoppretting av blodstrømmen gjennom vev og organer som tidligere er berøvet for blodtilførselen (for eksempel etter trombolyse, i hjertet etter åpen hjertekirurgi (eller i hjertene for transplantasjon; se NO-P 19982078) er den ytterligere nedbrytning av vevet eller organet av leukocytter og deres cytotoksiske produkter.

Foreliggende oppfinnelse er basert på at den innledningsvis nevnte forbindelse muliggjør forhindring eller begrensnings av reperfusjonsskade.

Forbindelsen som fremstilles ifølge oppfinnelsen, (1)-(-)(I-a), kan benyttes som sådanne eller i farmasøytisk akseptable syreaddisjonssaltform.

Forbindelsen med formel (I) kan benyttes som sådan eller i farmasøytisk akseptabel syreaddisjonssaltform, idet den sistnevnte hensiktsmessig oppnås ved behandling av baseformen med en egnet syre. Egnede syrer er for eksempel uorganiske syrer som hydrogenhalogensyrer, eksempler er saltsyre eller hydrobromsyre; videre svovel-, salpeter-, fosforsyre og

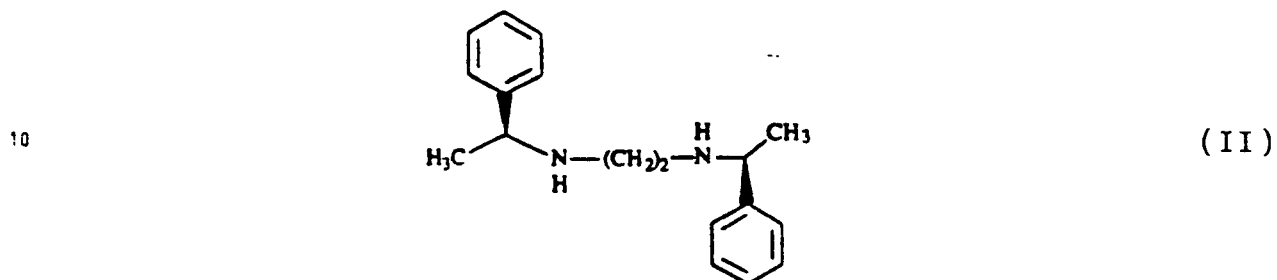
lignende; eller organiske syrer som eddik-, propan-, hydroksyeddik-, 2-hydroksypropan-, 2-oksopropan-, etandion-, propandion-, butandion-, (Z)-2-butendion-, (E)-2-butendion-, 2-hydroksybutandion-, 2,3-dihydroksybutandion-, 2-hydroksy-
5 1,2,3-propantrikarboksyl-, metansulfon-, etansulfon-, benzensulfon-, 4-metylbenzensulfon-, cykloheksansulfamin-, 2-hydroksybenzo-, 4-amino-2-hydroksybenzosyre og lignende syrer.

10 Uttrykket syreaddisjonssaltform slik det her benyttes omfatter også solvatene som forbindelsene med formel (I) og deres syreaddisjonssalter er i stand til å danne. Eksempler på slike solvater er for eksempel hydratene, alkoholatene og lignende.

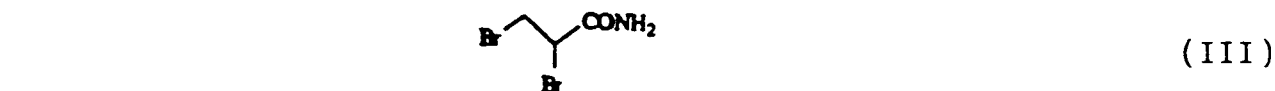
15 Forbindelsen som fremstilles ifølge oppfinnelsen har en unik kombinasjon av farmakologisk selektivitet og fordelaktige karakteristika som ikke deles med de tidligere kjente N-aryl-piperazinalkanamidforbindelser. Ved siden av å være en
20 potent, selektiv nukleosidtransport-inhibitor, har den ikke Ca^{2+} -antagonistiske egenskaper. De akutte og kroniske toksisitet er meget lav. Videre binder forbindelsen ikke i vesentlig grad plasmaproteiner og som et resultat er dens biotilgjengelighet utmerket. Sterk forenkling og utvidelse av
25 dens anvendelse i terapien følger av det faktum at den lett resorberes og således kan administreres oralt. I forbindelse med de ovenfor angitte egenskaper, gjør denne hensiktsmessige administreringsrute forbindelsen spesielt egnet for forlenget bruk, for eksempel som profylaktika hos høyrisikopasienter
30 eller i "vedlikeholds"-terapi som angitt nedenfor. En ytterligere fordel ved bruk av forbindelsen ligger i det faktum at mengden medikament som administreres kan reduseres fordi den uønskede inaktive enantiomorf ikke lengre er til stede. Dette aspekt er spesielt fordelaktig da det reduserer
35 sannsynligheten for overdosering og de potensielt uønskede bivirkninger som kardiodepresjon ved overdoser.

Ifølge oppfinnelsen fremstilles den terapeutisk aktive forbindelse (1)-(-)-2-(aminokarbonyl)-N-(4-amino-2,6-diklor-fenyl)-4-[5,5-bis(4-fluorfenyl)pentyl]-1-piperazinacetamid (1)-(-)(I-a) ved

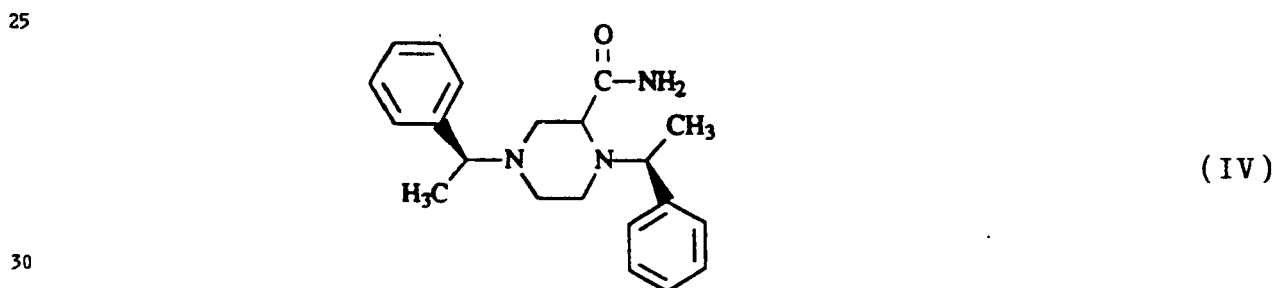
5 ringslutning av (-)-(S,S)-N¹,N²-bis(1-fenyletyl)-1,2-etandiamin (II) med formelen



15 med 2,3-dibrompropanamid (III) med formelen



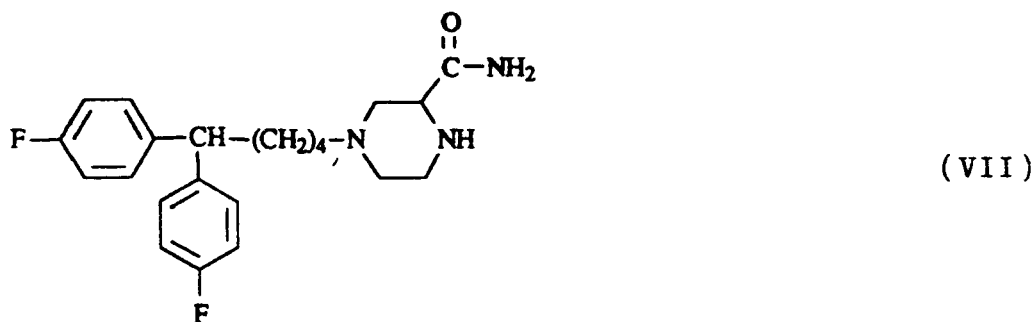
i et reaksjonssinert oppløsningsmiddel i nærvær av en base for derved å oppnå et mellomprodukt med formelen:



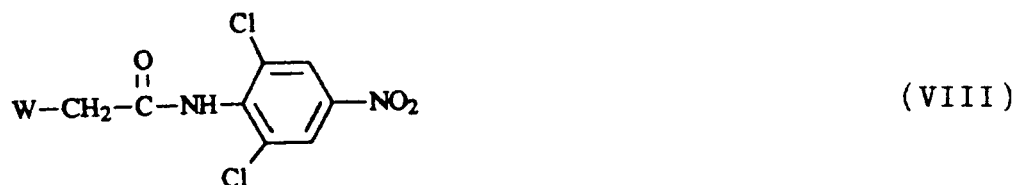
hydrogenolysering av mellomproduktet (IV) under en hydrogen-atmosfære i en alkohol i nærvær av en hydrogeneringskatalysator;

reduktivt å N-alkylere det således oppnådde (+)-2-amino-karbonylpiperazin (V) med 5,5-bis(4-fluorfenyl)pentaldehyd under en hydrogenatmosfære i en alkanol i nærvær av en hydrogeneringskatalysator;

N-alkylering av det således oppnådde piperazinderivat med formelen

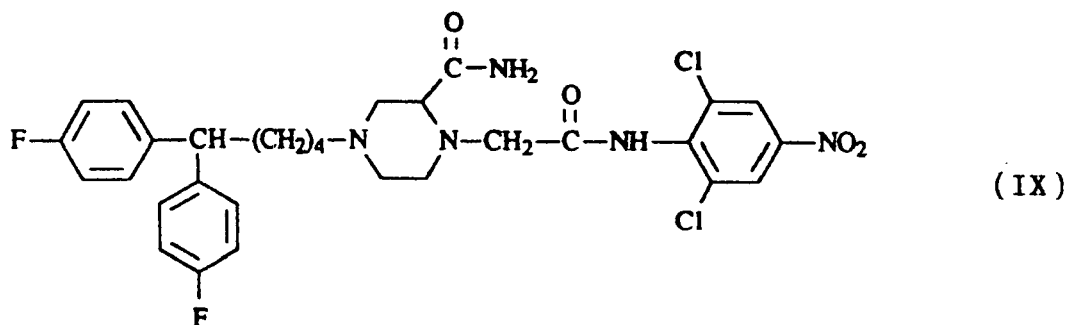


med et alkyleringsmiddel med formelen:



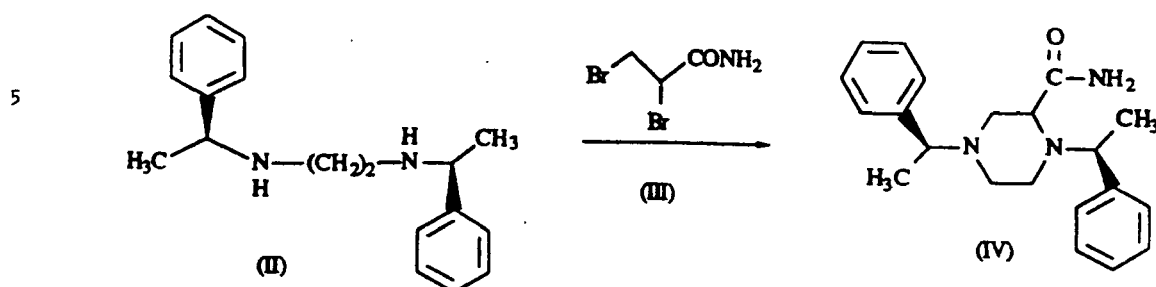
der W betyr en reaktiv avspaltbar gruppe, i et reaksjonsinert oppløsningsmiddel i nærvær av en base; og

å redusere det således oppnådde mellomprodukt med formelen:



i nærvær av et reduksjonsmiddel i et reaksjonsinert oppløsningsmiddel.

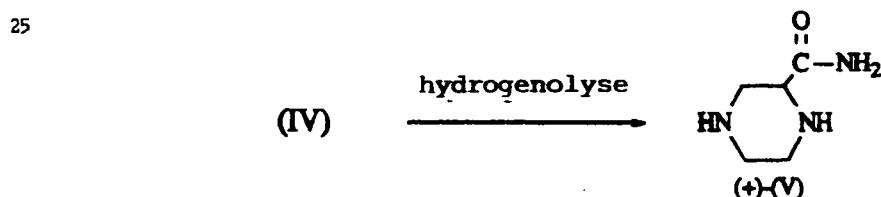
Ved fremstillingen går man som nevnt ut fra (-)-(S,S)- $\underline{N}^1, \underline{N}^2$ -bis(1-fenyletyl)-1,2-etandiamin (II).



10 Mellomproduktet (II) ringsluttet til et piperazinderivat ved dobbelt $\underline{N}$ -alkylering med 2,3-dibrompropanamid (III) i et reaksjonsinert oppløsningsmiddel i nærvær av en base. Egnede oppløsningsmidler er aromatiske hydrokarboner som benzen, metylbenzen og lignende, halogenerte hydrokarboner som

15 tetraklormetan, klorbenzen og lignende. Egnede baser er alkali- og jordalkalimetallkarbonater som natrium- og kaliumkarbonat. Ringslutningen gjennomføres fortrinnsvis ved reaksjonsblandingens tilbakeløpstemperatur.

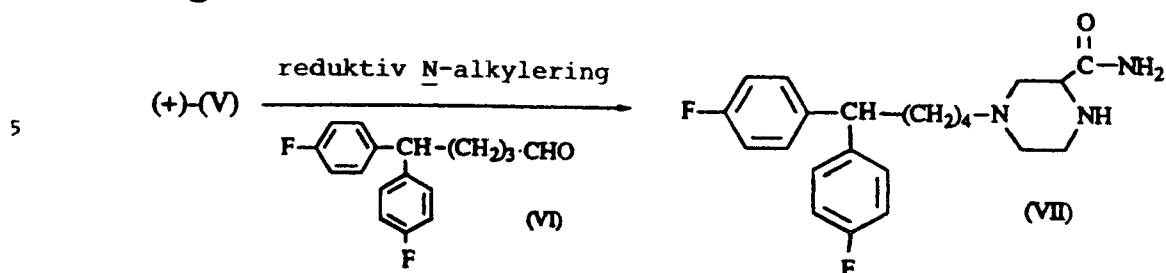
20 Mellomproduktet med formel (IV) omdannes til piperazin (+)-(V) ved hydrogenolyse under en hydrogenatmosfære i en alkanol som metanol, etanol og lignende, og i nærvær av en hydrogeneringskatalysator som palladium-på-trekull, platina-på-trekull eller lignende.



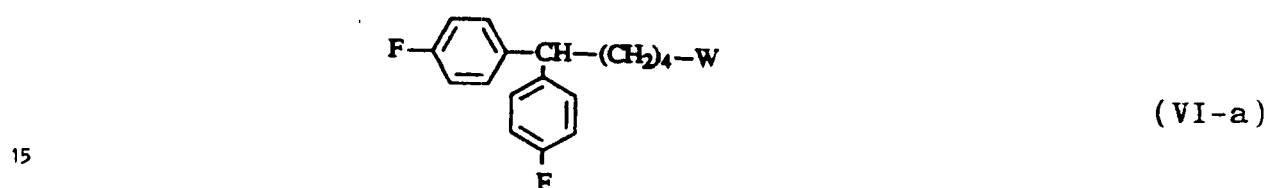
30 Derefter blir mellomproduktet (-)-(V) reduktivt $\underline{N}$ -alkylert ved reduksjon med 5,5-bis(4-fluorfenyl)pentaldehyd (VI) under en hydrogenatmosfære i en alkanol som for eksempel metanol, etanol og lignende, i nærvær av en hydrogeneringskatalysator som for eksempel palladium-på-trekull, platina-på-trekull og

35 lignende. For å forhindre ytterligere reaksjon av reaksjonsproduktet er det fordelaktig å tilsette en katalysatorgift som tiofen til reaksjonsblandingen. For å øke reak-

sjonshastigheten kan reaksjonsblandingen oppvarmes lett, særlig til ca. 40-60°C.

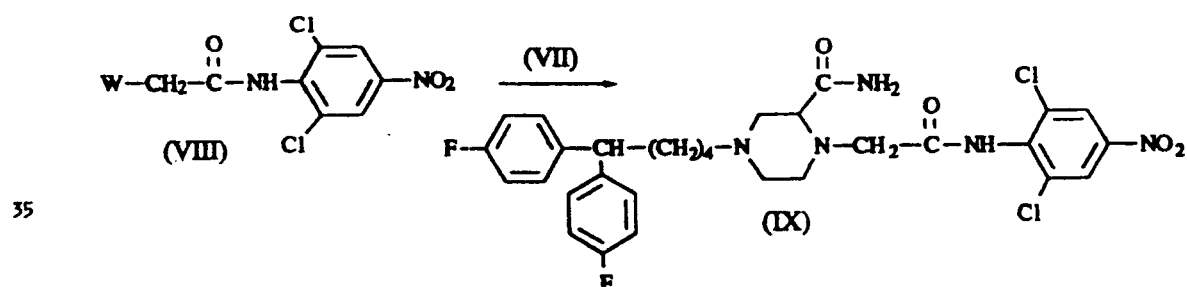


Alternativt kan mellomproduktet (VII) fremstilles ved N-alkylering av mellomproduktet (+)-(V) med et 5,5-bis(4-fluorfenyl)pentan-1-halogenid eller -sulfonat med formelen:



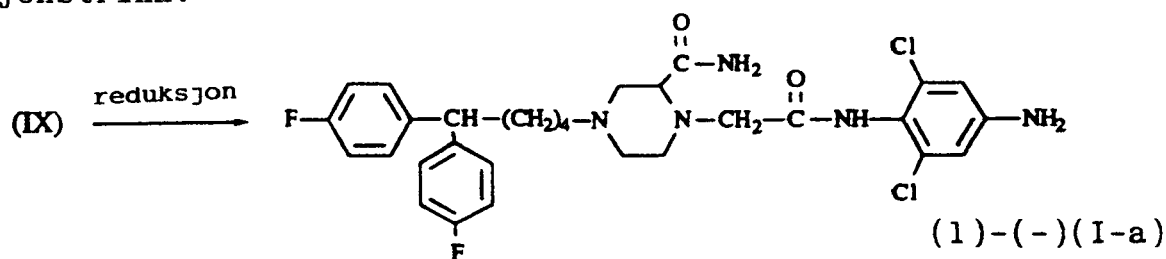
der W er halogen, for eksempel klor eller brom, eller sulfonyloksy som metansulfonyloksy, 4-metylbenzensulfonyloksy og lignende. Denne alkyleringen kan hensiktsmessig gjennomføres i et reaksjonsinert oppløsningsmiddel, for eksempel en alkanol som metanol, butanol, cykloheksanol og lignende, et dipolart, aprotisk oppløsningsmiddel som N,N-dimetylformamid, dimetylsulfoksyd og lignende; i nærvær av en base, for eksempel et alkali- eller jordalkalimetallhydroksyd,-karbonat som natrium- eller kaliumhydroksyd eller -karbonat.

Det således oppnådde mellomprodukt (VII) N-alkyleres med en reagens med formel (VIII) der W betyr en reaktiv avspaltbar gruppe som klor, brom og lignende, i et reaksjonsinert oppløsningsmiddel i nærvær av en base.



N-alkyleringsreaksjonen kan hensiktsmessig gjennomføres ved omrøring og oppvarming av reaktantene, spesielt ved oppvarming til ca. 70-100°C. Egnede oppløsningsmidler er for eksempel alkanoler som metanol, etanol, butanol og lignende, dipolare, aprotiske oppløsningsmidler som N,N-dimetylformamid, dimetylsulfoksyd og lignende, eller blandinger av slike oppløsningsmidler. Egnede baser er alkali- og jordalkalimetallhydroksyder, -karbonater, -hydrogenkarbonater og lignende, og organiske aminer som N,N-dietyletanamid, pyridin, morfolin og lignende baser. Et alkalimetalljodid, for eksempel kaliumjodid, kan tilsettes for å øke reaksjonshastigheten.

Mellomproduktet med formel (IX) omdannes til slutt til den nye forbindelse (1)-(-)-(I-b) ved et nitro→amino-reduksjonstrinn.



Reduksjonen kan hensiktsmessig gjennomføres i et reaksjonsinert oppløsningsmiddel ved å følge kjente reaksjonsprosedyrer. For eksempel kan mellomproduktet (IX) omrøres under en hydrogenatmosfære i en alkohol som metanol, etanol og lignende, i nærvær av en hydrogeneringskatalysator som palladium-på-trekull, platina-på-trekull, Raney-nikkel og lignende. Alternativt kan reduksjonen også gjennomføres ved behandling av mellomproduktet (IX) i en reagens som for eksempel natriumsulfitt, natriumsulfid, natriumhydrogensulfid, titan(III)klorid og lignende.

I alle disse foregående reaksjonstrinn kan mellomproduktene og sluttforbindelsene isoleres og renses ved å følge kjente prosedyrer, spesielt ved væskechromatografi og krystallisering.

Som tidligere nevnt er forbindelsene med formel (I) kjente for å beskytte et hjerte fra myokardialskade og å forbedre søvn og motvirke søvnmangler. Et antall av forbindelsene, mer spesielt 3-(aminokarbonyl)-4-[4,4-bis(4-fluorfenyl)butyl]-N-(2,6-diklorfenyl)-1-piperazinacetamid.dihydroklorid.mono-
5 hydrate, generelt kjent som mioflazin, er beskrevet som en inhibitor for nukleosidtransport gjennom membraner ["Molecular Physiology", 8, 615-630 (1985)]. En viktig felles fordel for de herværende forbindelser med formel (I) for bruk
10 ved metoden som beskrevet nedenfor er det faktum at de er oralt aktive og, i motsetning til mioflazin, har en utmerket biotilgjengelighet fordi de ikke generelt binder til plasmaproteiner.

15 Organet eller muskulærvevet som nevnt ovenfor er spesielt hjerte- eller hjertevæv. Typiske situasjoner der blodreperfusjon i organet eller muskelvevet er redusert eller fraværende omfatter for eksempel trombose og kardioplegi, det vil si å stanse et hjerte før åpen hjertekirurgi eller før
20 transplantasjon. Reperfusjonsskade opptrer generelt når blodperfusjonen gjenopprettes til det normale etter opptrødenen av en av de ovenfor nevnte situasjoner, for eksempel ved naturlig eller stimulert trombolysse eller ved reperfusjon av hjerte eller kardioplegi. Uttrykket "reperfusjonsskade",
25 slik det benyttes i foreliggende søknad, definerer skade på vev og organer som tidligere er berøvet blodtilførsel, ved reperfusjon, det vil si gjenoppretting av blodstrømmen gjennom og organet. Reperfusjonsskade er et akutt fenomen som oppstår umiddelbart ved reperfusjon og som derfor må
30 behandles øyeblikkelig.

Mengden aktiv bestanddel med formel (I) i den foreliggende metode er slik at den effektivt forhindrer eller begrenser reperfusjonsskade ved administrering til organet eller
35 muskelvevet.

Forbindelsen som fremstilles ifølge oppfinnelsen finner anvendelse ved behandling av en pasient som undergår naturlig trombolyse, stimulert trombolyse (trombolytisk terapi) eller reperfusjon av hjerte etter åpen hjertekirurgi eller etter å
5 ha mottatt et donorhjerte med en mengde som er effektiv til å forhindre og/eller begrense reperfusjonsskade, av en forbindelse med formel (I) som angitt ovenfor.

Trombolyse slik uttrykket er benyttet ovenfor, definerer
10 lysering av trombi, spesielt lysering påvirket av den lokale virkning av det proteolytiske enzym plasmin innen substansen av trombi. Uttrykket trombolytisk terapi som her benyttet, definerer administrering til en pasient som lider av en trombus eller trombi, av en effektiv trombolytisk mengde av
15 et trombolytisk middel, eventuelt fulgt av en "vedlikeholds"-terapi med et antikoaguleringsmiddel som for eksempel heparin, etyl-biskoumacetat, tiklopidin og lignende. Generelt benyttede trombolytiske midler i denne terapi er for eksempel urokinase, streptokinase, vevplasminogenaktivator (t-PA),
20 fibrinolysin og lignende midler. Foreliggende fremgangsmåte muliggjør således en metode for å forhindre eller å begrense reperfusjonsskade ved reperfusjon etter stimulert trombolyse, idet metoden omfatter til pasienten som undergår den trombolytiske terapi å administrere en mengde av en for-
25 bindelse med formel (I) som er effektiv for forhindring eller begrensning av reperfusjonsskade.

Mer spesielt omfatter terapien at det til pasienten samtidig, separat eller sekvensielt administreres en effektiv trombo-
30 lytisk mengde av et trombolytisk middel, spesielt et trombolytisk middel som spesielt nevnt ovenfor, og en effektiv reperfusjonsskadeforhindrende og/eller begrensende mengde av en forbindelse med formel (I). Metoden omfatter også til pasienten profylaktisk eller under pleieterapi
35 samtidig, separat eller sekvensielt, å administrere en effektiv antikoagulerende mengde av et antikoaguleringsmiddel, spesielt et antikoaguleringsmiddel som spesifikt

nevnt ovenfor, og en effektiv mengde av en forbindelse med formel (I).

Mengden av hver av de aktive bestanddeler, det trombolytiske middel og forbindelsen med formel (I) er slik at man oppnår effektiv trombolyse samtidig med effektiv forhindring eller begrensning av reperfusjonsskade, ved administrering til pasientene. Når vedlikeholdsterapien er målet, er mengden av hver av de aktive bestanddeler, antikoaguleringsmiddel og forbindelsen med formel (I) slik at det oppnås effektiv forhindring av dannelse av trombi samtidig med effektiv forhindring eller begrensning av reperfusjonsskade, ved administrering av hver aktive bestanddel til pasientene. Mengden trombolytisk middel for bruk kan tilfredsstillende være lik den mengde trombolytisk middel som vanligvis benyttes i kjent trombolytisk terapi. For eksempel kan streptokinase administreres i en oppfyllingsdose på 250 000 til 600 000 enheter i løpet av 30 til 60 minutter, fulgt av en vedlikeholdsdose på ca. 100 000 enheter pr. time i opptil 72 timer, noen ganger opptil 144 timer; urokinase kan administreres ved intravenøs infusjon med begynnelse i en initialdose på ca. 4400 enheter pr. kg kroppsvekt i løpet av 10 minutter, fulgt av en vedlikeholdsdose på ca. 4400 enheter pr. kg kroppsvekt hver time opptil 12 timer; vevplasminogen-aktivator kan administreres ved intravenøs infusjon av ca. 100 mg over 3 timer. Mengden av forbindelsen med formel (I) for bruk ved foreliggende fremgangsmåte kan karakteristisk ligge innen området 0,01 til 100 mg/kg kroppsvekt, spesielt fra ca. 0,1 til 10 mg/kg kroppsvekt og aller helst fra ca. 0,2 til 5 mg/kg kroppsvekt.

Forbindelsene med formel (I) eller de farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter derav kan administreres før, under eller kort etter administreringen av det trombolytiske middel, forutsatt at tiden mellom administrasjonen av det trombolytiske middel og administrasjonen av forbindelsen med formel (I) er slik at reperfusjonsskaden effektivt forhindres eller

begrenses. Når samtidig administrering av det trombolytiske middel og en forbindelse med formel (I) er tilsiktet, kan en blanding inneholdende både et trombolytisk middel og en forbindelse med formel (I) være spesielt hensiktsmessig.

5 Videre kan det trombolytiske middel og forbindelsen med formel (I) administreres separat i form av egnede preparater. På tilsvarende måte og når vedlikeholdsterapi eller profylakse med et antikoaguleringsmiddel er målet, kan forbindelsene med formel (I) administreres før, under eller etter

10 administreringen av antikoaguleringsmidlet.

Foreliggende oppfinnelses gjenstand muliggjør videre blandinger for å forhindre eller begrense reperfusjonsskade ved reperfusjon etter naturlig eller stimulert trombolyse,

15 eller etter kardioplegi, idet preparatene omfatter en farmasøytisk akseptabel bærer og som aktiv bestanddel en effektiv reperfusjonsskadeforhindrende eller -begrensende mengde av en forbindelse med formel (I).

20 Preparater for forhindring av eller begrensing av reperfusjonsskade ved reperfusjon etter stimulert trombolyse kan videre omfatte en effektiv trombolytisk mengde av et trombolytisk middel, spesielt et trombolytisk middel som spesifikt nevnt ovenfor.

25 Preparater for profylaktisk bruk eller for vedlikeholdsterapi kan videre omfatte en effektiv antikoagulerende mengde av et antikoaguleringsmiddel, spesielt et antikoaguleringsmiddel som spesifikt nevnt ovenfor.

30 Mengden av hver av de aktive bestanddeler, forbindelsen med formel (I) og eventuelt det trombolytiske middel eller antikoaguleringsmidlet, i de foregående preparater, er slik at effektiv prevensjon eller begrensnings av reperfusjonsskade

35 ved administrering oppnås der dette kan oppnås samtidig med effektiv trombolyse eller med effektiv forhindring av koagulering.

Interessante preparater blant gruppen preparater som beskrevet ovenfor og nedenfor er de som omfatter et cyklodekstrin (CD) eller et eterderivat derav, som kompleksdanner og/eller oppløseliggjørere. Som eksempler på slike cyklodekstriner skal nevnes α -CD, β -CD, γ -CD og eter- eller blandede eterderivater derav. Spesielle slike cyclodekstrinderivater er beskrevet i US-3 459 731, EP-A-0 149 197 og EP-A-0 197 571.

Karakteristiske slike eter- eller blandede eterderivater omfatter α -, β - eller γ -CD, der en eller flere av hydroksylgruppene er substituert med C_{1-6} -alkyl, spesielt med metyl, etyl eller isopropyl; hydroksy- C_{1-6} -alkyl og spesielt hydroksyetyl, hydroksypropyl eller hydroksybutyl; karboksy- C_{1-6} -alkyl, og spesielt karboksymetyl eller karboksyetyl; eller C_{1-6} -alkyloksykarbonyl- C_{1-6} -alkyl. Spesielt merkbare som kompleksdannere og/eller oppløseliggjørere er β -CD, 2,6-dimetyl- β -CD og helt spesielt 2-hydroksypropyl- β -CD, 2-hydroksyetyl- β -CD, 2-hydroksyetyl- γ -CD og 2-hydroksypropyl- γ -CD. I de ovenfor angitte cyclodekstrinderivater er DS (substitusjonsgraden, det vil si det midlere antall av substituerte hydroksyfunksjoner pr. glukoseenhet) fortrinnsvis innen området 0,125 til 3, helst 0,3 til 2 og aller helst 0,3 til 1. MS (den molare substitusjonsgrad, det vil si det midlere antall mol av substitusjonsmidlet pr. glukoseenhet) ligger innen området 0,125 til 10, spesielt 0,3 til 3, mer spesielt 0,3 til 1,5 og aller helst 0,35 til 0,5. Preparatene kan hensiktsmessig fremstilles ved å oppløse cyclodekstrin eller eterderivatet derav i vann og dertil å sette en forbindelse med formel (II) så vel som andre tilsetningsstoffer og komponenter som for eksempel natriumklorid, kaliumnitrat, glukose, mannitol, sorbitol, xylitol og buffere som fosfat-, acetat- eller citratbuffere; og eventuelt å konsentrere eller å tørke oppløsningen ved fordamping under redusert trykk eller ved lyofilisering. Mengden cyclodekstrin eller eterderivatet derav i det ferdige

preparat ligger generelt innen området 1 til 40 vekt-%, spesielt 2,5 til 25 vekt-% og aller helst 5 til 20 vekt-%. Mengden aktiv bestanddel med formel (I) i sluttpreparatene ligger generelt fra ca. 0,01 til 1 vekt-%, spesielt fra 0,025
5 til 0,5 vekt-% og aller helst fra 0,05 til 0,2 vekt-%. Spesielt interessante blandinger er de som omfatter (1)-(-)-2-(aminokarbonyl)-N-(4-amino-2,6-diklorfenyl)-4-[5,5-bis(4-fluorfenyl)pentyl]-1-piperazinacetamid som aktiv bestanddel og 2-hydroksypropyl- β -cyklodekstrin som kompleksdanner
10 og/eller oppløseliggjørere.

For å fremstille de farmasøytiske preparater blir en effektiv mengde av de aktive bestanddeler i syre- eller baseaddisjons-saltform eller i baseform, kombinert i grundig blanding med
15 en farmasøytisk akseptabel bærer som kan ha et visst antall former avhengig av den ønskede administreringsform for preparatet. Disse farmasøytiske blandinger foreligger fortrinnsvis i enhetsdoser som spesielt er egnet for oral, rektal, perkutan administrering eller parenteral injeksjon.
20 For eksempel kan, ved fremstilling av preparatene i oral doseringsform, en hvilken som helst av de vanlige farmasøytiske media benyttes, for eksempel vann, glykoler, oljer, alkoholer og lignende når det gjelder orale flytende preparater som suspensjoner, siruper, eliksirer og opp-
25 løsninger; eller faste bærere som stivelser, sukker, kaolin, smøremidler, bindemidler, disintegreringsmidler og lignende når det gjelder pulvere, piller, kapsler og tabletter. På grunn av den lette administrering representerer tablettene og kapslene den mest fordelaktige orale enhets-
30 doseform, i hvilket tilfelle de faste farmasøytiske bærere selvfølgelig benyttes. For parenterale preparater vil bæreren vanligvis omfatte sterilt vann, i det minste hovedsakelig, selv om andre bestanddeler for eksempel kan innarbeides for å understøtte oppløseligheten. Injiserbare oppløsninger kan for
35 eksempel fremstilles der bæreren omfatter saltoppløsning, glukoseoppløsning eller en blanding av salt- og glukoseoppløsning. Injiserbare suspensjoner kan også fremstilles i

hvilket tilfelle egnede flytende bærere, suspensjonsmidler og lignende kan benyttes. I blandingene som er egnet for perkutan administrering omfatter bæreren eventuelt et penetrasjonsforbedrende middel og/eller et egnet fuktemiddel, eventuelt kombinert med egnede additiver av en hvilken som helst art i mindre andeler, hvilke additiver ikke forårsaker noen vesentlig ugunstig virkning på huden. Additivene kan lette administreringen på huden og/eller understøtte fremstilling av det ønskede preparat. Disse preparater kan administreres på forskjellige måter. for eksempel som transdermale puter, som punktpåføring eller som en salve. Syreaddisjonssalter av (I) er åpenbart mer egnet for fremstilling av vandige oppløsninger på grunn av deres økede vannoppløselighet i forhold til den tilsvarende baseform.

Et spesielt interessant trekk ved forbindelsene med formel (I) for bruk i foreliggende fremgangsmåte, er det faktum at forbindelsene kan administreres oralt, noe som derved i vesentlig grad forenkler administreringen av forbindelsene til høyrisikopasienter, mer spesielt til pasienter som mottar "vedlikeholds"-terapi eller antikoaguleringsmidler.

Det er spesielt fordelaktig å formulere de ovenfor nevnte farmasøytiske preparater i enhetsdoseformer for enkel administrering og enhetlig dosering. Enhetsdoseformen som her benyttet og krevet henviser til fysikalsk diskrete enheter egnet som enhetsdoser idet hver enhet inneholder en på forhånd bestemt mengde aktiv bestanddel, beregnet for å gi den ønskede terapeutiske virkning, i forbindelse med den nødvendige farmasøytiske bærer. Eksempler på slike enhetsdoseformer er tabletter (inkludert spalt- eller belagte tabletter), kapsler, piller, pulverpakker, vafler, injiserbare oppløsninger eller suspensjoner, teskjeer, spiseskjeer og lignende, og segregerte multipli derav.

Oppfinnelsen muliggjør også produkter omfattende en forbindelse med formel (I) og et trombolytisk middel som et

kombinert preparat for samtidig, separat eller sekvensiell bruk i trombolytisk terapi med samtidig forhindring eller begrensning av reperfusjonsskade. Slike produkter kan for eksempel omfatte et sett omfattende en beholder med en egnet
5 blanding inneholdende en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt syreaddisjonssalt derav og en andre beholder inneholdende et preparat med et trombolytisk middel. Et slikt produkt kan ha den fordel at en lege som ønsker å administrere trombolytisk terapi med samtidig forhindring
10 eller begrensning er reperfusjonsskade, kan velge på basis av diagnosen av pasienten som skal behandles, de egnede mengder av hver komponent og sekvensen og tiden for administrering derav.

15 Uttrykket "åpen hjertekirurgi" slik det her benyttes definerer den kirurgiske intervensjon på et hjerte som temporært er befridd for sirkulatorisk funksjon. Fremgangsmåten tilveiebringer spesielt en metode for å forhindre eller å begrense reperfusjonsskade ved reperfusjon av det opererte
20 hjerte idet metoden omfatter administrering til pasienten som undergår åpen hjertekirurgi av en mengde av en forbindelse med formel (I) som er effektiv med henblikk på å forhindre eller å begrense reperfusjonsskade. Mer spesielt omfatter metoden å behandle pasienten før, under og etter kirurgien
25 med en effektiv reperfusjonsskadeforhindrende og/eller-begrensende mengde av en forbindelse med formel (I). En spesielt fordelaktig praksis består i å stanse hjertet mens kirurgien gjennomføres med en kardioplegisk oppløsning omfattende en effektiv reperfusjonsskadeforhindrende og/eller
30 -begrensende mengde av en forbindelse med formel (I).

Uttrykket "kardioplegisk oppløsning" slik det her benyttes, definerer de vanlige saltbalanserte formuleringer som generelt benyttes for kardioplegi. Vanligvis benyttede
35 kardioplegiske oppløsninger for å stanse et hjerte omfatter for eksempel hyperkalemiske NIH-kardioplegiske oppløsninger, UW-kardioplegisk oppløsning, Collins-kardioplegisk oppløsning

- M (115 meq K^+/L), St. Thomas' Hospital-kardioplegisk oppløsning, Ringer's injeksjon bufret med trometamin (3,6%), Plegisol® (Abbott) bufret med natriumhydrogenkarbonat-injeksjon (8,4%), modifisert Krebs high K (34 meq/l) 5 oppløsning og lignende kardioplegiske oppløsninger. Karakteristiske temperaturer for lagring av et hjerte for transplantering kan ligge fra 0 til ca. 10°C, spesielt fra 0 til ca. 7°C og aller helst fra 0 til ca. 4°C.
- 10 Mengden av hver av de aktive bestanddeler, den kardioplegiske oppløsning og forbindelsen med formel (I), i den beskrevne metode er slik at effektiv kardioplegi oppnås ved administ- ring, samtidig med effektiv forhindring eller begrensning av reperfusjonsskade ved reperfusjon av hjertet på hvilken 15 kirurgien ble utført og ved reperfusjon av det transplanterte hjertet. For eksempel er mengden av forbindelsen med formel (I) i den kardioplegiske oppløsning for anvendelse ved den herværende metode, karakteristisk innen området 0,1 til 10 μM , spesielt fra 0,5 til 5 μM og aller helst fra 0,8 til 2 20 μM .

EKSPERIMENTELL DEL

Eksempel 1 Fremstilling av (-)-2-(aminokarbonyl)-N-(4-amino-2,6-diklorfenyl)-4-[5,5-bis(4-fluorfenyl)-penty]-1-piperazinacetamid. 25

En blanding av 108,4 deler (-)-(S,S)-N¹,N²-bis(1-fenyletyl)-1,2-etandiamin, 93,8 deler 2,3-dibrompropanamid, 334,5 deler kaliumkarbonat og 2958 deler metylbenzen ble kokt under tilbaketilbake i 24 timer ved bruk av en vannseparator. Reak- 30 sjonsblandingen ble filtrert varm og precipitatet ble fordelt mellom vann og diklormetan. Det organiske sjikt ble separert og kombinert med filtratet. Det hele ble tørket, filtrert og fordampet. Resten ble rensset ved kolonnekromatografi (Lichroprep RP18; H₂O (0,5% CH₃COONH₄)/CH₃CN 55:45). 35 Elueringsmidlet for den ønskede fraksjon ble fordampet og man oppnådde 20,8 deler (15,4%) [1(S),2A,4(S)-1,4-bis(1-fenyletyl)-2-piperazinkarboksamid (mellomprodukt 1)].

En blanding av 20,8 deler mellomprodukt 1 og 198 deler metanol ble hydrogenert ved vanlig trykk og romtemperatur med 2 deler 10 %-ig palladium-på-trekull-katalysator. Etter at
5 den beregnede mengde hydrogen var tatt opp, ble katalysatoren filtrert av og filtratet fordampet hvorved man oppnådde 7,8 deler 98,0%) (+)-2-piperazinkarboksamid (mellomprodukt 2).

En blanding av 3,9 deler mellomprodukt 2, 8,3 deler 5,5-bis(4-fluorfenyl)pentaldehyd, 2 deler 4 %-ig oppløsning av
10 tiofen i metanol og 198 deler metanol ble hydrogenert ved trykk og 50°C med 2 deler 10 %-ig palladium-på-trekull-katalysator. Etter at den beregnede mengde hydrogen var tatt opp, ble katalysatoren filtrert av og filtratet fordampet.
15 Resten ble omdannet til etandioatsaltet i etanol. Saltet ble omkrystallisert fra en blanding av etanol og metanol. Produktet ble filtrert av og tørket og man oppnådde 8,82 deler (61,6%) (+)-4-[5,5-bis(4-fluorfenyl)pentyl]-2-piperazinkarboksamid. etandioat (1:1);
20 $[\alpha]_D^{20} = + 10,02^\circ$ (kons. = 0,5% i DMF) (mellomprodukt 3).

8,82 deler mellomprodukt 3 ble tatt opp i vann og omdannet til den frie base med NH_4OH . Basen ble ekstrahert tre ganger med diklormetan og de kombinerte ekstrakter ble tørket,
25 filtrert og fordampet. Til resten ble det satt 6,5 deler 1-klor-N-(2,6-diklor-4-nitrofenyl)acetamid, 3,75 deler N,N-dietyletanamin og 113 deler N,N-dimetylformamid. Det hele ble omrørt over helgen ved 70°C og så fordampet. Resten ble fordelt mellom NaHCO_3 (5% vandig) og diklormetan. Det
30 organiske sjikt ble separert, tørket, filtrert og fordampet.

Resten ble rensset ved kolonnekromatografi (silikagel); $\text{CH}_2\text{Cl}_2:(\text{CH}_2\text{Cl}_2 + 10\% \text{CH}_3\text{OH})$ 70:30). Elueringsmidlet for den
ønskede fraksjon ble fordampet og resten ble omdannet til
35 saltsyresaltet i 2-propanol. Produktet ble filtrert av og tørket under vakuum ved 50°C hvorved man oppnådde 3,78 deler

(30,5%) (-)-2-(aminokarbonyl)-4-[5,5-bis(4-fluorfenyl)-penty]-N-(2,6-diklor-4-nitrofenyl)-1-piperazinacetamid.mono-hydroklorid;

$[\alpha]_D^{20} = -18,47^\circ$ (kons. = 0,5% i CH₃OH) (mellomprodukt 4).

5

En blanding av 3,6 deler mellomprodukt 4, 1 del av en 4 %-ig oppløsning av tiofen i metanol og 119 deler metanol ble hydrogenert ved vanlig trykk og romtemperatur med 2 deler 10 %-ig palladium-på-trekull-katalysator. Etter at den beregnede mengden var tatt opp, ble katalysatoren filtrert av og filtratet fordampet. Resten ble renset ved kolonnekromatografi (Lichroprep RP-18; H₂O (0,5% CH₃COONH₄):CH₃OH:CH₃CN 40:20:40). De ønskede fraksjoner ble konsentrert og produktet ble tillatt krystallisering fra den resulterende vandige oppløsning. Den ble filtrert av og tørket under vakuum ved 60°C og man oppnådde 1,49 deler (43,4%) (-)-2-(aminokarbonyl)-N-(4-amino-2,6-diklorfenyl)-4-[5,5-bis(4-fluorfenyl)penty]-1-piperazinacetamid.hemihydrat med smeltepunkt 123,4°C;

$[\alpha]_D^{20} = -29,63^\circ$ (kons. = 0,5% i CH₃OH) (forbindelse I-a).

Eksempel 2 Biologisk eksempel.

Hundehjerter ble stanset enten med hyperkalemisk NIH-kardioplegia (gruppe I, n=6) eller med den samme kardioplegia etter tilsetning av 2-(aminokarbonyl)-N-(4-amino-2,6-diklorfenyl)-4-[5,5-bis(4-fluorfenyl)penty]-1-piperazinacetamid (gruppe II, n=6). Hjertene ble lagret kolde i 24 timer ved 0-5°C (isvann) i den kardioplegiske oppløsning og så transplantert ortotopisk. Til mottagerhundene ble det administrert 0,1 mg/kg kroppsvekt av 2-(aminokarbonyl)-N-(4-amino-2,6-diklorfenyl)-4-[5,5-bis(4-fluorfenyl)penty]-1-piperazinacetamid før transplantasjon. Myokardialinnholdet av høyenergifosfater (HEP) ble bestemt i serie biopsier. I gruppe I var ATP 50% og CrP 18% av kontrollene etter 24 timers lagring. Under 60 minutters reperfusjon av kardio-pulmonær bypass (CPB) sank HEP-innholdet (p<0,05) og alle dyr utviklet et "stenhjerte" etter transplantering. Etter 24

timers lagring i gruppe II ATP var 82% og Crp 28% av kontroll (p<0,05 mot gruppe I). Etter transplantering forble HEP-innholdet stabilt og alle hjerter kunne fjernes fra CPB uten inotrop bærer bortsett fra isoprenalin. Således ble optimal
 5 myokardial preserving oppnådd med kombinasjonen av kardioplegia og nukleosidtransport inhibering.

Eksempel 3 Preparatseksempler.

1. Injiserbar oppløsning

10	Aktiv bestanddel*	1	g
	0,1N saltsyre	0,04	l
	2-hydroksypropyl- β -cyklodekstrin	50	g
	natriumklorid	5,5	g
	1N natriumhydroksyd	ad pH 3,7-3,9	
15	vann	ad 1	l
	*2-(aminokarbonyl)-N-(4-amino-2,6-diklorfenyl)-4-[5,5-bis(4-fluorfenyl)pentyl]-1-piperazinacetamid		

20 Fremstillingsmåte

50 g HP- β -cyklodekstrin oppløses i 0,5 l vann. Derefter tilsettes suksessivt 0,04 l 0,1N saltsyre og 1 g 2-(aminokarbonyl)-N-(4-amino-2,6-diklorfenyl)-4-[5,5-bis(4-fluorfenyl)pentyl]-1-piperazinacetamid. Det hele omrøres inntil
 25 det oppnås en klar oppløsning. Etter fortynning med vann til 0,9 l, oppløses det 5,5 deler natriumklorid under omrøring. Surhetsgraden justeres med 1N natriumhydroksyd til pH 3,7-3,9. Oppløsningen fortynnes med vann til 1 l, hvorved man oppnår en injiserbar oppløsning inneholdende 1 mg/ml aktiv
 30 bestanddel.

2. Oral oppløsning

	Aktiv bestanddel*	1	g
	2-hydroksypropyl- β -cyklodekstrin	50	g
35	0,1N saltsyre	0,04	l
	70% sorbitol	0,1	l
	propylenglykol	0,1	l

dinatriumetylendiamintetraacetat	2	g
benzosyre	3	g
munnvasksmak	1	g
1N natriumhydroksyd	ad	pH 4,0
renset vann	ad	1 l

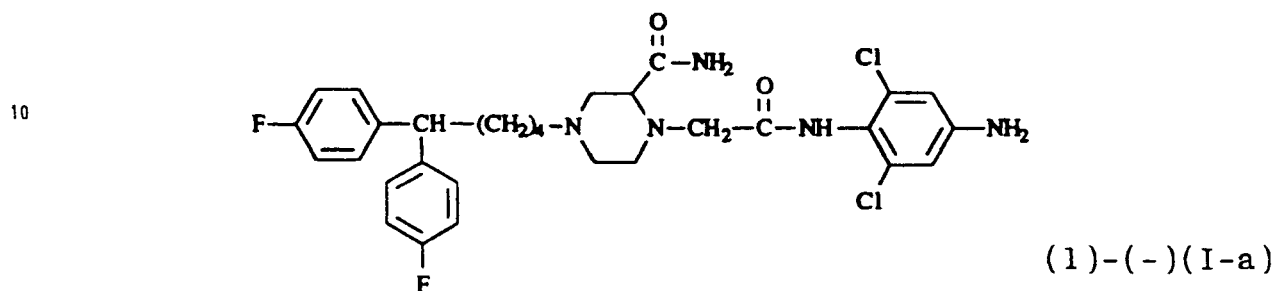
*2-(aminokarbonyl)-N-(4-amino-2,6-diklorfenyl)-
4-[5,5-bis(4-fluorfenyl)pentyl]-1-piperazin-
acetamid

Fremstillingsmåte

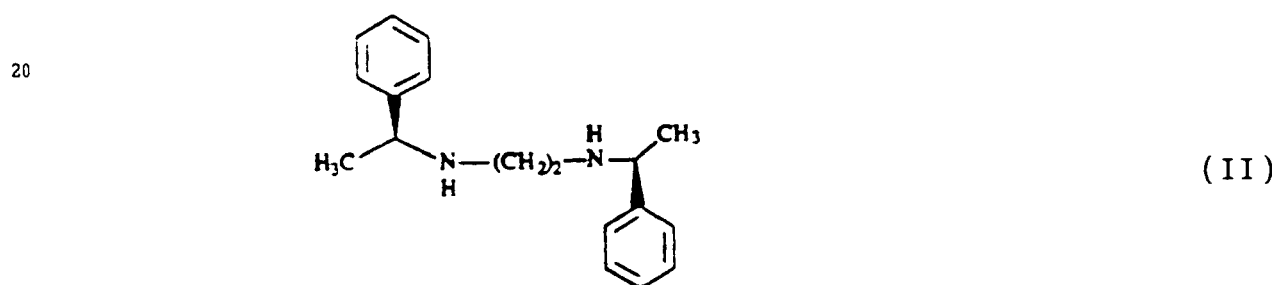
50 g HP- β -cyklodekstrin oppløses i 0,6 l vann. Det tilsettes
suksessivt 0,04 l 0,1N saltsyre og 1 g 2-(aminokarbonyl)-N-
(4-amino-2,6-diklorfenyl)-4-[5,5-bis(4-fluorfenyl)pentyl]-1-
piperazinacetamid. Det hele omrøres inntil det er oppnådd en
klar oppløsning. Derefter oppløses 2 g Na₂ (EDTA) under
omrøring og derefter tilsettes 0,1 l 70 %-ig sorbitol. Til
den homogene oppløsning settes det suksessivt en oppløsning
av 3 g benzosyre i 0,1 l propylenglykol og 1 g munnvasksmak.
Surhetsgraden justeres med 1N natriumhydroksyd til pH 3,7-
3,9. Oppløsningen fortynnes med vann til 1 l, hvorved man
oppnår en oral oppløsning inneholdende 1 mg/ml aktiv bestand-
del.

P a t e n t k r a v

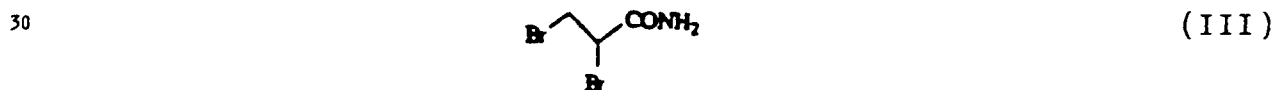
5 Analogifremgangsmåte for fremstilling av den terapeutisk aktive forbindelse (1)-(-)-2-(aminokarbonyl)-N-(4-amino-2,6-diklorfenyl)-4-[5,5-bis(4-fluorfenyl)pentyl]-1-piperazinacetamid



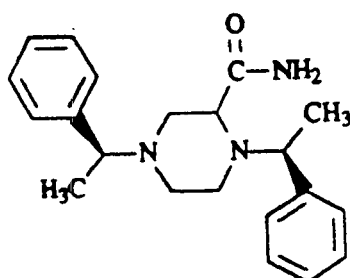
15 k a r a k t e r i s e r t v e d ringslutning av (-)-(S,S)-N¹,N²-bis(1-fenyletyl)-1,2-etandiamin (II) med formelen



25 med 2,3-dibrompropanamid (III) med formelen



35 i et reaksjonssinert oppløsningsmiddel i nærvær av en base for derved å oppnå et mellomprodukt med formelen:

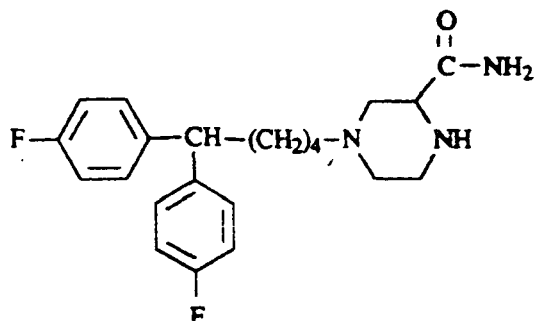


(IV)

hydrogenolysering av mellomproduktet (IV) under en hydrogen-
atmosfære i en alkohol i nærvær av en hydrogeneringskatalysator;

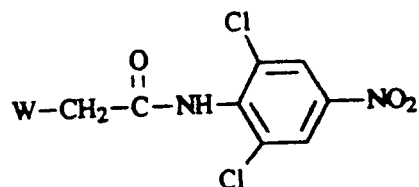
reduktivt å N-alkylere det således oppnådde (+)-2-amino-
karbonylpiperazin (V) med 5,5-bis(4-fluorfenyl)pentaldehyd
under en hydrogenatmosfære i en alkanol i nærvær av en
hydrogeneringskatalysator;

N-alkylering av det således oppnådde piperazinderivat med
formelen



(VII)

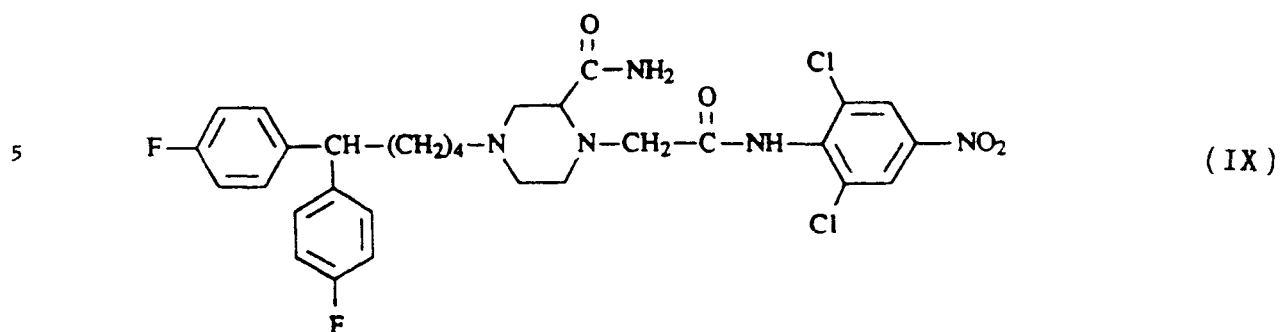
med et alkyleringsmiddel med formelen:



(VIII)

der W betyr en reaktiv avspaltbar gruppe, i et reaksjonsinert
oppløsningsmiddel i nærvær av en base; og

å redusere det således oppnådde mellomprodukt med formelen:



10 i nærvær av et reduksjonsmiddel i et reaksjonsinert oppløsningsmiddel.

15

20

25

30

35