



(12) PATENT

(19) NO

(11) 334309

(13) B1

NORGE

(51) Int Cl.

A61K 31/506 (2006.01)

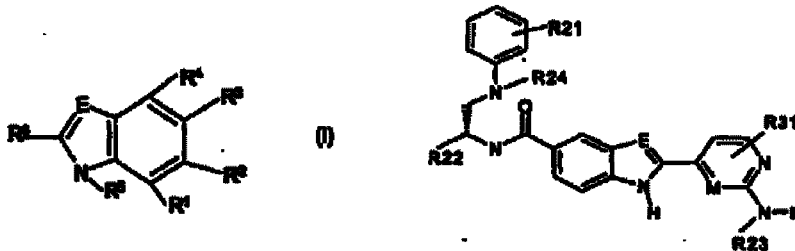
A61K 31/4439 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

### Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20051339	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2003.08.05 PCT/EP2003/08628
(22)	Inng.dag	2005.03.15	(85)	Videreføringsdag	2005.03.15
(24)	Løpedag	2003.08.05	(30)	Prioritet	2002.08.17, DE, 10237723
(41)	Alm.tilgj	2005.05.03			
(45)	Meddelt	2014.02.03			
(73)	Innehaver	Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Brüningstrasse 50, DE-65926 FRANKFURT AM MAIN, Tyskland			
(72)	Oppfinner	Karl Rudolphi, Kapuziner Strasse 19, DE-55116 MAINZ, Tyskland Gerhard Jaehne, Seebachstrasse 22, DE-65929 FRANKFURT, Tyskland Olaf Ritzeler, Hubertushöhe 6, DE-65812 BAD SODEN, Tyskland Martin Michaelis, Savignystrasse 22, DE-60325 FRANKFURT, Tyskland Gerd Geisslinger, Drei Linden Strasse 31, DE-65812 BAD SODEN, Tyskland Hans Schaible, Dornbluthweg 18, DE-07743 JENA, Tyskland			
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge			
(54)	Benevnelse	<b>Anvendelse av IκB-kinase-inhibitorer ved smerteterapi</b>			
(56)	Anførte publikasjoner	WO 0130774 A WO 0100610 A			
(57)	Sammendrag				

Det beskrives anvendelse av IκB-kinase-inhibitorer som er egnet for fremstilling av medikamenter for behandling av smerte. Egnede inhibitorer fremstilles fra forbindelsene med formel (I) og (Ia) der substituentene har de angitte betydninger.



Foreliggende oppfinnelse angår anvendelsen av I $\kappa$ B-kinase-inhibitorer for behandling av smerte.

I WO 01/00610, WO 01/30774 og WO 01/68648 beskrives det forbindelser som kan  
5 modulere NF $\kappa$ B.

NF $\kappa$ B er en heterodimer transkripsjonsfaktor som kan aktivere et stort antall gener, som blant annet koder for proinflammatoriske cytokiner som IL-1, IL-2, TNF $\alpha$  eller IL-6. NF $\kappa$ B ligger kompleksdannet i cellenes cytotostol med sin naturlige forekommende  
10 inhibitor I $\kappa$ B. Stimulering av celler, f.eks. ved cytokiner, fører til fosforylering og derpå følgende proteolytisk nedbrytning av I $\kappa$ B. Denne proteolytiske nedbrytning fører til aktivering av NF $\kappa$ B som deretter vandrer til cellens kjerne og der aktiverer et antall proinflammatoriske gener.

15 Ved sykdommer som reumatoid artritt (ved betennelse), osteoartritt, astma, hjerteinfarkt, Alzheimers sykdom eller aterosklerose blir NF $\kappa$ B aktivert utover det normale. Hemmingen av NF $\kappa$ B er også av nytte ved kreftterapi, da den der anvendes for forsterkning av cytostatika. Man har kunnet påvise at legemidler som glukokorticoider, salicylater eller gullsalter og som anvendes i rheumaterapien, griper inhiberende inn på  
20 de forskjelligste celler i NF $\kappa$ B-signal kjeden og interfererer direkte med genenes transkripsjon.

Det første skritt i den nevnte signalkaskade er nedbrytning av I $\kappa$ B. Denne fosforylering reguleres ved den spesifikke I $\kappa$ B-kinase.

25

Ved behandling av akutt og kronisk smerte anvendes det farmaka fra et antall forskjellige substansgrupper. Smerteterapien er imidlertid allikevel ennå ikke løst på tilfredsstillende måte. Dette avhenger fremfor alt av den ikke tilstrekkelige virkningsstyrke for de analgetika som finnes på markedet.

30

I forsøket på å finne frem til virksomme forbindelser for behandling av smerte, er det nå funnet at I $\kappa$ B-kinase-inhibitorer kan anvendes. Særlig har man i de benyttede modeller kunnet påvise en virkningsstyrke som er klart overlegen den til de klassiske, ikke-steroide antiflogistika.

35

Foreliggende oppfinnelse angår derfor anvendelsen av I $\kappa$ B-kinase-inhibitorer for fremstilling av legemidler for behandling av smerte.

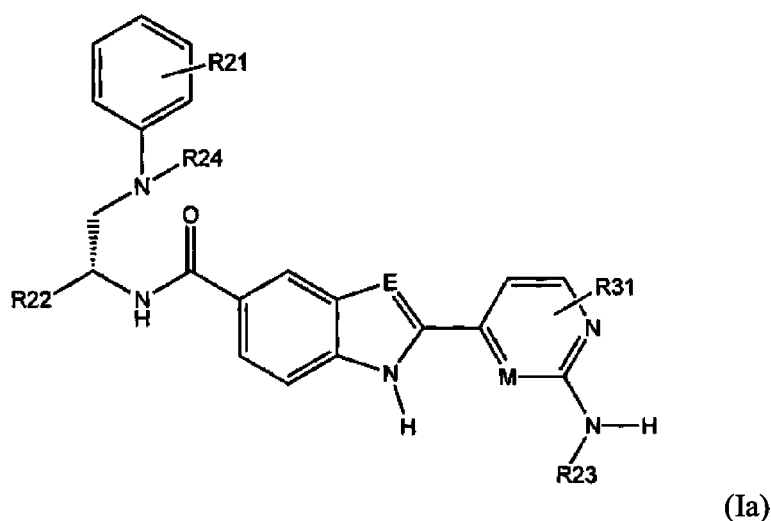
Med begrepet "smerte" menes akutte smerter og kroniske smerter. Eksempler på kroniske smerter er:

- 5 kroniske, muskelskjeletære sykdommer som rygg smerter,
- smerter ved regelblødninger,
- smerter ved osteoartrose eller rheumatoid artritt,
- smerter ved tarmbetennelse,
- smerter ved hjertemuskelbetennelse,
- smerter ved multippelskleroser,
- 10 smerter ved neuritt,
- smerter ved karsinomer og sarkomer,
- smerter ved AIDS,
- smerter ved kjemoterapi,
- amputasjonssmerter,
- 15 trigeminus-neuralgi,
- hodesmerter som migrenehodepine eller
- neuropatiske smerter som postherpetiske zosterneuralgi.

Eksempler på akutte smerter er:

- 20 smerter etter skader,
  - postoperative smerter,
  - smerter ved akutte giktangrep eller
  - akutte smerter etter kjevekirurgiske inngrep.
- 25 IκB-kinase-inhibitorer er f.eks. indol- eller benzimidazolderivater som beskrevet i WO 01/00610 og WO 01/30774.

Oppfinnelsen angår anvendelsen av forbindelsen med formel (Ia)



og/eller en stereoisomerform av forbindelsen med formel (Ia) og/eller et fysiologisk godtagbart salt av forbindelsen med formel (Ia), hvorved

5

E og M er like eller forskjellige og uavhengig av hverandre er N eller CH,

R21 og R31 er like eller forskjellige og uavhengig av hverandre er

1. hydrogen,
- 10 2. halogen,
3.  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,
4.  $-CN$ ,
5.  $-CF_3$ ,
6.  $-OR^{15}$ , der  $R^{15}$  er hydrogen eller  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,
- 15 7.  $-N(R^{15})-R^{16}$ , der  $R^{15}$  og  $R^{16}$  uavhengig av hverandre er hydrogen eller  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,
8.  $-C(O)-R^{15}$ , der  $R^{15}$  er hydrogen eller  $-(C_1-C_4)$ -alkyl eller
9.  $-S(O)_X-R^{15}$ , der X er det hele tall 0, 1 eller 2 og  $R^{15}$  er hydrogen eller  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,

20

R22 er

1. en heteroarylrest fra gruppen 3-hydroksypyrrol-2,4-dion, imidazol, imidazolidin, imidazolin, indazol, isotiazol, isotiazolidin, isoksazol, 2-isoksazolidin, isoksazolidin, isoksazol, morfolin, oksazol, 1,3,4-oksadiazol, oksadiazolidin, oksadiazolon, 1,2,3,5-oksatiadiazol-2-oksyd, 5-okso-4,5-dihydro-[1,3,4]oksadiazol, 5-okso-1,2,4-tiadiazol, piperazin, pyrazin, pyrazol,
- 25

pyrazolidin, pyridazin, pyrimidin, tetrazol, tiadiazol, tiazol, tiomorfolin, triazol eller triazolon, og

heteroarylresten eventuelt er substitueret en, to eller tre gange, uafhængig af hverandre med

- 5 1.1 -C(O)-R<sup>15</sup>, der R<sup>15</sup> er hydrogen eller -(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkyl,
- 1.2 -(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkyl,
- 1.3 -O-R<sup>15</sup>, der R<sup>15</sup> er hydrogen eller -(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkyl,
- 1.7 -N(R<sup>15</sup>)-R<sup>16</sup>, der R<sup>15</sup> og R<sup>16</sup> uafhængig af hverandre er hydrogen eller (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkyl,
- 10 1.8 halogen eller
- 1.9 keto-rester,
2. -C(O)-R<sup>15</sup>, der R<sup>15</sup> er hydrogen eller -(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkyl,
3. -C(O)-OR<sup>15</sup>, der R<sup>15</sup> er hydrogen eller -(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkyl eller
4. -C(O)-N(R<sup>17</sup>)-R<sup>18</sup>, der R<sup>17</sup> og R<sup>18</sup> uafhængig af hverandre er hydrogen, -
- 15 (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkyl-OH, -O-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkyl eller -(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkyl,

R23 er hydrogen eller -(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkyl,

R24 er

- 20 1. en heteroarylrest fra gruppen pyrrol, furan, tiofen, imidazol, pyrazol, oksazol, isoksazol, tiazol, isotiazol, tetrazol, 1,2,3,5-oksatiadiazol-2-oksyd, triazolon, oksadiazolon, isoksazolon, oksadiazolidindion, triazol, 3-hydroksypyrrol-2,4-dion, 5-okso-1,2,4-tiadiazol, pyridin, pyrazin, pyrimidin, indol, isoindol, indazol, ftalazin, kinolin, isokinolin, kinoksalin, kinazolin, cinnolin,
- 25 β-karbolin og benz-annellerte cyklopenta- eller cykloheksaderivater af disse heteroarylrester,
- hvorved heteroarylresten eventuelt er substitueret en, to eller tre gange uafhængig af hverandre med -(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-alkyl, -(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-alkoksy, halogen, nitro, amino, trifluormetyl, hydroksyl, hydroksy-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkyl, metylendioksy,
- 30 etylendioksy, formyl, acetyl, cyano, hydroksykarbonyl, aminokarbonyl eller -(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkoksykarbonyl, eller
2. en arylrest fra gruppen fenyl, naftyl, 1-naftyl, 2-naftyl, bifenylyl, 2-bifenylyl, 3-bifenylyl og 4-bifenylyl, antryl eller fluorenyl, og
- arylresten eventuelt er substitueret en, to eller tre gange uafhængig af hverandre
- 35 med -(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-alkyl, -(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-alkoksy, halogen, nitro, amino, trifluormetyl, hydroksyl, hydroksy-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkyl, metylendioksy, etylendioksy, formyl, acetyl, cyano, hydroksykarbonyl, aminokarbonyl eller -(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkoksykarbonyl,

for fremstilling av legemidler for behandling av smerter.

Oppfinnelsen angår videre anvendelsen av forbindelsen med formel (Ia), der E og M er like eller forskjellige og uavhengig av hverandre er N eller CH,

5

R21 og R31 er like eller forskjellige og uavhengig er definert som under 1 til 9 ovenfor,

- R22 er 1. en heteroarylrest fra gruppen imidazol, isotiazol, isoksazol, 2-isoksazolidin, isoksazolidin, isoksazol, 1,3,4-oksadiazol, oksadiazolidindion, 1,2,3,5-  
 10 oksadiazolon, oksazol, 5-okso-4,5-dihydro-[1,3,4]oksadiazol, tetrazol, tiadiazol, tiazol, triazol eller triazol, og heteroarylresten eventuelt er substituert en, to eller tre ganger, uavhengig av hverandre med
- 1.1 keto-rest,
  - 1.2 halogen eller
  - 15 1.3  $-(C_1-C_2)$ -alkyl eller
  2.  $-C(O)-N(R^{17})-R^{18}$ , der  $R^{17}$  og  $R^{18}$  uavhengig av hverandre er hydrogen,  $-(C_1-C_4)$ -alkyl-OH,  $-O-(C_1-C_4)$ -alkyl eller  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,

R23 er hydrogen, metyl eller etyl,

20

- R24 er 1. en heteroarylrest fra gruppen umettede, delvis mettede eller fullstendig mettede ringer som avledes fra pyridin, pyrazin, pyrimidin, pyridazin, pyrrol, furan, tiofen, imidazol, pyrazol, oksazol, isoksazol, tiazol, triazol eller iso-  
 25 tiazol, hvorved heteroarylresten eventuelt er substituert en, to eller tre ganger uavhengig av hverandre med  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,  $-(C_1-C_4)$ -alkoksy, F, Cl, J, Br, nitro, amino, trifluormetyl, hydroksyl, hydrokso- $-(C_1-C_4)$ -alkyl, metylendioksy, etylendioksy, formyl, acetyl, cyano, hydrokso-alkonyl, aminokarbonyl eller  $-(C_1-C_4)$ -alkoksykarbonyl eller
- 30 2. fenyl, der fenyl eventuelt er substituert en, to eller tre ganger uavhengig av hverandre med F, Cl, J, Br,  $CF_3$ , -OH,  $-(C_1-C_4)$ -alkyl eller  $-(C_1-C_4)$ -alkoksy.

Oppfinnelsen angår videre anvendelsen av forbindelsen 2-(2-metylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-karboksylysyre-[(S)-2-difenylamino-1-(5-okso-4,5-dihydro-[1,3,4]-  
 35 oksadiazol-2-yl)-etyl]-amid eller 2-(2-metylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzoimidazol-5-karboksylysyre-((S)-1-karbamoyl-2-difenylamin-etyl)-amid.

Med begrepet "halogen" menes fluor, klor, brom eller jod.

Med uttrykkene "-(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)-alkyl", (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkyl eller "-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkyl" menes hydrokarbonrester, hvis karbonkjede er rett eller forgrenet og inneholder 1 til 8, 1 til 6  
 5 henholdsvis 1 til 4 karbonatomer som metyl, etyl, propyl, butyl, tert-butyl, pentyl, heksyl, heptyl eller oktyl. Med begrepet "-(C<sub>0</sub>)-alkyl" menes en kovalent binding. Cykliske alkylrester er f.eks. 3- til 6-leddede monocykler som cyklopropyl, cyklobutyl, cyklopentyl eller cykloheksyl.

10 Med begrepet "R<sup>8</sup> og R<sup>9</sup> sammen med nitrogen- og karbonatomene hvor til de er bundet danner en heterocyklisk ring med formel (IIa)" menes rester som avledes fra pyrrol, pyrrolin, pyrrolidin, imidazol, pyrazol, oksazol, isoksazol, tetrazol, isoksazolin, isoksazolidin, morfolin, tiazol, isotiazol, isotiazolin, purin, isotiazolidin, tiomorfolin, pyridin, piperidin, pyrazin, piperazin, pyrimidin, pyridazin, indol, isoindol, indazol, benzimidazol,  
 15 ftalazin, kinolin, isokinolin, kinoksalin, kinazolin, kinnolin, pteridin, triazol, tetrazol, 1,2,3,5-oksatiadiazol-2-oksyl, oksadiazol, isoksazol, oksadiazolindion, triazol, og som er substituert med F, -CN, -CF<sub>3</sub> eller -C(O)-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkyl, 3-hydroksypyrrol-2,4-dion, 5-okso-1,2,4-tiadiazol, imidazolidin, -karbolin og benzannellerte derivater av disse heterocykler.

20 Med begrepet "R<sup>9</sup> og Z sammen med karbonatomet hvor til de er bundet danner en heterocyklisk ring med formel (IIc)" menes rester som avledes fra gruppen pyrrol, pyrrolin, pyrrolidin, pyridin, piperidin, piperylen, pyridazin, pyrimidin, pyrazin, piperazin, pyrazol, imidazol, pyrazolin, imidazolin, pyrazolidin, imidazolidin, oksazol,  
 25 isoksazol, 2-isoksazolidin, isoksazolidin, morfolin, isotiazol, tiazol, isotiazolidin, tiomorfolin, indazol, tiadiazol, benzimidazol, kinolin, triazol, ftalazin, kinazolin, kinoksalin, purin, pteridin, indol, tetrahydrokinolin, tetrahydroisokinolin, isokinolin, tetrazol, 1,2,3,5-oksatiadiazol-2-oksyl, oksadiazol, isoksazol, triazol, 3-hydroksypyrrol-2,4-dion, 1,3,4-oksadiazol og 5-okso-1,2,4-tiadiazol, oksadiazolindion, triazol, som  
 30 eventuelt er substituert med F, CN, CF<sub>3</sub> eller C(O)-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkyl.

Med begrepet "heteroarylrest fra gruppen umettede, delvis mettede eller fullstendig mettede ringer som avledes fra pyridin, pyrazin, pyrimidin, pyridazin, pyrrol, furan, tiofen, imidazol, pyrazol, oksazol, isoksazol, tiazol, isotiazol" menes f.eks. forbindelser  
 35 som piperazin, pyrazolin, imidazolin, pyrazolidin, imidazolidin, tetrahydropyridin, isoksazolin, isoksazolidin, morfolin, isotiazolin, isotiazolidin, tetrahydro-1,4-tiazin eller piperidin.

Med begrepet aryl menes aromatiske hydrokarbonrester med 6 til 14 karbonatomer i ringen.  $-(C_6-C_{14})$ -arylrester er f.eks. fenyl eller naftyl som 1-naftyl, 2-naftyl, bifenylyl som 2-bifenylyl, 3-bifenylyl og 4-bifenylyl, antryl eller fluorenyl, bifenylylrester, 5 naftylrester og særlig fenylrester er foretrukne arylrester. Arylrester og særlig fenylester kan være substituert en eller flere ganger, fortrinnsvis en, to eller tre ganger, med like eller forskjellige rester og fortrinnsvis med rester fra rekken  $-(C_1-C_8)$ -alkyl, særlig  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,  $-(C_1-C_8)$ -alkoksy, særlig  $-(C_1-C_4)$ -alkoksy, halogen, nitro, amino, tri-  
 10 fluormetyl, hydroksy, hydroksy- $(C_1-C_4)$ -alkyl som hydroksymetyl eller 1-hydroksyetyl eller 2-hydroksyetyl, metylendioksy, etylendioksy, formyl, acetyl, cyano, hydroksy-  
 karbonyl, aminokarbonyl,  $-(C_1-C_4)$ -alkoksykarbonyl, fenyl, fenoksy, benzyl, benzyl-  
 oksy, tetrazolyl.

Tilsvarende gjelder f.eks. for rester som arylalkyl eller arylkarbonyl. Arylalkylrester er 15 særlig benzyl samt 1- og 2-naftylmetyl, 2-, 3- og 4-bifenylylmetyl og 9-fluorenylmetyl. Substituerte arylalkylrester er f.eks. benzyl- og naftylmetylrester som er substituert med en eller flere  $-(C_1-C_8)$ -alkylrester og særlig  $-(C_1-C_4)$ -alkylrester i aryldelen, f.eks. 2-, 3- og 4-metylbenzyl, 4-isobutylbenzyl, 4-tert-butylbenzyl, 4-oktylbenzyl, 3,5-dimetyl-  
 20 benzyl, pentametyl-benzyl, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- og 8-metyl-1-naftylmetyl, 1-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- og 8-metyl-2-naftylmetyl, benzyl- og naftylmetylrester som er substituert med en eller flere  $-(C_1-C_8)$ -alkoksyrester og særlig  $-(C_1-C_4)$ -alkoksyrester som 4-metoksy-  
 benzyl, 4-neopentylloksybenzyl, 3,5-dimetoksybenzyl, 3,4-metylen-dioksybenzyl, 2,3,4-  
 trimetoksybenzyl, nitrobenzylrester, nitrobenzylrester som 2-, 3- og 4-nitrobenzyl, halo-  
 genbenzylrester som 2-, 3- eller 4-klor- og 2-, 3- og 4-fluorbenzyl, 3,4-diklorbenzyl, 25 pentafluorbenzyl, trifluormetylbenzylresten, f.eks. 3- og 4-trifluormetylbenzyleller 3,5-  
 bis(trifluormetyl)benzyl.

I monosubstituerte fenylrester kan substituenten befinne seg i 2-, 3- eller 4-posisjon. To 30 ganger substituert fenyl kan være substituert i 2,3-posisjon, 2,4-posisjon, 2,5-posisjon, 2,6-posisjon, 3,4-posisjon eller 3,5-posisjon. I tre ganger substituerte fenylrester kan substituentene befinne seg i 2,3,4-posisjon, 2,3,5-posisjon, 2,4,5-posisjon, 2,4,6-posi-  
 sjon, 2,3,6-posisjon eller 3,4,5-posisjon.

Forklaringen på arylrestene gjelder tilsvarende for de toverdige arylenrester, f.eks. for 35 fenylenrester som kan foreligge som 1,4-fenylen eller som 1,3-fenylen. Fenylen-  
 $(C_1-C_6)$ -alkyl er særlig fenylenmetyl  $(-C_6H_4-CH_2-)$  og fenylenetyl,  $(C_1-C_6)$ -alkylen-

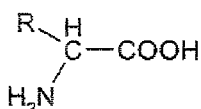
fenyl og særlig metylenfenyl ( $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-}$ ). Fenylen- $(\text{C}_2\text{-C}_6)$ -alkenyl er særlig fenylene-etenyl og fenylenepropenyl.

Med begrepet "heteroaryl med 5 til 14 ringledd" står for en rest av et monocyklisk eller polycyklisk, aromatisk system med 5 til 14 ringledd som inneholder 1, 2, 3, 4 eller 5 heteroatomer som ringledd. Eksempler på heteroatomer er N, O og S. Hvis flere heteroatomer er til stede, kan disse være like eller forskjellige. Heteroarylrester kan likeledes være substituert en eller flere ganger, fortrinnsvis en, to eller tre ganger, med like eller forskjellige rester fra serien  $(\text{C}_1\text{-C}_8)$ -alkyl, særlig  $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ -alkyl,  $(\text{C}_1\text{-C}_8)$ -alkoksy, særlig  $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ -alkoksy, halogen, nitro,  $-\text{N}(\text{R}^{10})_2$ , trifluormetyl, hydroksy, hydroksy- $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ -alkyl som hydroksymetyl eller 1-hydroksyetyl eller 2-hydroksyetyl, metylen-dioksy, formyl, acetyl, cyano, hydroksykarbonyl, aminokarbonyl,  $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ -alkoksykarbonyl, fenyl, fenoksy, benzyl, benzyloksy, tetrazolyl. Fortrinnsvis står heteroaryl med 5 til 14 ringledd for en monocyklisk eller bicyklisk, aromatisk rest som inneholder 1, 2, 3 eller 4 og særlig 1, 2, 3, like eller forskjellige heteroatomer fra rekken N, O og S og som kan være substituert med 1, 2, 3 eller 4, og særlig 1 til 3, like eller forskjellige substituentter fra rekken  $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ -alkyl,  $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ -alkoksy, fluor, klor, nitro,  $-\text{N}(\text{R}^{10})_2$ , trifluormetyl, hydroksy, hydroksy- $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ -alkyl,  $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ -alkoksykarbonyl, fenyl, fenoksy, benzyloksy og benzyl. Særlig foretrukket er det at heteroaryl står for en monocyklisk eller bicyklisk, aromatisk rest med 5 til 10 ringledd og særlig for en 5- til 6-leddet, monocyklisk, aromatisk rest som inneholder 1, 2 eller 3, og særlig 1 eller 2, like eller forskjellige heteroatomer fra rekken N, O og S og som kan være substituert med 1 eller 2, like eller forskjellige substituentter fra rekken  $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ -alkyl, halogen, hydroksy,  $-\text{N}(\text{R}^{10})_2$ ,  $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ -alkoksy, fenyl, fenoksy, benzyloksy og benzyl.

Begrepet "heterocykel med 5 til 12 ringledd" står for en monocyklisk eller bicyklisk, 5-leddet til 12-leddet, heterocyklisk ring, som er delvis mettet eller fullstendig mettet. Eksempler på heteroatomer er N, O og S. Heterocykelen er eventuelt substituert på et eller flere karbonatomer eller på et eller flere heteroatomer med like eller forskjellige substituentter. Disse substituentter er som definert ovenfor for heteroarylresten. Særlig er den heterocykliske ring substituert en eller flere ganger, f.eks. en, to, tre eller fire ganger på karbonatomet med like eller forskjellige rester fra rekken  $(\text{C}_1\text{-C}_8)$ -alkyl f.eks.  $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ -alkyl,  $(\text{C}_1\text{-C}_8)$ -alkoksy, f.eks.  $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ -alkoksy som metoksy, fenyl- $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ -alkoksy, f.eks. benzyloksy, hydroksy, okso, halogen, nitro, amino eller trifluormetyl, og/eller den er substituert på ring-nitrogenatomet(atomene) i den heterocykliske ring med  $(\text{C}_1\text{-C}_8)$ -alkyl, f.eks.  $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ -alkyl som metyl eller etyl, med eventuelt substituert fenyl eller fenyl- $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ -alkyl, f.eks. benzyl. Nitrogenheterocykler kan også foreligge

som N-oksydet eller som kvaternære salter. Eksempler på begrepene heteroaryl med 5 til 14 ringledd eller en heterocykel med 5 til 12 ringledd er rester som avledes fra pyrrol, furan, tiofen, imidazol, pyrazol, oksazol, isoksazol, tiazol, isotiazol, tetrazol, 1,2,3,5-oksatiadiazol-2-oksyd, triazolon, oksadiazolon, isoksazolon, oksadiazolindindion, triazol som er substituert med F, -CN, -CF<sub>3</sub> eller -C(O)-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkyl, 3-hydroksypyrrol-2,4-dion, 5-okso-1,2,4-tiadiazol, pyridin, pyrazin, pyrimidin, indol, isoindol, indazol, ftalazin, kinolin, isokinolin, kinoksalin, kinazolin, kinnolin, -karbolin og benz-annelerte, cyklopent-, cykloheksa- eller cyklohepta-annelerte derivater av disse heterocykler. Særlig foretrukket er restene 2- eller 3-pyrrolyl, fenylpyrrolyl som 4- eller 5-fenyl-2-pyrrolyl, 2-furyl, 2-tienyl, 4-imidazolyl, metyl-imidazolyl, f.eks. 1-metyl-2-, -4- eller -5-imidazolyl, 1,3-tiazol-2-yl, 2-pyridyl, 3-pyridyl, 4-pyridyl, 2-, 3- eller 4-pyridyl-N-oksyd, 2-pyrazinyl, 2-, 4- eller 5-pyrimidinyl, 2-, 3- eller 5-indolyl, substituert 2-indolyl, f.eks. 1-metyl-, 5-metyl-, 5-metoksy-, 5-benzyloksy-, 5-klor- eller 4,5-dimetyl-2-indolyl, 1-benzyl-2- eller -3-indolyl, 4,5,6,7-tetrahydro-2-indolyl, cyklohepta[b]-5-pyrrolyl, 2-, 3- eller 4-kinolyl, 1-, 3- eller 4-isokinolyl, 1-okso-1,2-dihydro-3-isokinolyl, 2-kinoksalinyl, 2-benzofuranyl, 2-benzo-tienyl, 2-benzoksazolyl eller benzotiazolyl eller dihydropyridinyl, pyrrolidinyl, f.eks. 2- eller 3-(N-metylpyrrolidinyl), piperazinyl, morfolinyl, tiomorfolinyl, tetrahydrotienyl eller benzodioksolanlyl.

Den generelle strukturformel for  $\alpha$ -aminosyrer er som følger:



$\alpha$ -aminosyrene skiller seg fra hverandre ved resten R, som innenfor rammen av foreliggende søknad betegnes som den "karakteristiske rest" av en aminosyre. I det tilfellet R<sup>9</sup> betyr den karakteristiske rest av en aminosyre, anvendes fortrinnsvis de karakteristiske rester av de følgende naturlig forekommende  $\alpha$ -aminosyrer glycine, alanin, valin, leucin, isoleucin, fenylalanin, tyrosin, tryptofan, serin, treonin, cystein, metionin, asparagin, glutamin, lysin, histidin, arginin, glutaminsyre og asparaginsyre. Særlig foretrukket er histidin, tryptofan, serin, treonin, cystein, metionin, asparagin, glutamin, lysin, arginin, glutaminsyre og asparaginsyre. Videre er foretrukne, karakteristiske rester av en aminosyre som anvendes som resten R<sup>9</sup> også ikke naturlig forekommende aminosyrer som 2-aminoadipinsyre, 2-aminosmørsyre, 2-aminoisosmørsyre, 2,3-diaminopropionsyre, 2,4-diaminosmørsyre, 1,2,3,4-tetrahydroisokinolin-1-karboksylysyre, 1,2,3,4-tetrahydroisokinolin-3-karboksylysyre, 2-amino-pimelinsyre, fenylglycin,

3-(2-tienyl)-alanin, 3-(3-tienyl)-alanin, 2-(2-tienyl)-glycin, 2-amino-heptansyre, pipekolinsyre, hydroksylysin, sarkosin, N-metylisoleucin, 6-N-metyllysin, N-metylvalin, norvalin, norleucin, ornitin, allo-isoleucin, allo-treonin, allo-hydroksylysin, 4-hydroksyprolin, 3-hydroksyprolin, 3-(2-naftyl)-alanin, 3-(1-naftylalanin), homofenyl-  
 5 alanin, homocystein, homocysteinsyre, homotryptofan, cysteinsyre, 3-(2-pyridyl)-alanin, 3-(3-pyridyl)-alanin, 3-(4-pyridyl)-alanin, 2-amino-3-fenylaminopropionsyre, 2-amino-3-fenylaminoetylpropionsyre, fosfinotricin, 4-fluorfenylalanin, 3-fluorfenylalanin, 4-fluorfenylalanin, 3-fluorfenylalanin, 3-fluorfenylalanin, 2-fluorfenylalanin, 4-klorfenylalanin, 4-nitrofenylalanin, 4-aminofenylalanin, cykloheksylalanin, citrullin,  
 10 5-fluortryptofan, 5-metoksytryptofan, metionin-sulfon, metionin-sulfoksyd eller  $-NH-NR^{11}-C(O)N(R^{11})_2$ , som eventuelt også er substituert. Hos naturlige, men også hos ikke-naturlige forekommende aminosyrer som har en funksjonell gruppe som amino, hydroksy, karboksy, merkaptoguanidyl, imidazolyl eller indolyl, kan denne gruppe også være beskyttet.

15

Som egnede beskyttelsesgrupper anvendes fortrinnsvis de i peptidkjemien vanlige N-beskyttelsesgrupper, f.eks. beskyttelsesgrupper av uretan-typen, benzyloksykarbonyl (Z), t-butylloksykarbonyl (Boc), 9-fluorenyloksykarbonyl (Fmoc), allyloksykarbonyl (Aloc) eller av syreamid-typen og særlig formyl, acetyl eller trifluoracetyl samt av  
 20 alkyl-typen som benzyl. Hvis det er en imidazolrest i  $R^8$ , tjener f.eks. det for sulfonamid-dannelsen anvendte sulfonsyrederivat med formel (IV) som beskyttelsesgruppe for imidazol-nitrogenet og som kan spaltes av igjen særlig i nærvær av baser som natronlut.

Fremstillingen av forbindelsene med formel (Ia) skjer som beskrevet i WO 01/00610 og  
 25 WO 01/30774. Utgangsstoffene for de kjemiske omsetninger er kjente eller kan lett fremstilles i henhold til kjente litteraturmetoder.

På grunn av de farmakologiske egenskaper er oppfinnelsens anvendte I $\kappa$ B-kinaser inhibitorer og som vist i den benyttede modell, egnert de nevnte inhibitorer seg for  
 30 anvendelse ved alle former for smerte og særlig ved smerter der en inflammasjonsprosess spiller en rolle.

Applikering av forbindelsens legemidler kan skje oralt, inhalativt, rektalt eller transdermalt eller ved subkutan, intraartikulær, intraperitoneal eller intravenøs injeksjon. Den  
 35 orale eller intraartikulære applikering er foretrukket.

Det er mulig å fremstille et legemiddel som karakteriseres ved at minst en forbindelse med formel (Ia) sammen med en farmasøytisk egnet og fysiologisk godtagbar bærer og eventuelt ytterligere aktiv-, tilsetnings- eller hjelpestoffer bringes til en egnet administreringsform.

5

Egnede faste eller galeniske tilberedningsformer er f.eks. granulater, pulvere, dragéer, tabletter, (mikro)kapsler, suppositorier, siruper, safter, suspensjoner, emulsjoner, dråper eller injiserbare oppløsninger samt preparater med protraisert frigivelse av aktivbestanddel, ved hvis fremstilling det anvendes vanlige hjelpestoffer som bærere, spreng-, binde-, overtrekks-, svulle-, glide- eller smøremidler, smaksstoffer, søtning-  
10 midler og oppløsningsformidlere. Som hyppig anvendte hjelpestoffer skal nevnes magnesiumkarbonat, titandioksyd, laktose, mannitt og andre sukkere, talkum, melkeeggwhite, gelatin, stivelse, cellulose og derivater derav, animalske og vegetabiliske oljer som levertran, solsikke-, jordnøtt- eller sesamolje, polyetylenglykol og oppløsningsmidler som sterilt vann og en- eller flerverdige alkoholer som glycerin. Fortrinnsvis fremstilles og administreres de farmasøytiske preparater i doseringsenheter hvor ved hver enhet som aktiv bestanddel inneholder en bestemt dose av oppfinnelsens forbindelse med formel (Ia). Ved faste doseringsenheter som tabletter, kapsler, dragéer eller suppositorier, kan denne dose utgjøre rundt 1000 mg, fortrinnsvis rundt 50 til 300  
20 mg, og ved injeksjonsoppløsninger i ampulleform opp til rundt 300 mg, fortrinnsvis rundt 10 til rundt 100 mg. For behandling av en voksen, ca. 70 kg tung pasient, anvendes, alt etter styrken av forbindelsen med formel (Ia), dagsdoser på rundt 20 mg til 1000 mg aktiv bestanddel, fortrinnsvis rundt 100 mg til 500 mg. Eventuelt kan det imidlertid være anbragt på høyere eller lavere dagsdoser. Administreringen av dagsdosen kan skje ved administrering en gang i form av en enkelt doseringsenhet eller kan  
25 også skje via flere, mindre doseringsenheter og også ved flere gangers administrering av delte doser til bestemte intervaller.

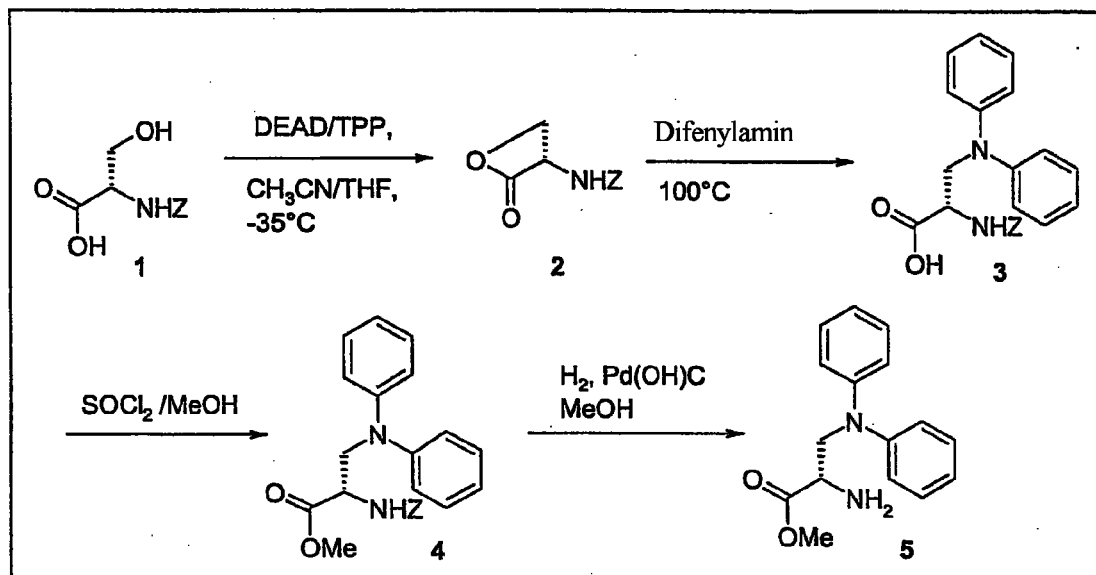
Sluttproduktene er som regel bestemt ved massespektroskopiske metoder (FAB-, ESI-  
30 MS). Temperaturangivelsen skjer i °C, RT betyr romtemperatur (22°C til 26°C). De anvendte forkortelser er enten forklart eller tilsvarer de vanlige konvensjoner.

Oppfinnelsen skal forklares nærmere ved hjelp av de følgende, illustrerende eksempler.

35

## Fremstillingseksempler

## A.1.) Syntese av aminosyren ((S)-2-amino-3-difenylamino-propionsyre-metylester (5))



5

## N-benzyloksy-karbonyl-L-serin-β-lakton (2)

54,8 g (0,209 mmol) trifenylfosfin suspenderes i 600 ml acetonitril og avkjøles under utelukkelse av fuktighet til -35°C til -45°C. Ved denne temperatur tilsettes i løpet av 50 minutter og dråpevis 36,4 g (0,209 mol) azodikarbonsyre-dietylester. Det hele omrøres i 15 minutter ved -35°C. På dette tidspunkt dryppes det langsomt til en oppløsning av 50 g (0,209 mol) N-benzyloksykarbonyl-L-serin (1) i 500 ml acetonitril, slik at temperaturen ikke stiger over -35°C. Deretter omrøres det i 12 timer ved 5°C. For å avbryte reaksjonen befris reaksjonsoppløsningen fra oppløsningsmidlet under redusert trykk og råproduktet renses ved middelstrykkskromatografi på kiselgel med DCM:AcCN 25:1. Etter fjerning av oppløsningsmidlet oppnås 20,8 g N-benzyloksy-karbonyl-L-serin-β-lakton (2) i et utbytte på 45% (se også Org. Synth., 1991 (70) 1 ff.) i fine nåler.

Sumformel C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>; M.W. = 221.2; MS (M+H) 222.1;  
<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) 4.30 (m, 1H), 4.45 (m, 1H), 5.10 (s, 2H), 5.22 (m, 2H), 7.45 (m, 5H), 8.20 (d, J = 9.8 Hz, 1H).

## (S)-2-benzyloksykarbonylamino-3-difenylamino-propionsyre (3)

5,0 g (22,6 mmol) serinlakton (2) omrøres med 20 g (118,2 mmol) difenylamin og oppvarmes til 100°C i 2 timer. Råproduktet renses ved middeltrykkskromatografi på

25

kisegel med DCM:metanol 9:1 og deretter EE:n-heptan 4:1. Etter fjerning av oppløsningsmidlet oppnås 3,65 g ren 2-benzyloksykarbonylamino-3-difenylamino-propionsyre (3) i et utbytte på 42%.

- 5 Sumformel  $C_{23}H_{22}N_2O_4$ ; M.W. = 390.44; MS (M+H) 391.2;  
 $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 3.85 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.3 (m, 1H), 4.9 (m, 2H), 6.9 (m, 5H),  
 7.25 (m, 10H).

(S)-2-benzyloksykarbonylamino-3-difenylamino-propionsyre-metylester (4)

- 10 Til 75 ml metanol dryppes ved  $-5^\circ C$  6,5 ml (89,1 mmol) tionylklorid og det hele omrøres i 15 minutter. Deretter tilsettes 3,6 g (9,22 mmol) 2-benzyloksykarbonylamino-3-difenylamino-propionsyre (3) i 75 ml metanol og det omrøres i ytterligere 3 timer ved romtemperatur. Etter fordamping av oppløsningsmidlet ble resten tatt opp i eddikester og ekstrahert med natriumkarbonat. Rensing ved hjelp av flashkromatografi med  
 15 n-heptan:eddikester 7:3 ga 2,76 g tilsvarende 50% utbytte av 2-benzyloksykarbonylamino-3-difenylamino-propionsyre-metylester (4).

Sumformel  $C_{24}H_{24}N_2O_4$ ; M.W. = 404.47; MS (M+H) 405.2;

- 20  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 3.58 (s, 3H), 3.95 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.4 (m, 1H), 4.95 (m, 2H), 6.9 (m, 6H), 7.3 (m, 9H), 7.85 (d,  $J = 9.8$  Hz, 1H).

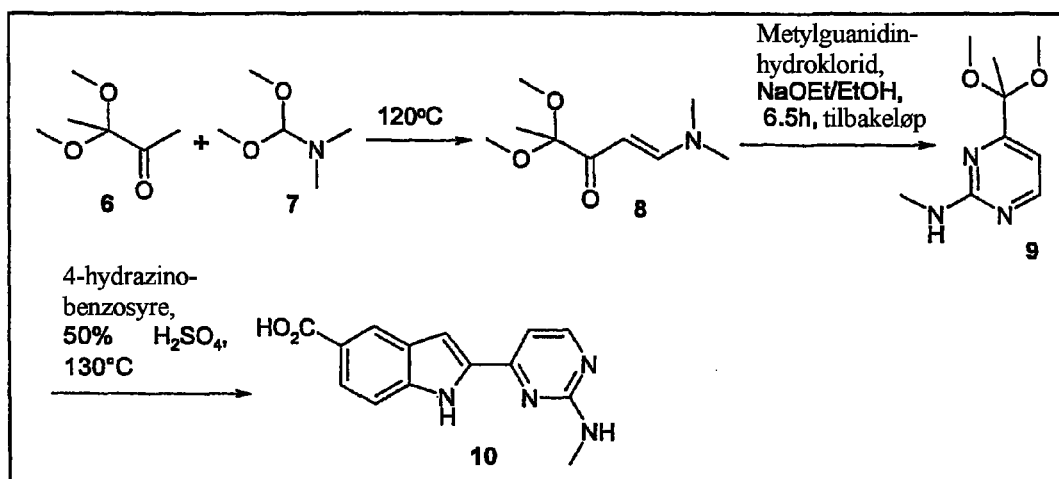
(S)-2-amino-3-difenylamino-propionsyre-metylester (5)

- For avspalting av Z-beskyttelsesgruppen oppløste man 2,7 g (6,68 mmol) av det Z-beskyttede derivat (4) i 500 ml metanol og under nitrogenbeskyttelsesatmosfære ble det  
 25 tilsatt 100 mg katalysator i form av 10% Pd(OH) $_2$ -C. Deretter ble inertgassen fortrent med et stort overskudd hydrogen og det hele rystet i 2 timer under hydrogen. For å avbryte reaksjonen ble katalysatoren filtrert fra og filtratet rensset. Man oppnådde 1,65 g 2-amino-3-difenylamino-propionsyre-metylester (5) i et utbytte på 91%.

- 30 Sumformel  $C_{16}H_{18}N_2O_2$ ; M.W. = 270.32; MS (M+H) 271.2;

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 3.45 (s, 3H), 3.58 (m, 1H), 3.8 (m, 1H), 3.95 (m, 1H), 6.9 (m, 6H), 7.3 (m, 4H).

- 35 A.2.) Syntese av det heterocykliske grunnlegemet (2-(2-metylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-karboksylysyre (10))



#### 1-dimetylamino-4,4-dimetoksy-pent-1-en-3-on (8)

100 g (0,76 mol) 3,3-dimetoksy-2-butanon ble omrørt med 90,2 g N,N-dimetylformamid-dimetylacetal ved 120°C i 48 timer. Den ved reaksjonen dannede metanol ble kontinuerlig fjernet fra reaksjonsoppløsningen ved destillasjon. Ved avkjøling av oppløsningen skjedde det en spontan krystallisering som ble fullført ved tilsetning av litt heptan. Man oppnådde på denne måte 128,24 g råprodukt 8 i et utbytte på 90% og dette ble benyttet i neste omsetning uten ytterligere rensing.

10

Sumformel  $C_9H_{17}NO_3$ ; M.W. = 187.24; MS (M+H) 188.2;

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 1.22 (s, 3H), 2.80 (s, 3H), 3.10 (s, 9H), 5.39 (d, J = 15 Hz, 1H), 7.59 (d, J = 15 Hz, 1H).

#### 15 [4-(1,1-dimetoksy-etyl)-pyrimidin-2-yl]-metyl-amin (9)

1,22 g (53 mmol) natrium ble oppløst i 100 ml absolutt etanol. Dertil ble det som under omrøring satt 5,8 g (53 mmol) metylguanidinhydroklorid og 10 g (53 mmol) 1-dimetylamino-4,4-dimetoksy-pent-1-en-3-on (8) og det hele ble oppvarmet til koking i 4 timer. For å avbryte reaksjonen ble etanolen fordampet. Det således oppnådde produkt 9 ble anvendt uten ytterligere rensing for den følgende reaksjon. Utbyttet var kvantitativt 11,5 g tilsvarende 58 mmol.

20

Sumformel  $C_9H_{15}N_3O_2$ ; M.W. = 197.24; MS (M+H) 198.2;

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 1.45 (s, 3H), 2.78 (s, 3H), 3.10 (s, 6H), 6.75 (d, J = 3 Hz, 1H), 7.0-7.1 (s(b), 1H), 8.30 (d, J = 3 Hz, 1H).

25

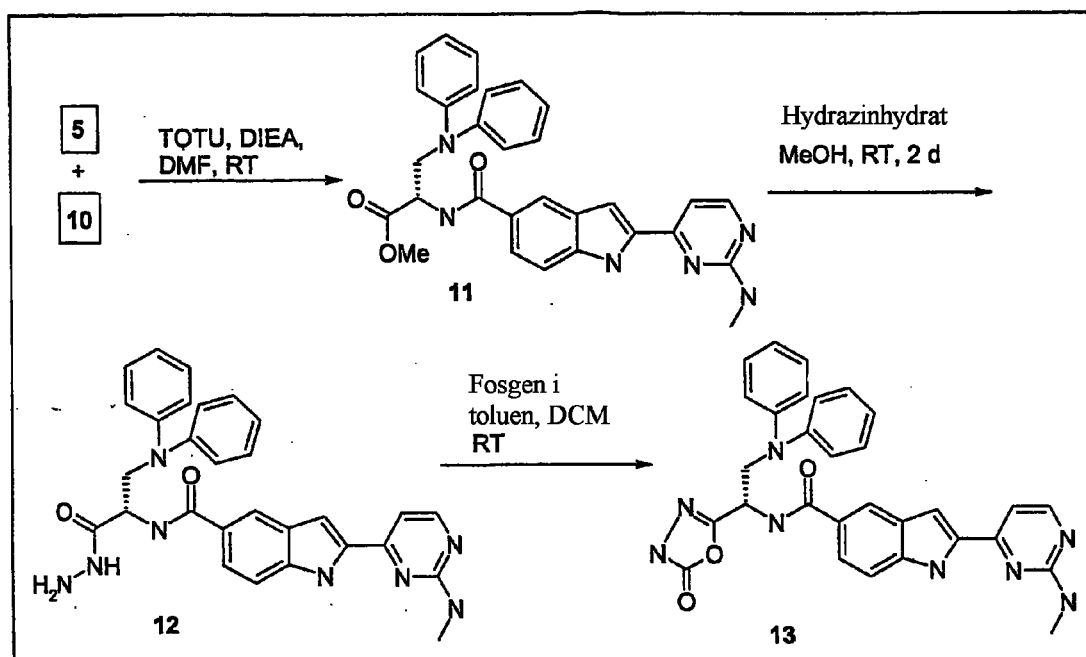
## 2-(2-metylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-karboksylysyre (10)

Til 150 ml 50% svovelsyre ble det ved romtemperatur satt 5 (25 mmol) [4-(1,1-dimetoksy-etyl)-pyrimidin-2-yl]-metyl-amin (9) og 3,85 g 4-hydrazinbenzosyre under omrøring og det hele ble oppvarmet til 130°C i 4 timer. Den ved reaksjonen dannede metanol ble kontinuerlig fjernet fra reaksjonsoppløsningen ved destillasjon. Etter avkjøling til 10°C ble reaksjonsblandingen helt på 200 ml is og innstilt til en pH-verdi på rundt 5,5 med konsentrert natronlut. Det derved dannede bunnfall av natriumsulfat og produktblanding ble filtrert av og filterresten ble ekstrahert flere ganger med metanol. De forente metanolekstrakter ble dampet inn og produktet renses ved flash-kromatografi med DCM:metanol9:1. Utbyttet var 0,76 g tilsvarende 11%.

Sumformel  $C_{14}H_{13}N_4O_2$ ; M.W. = 268.28; MS (M+H) 405.2;

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 2.95 (s, 3H), 6.90-7.10 (s(b), 1H), 7.18 (d, J = 3 Hz, 1H), 7.4 (s, 1H), 7.58 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.80 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 8.38 (d, J = 3 Hz, 1H), 11.85 (s, 1H), 12.40-12.60 (s(b), 1H).

A.3.) Sammenføring av byggestener og syntese av (2-(2-metylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-karboksylysyre-[(S)-2-difenylamino-1-(5-okso-4,5-dihydro-[1,3,4]-oksadiazol-2-yl)-etyl]-amid (13)).



3-difenyldiamino-2-[[2-(2-metyldiamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-karbonyl]-(S)-amino}-propionsyre (11)

5,0 g (18,64 mmol) 2-(2-metyldiamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-karboksylysyre (10) ble oppløst i 1,2 l DMF og etter hverandre tilsatt 7,9 g (24,08 mmol) TOTU og 7,9 ml (46,45 mmol) etyldiisopropylamin. Det hele ble omrørt i 20 minutter ved 5°C og til oppløsningen ble det satt 0,73 g (3,28 mmol) (S)-2-benzylloksykarbonyldiamino-3-difenyldiamino-propionsyre (5). Etter 15 timer ble det hele dampet inn under redusert trykk, resten tatt opp i n-butanol og den organiske fase ekstrahert med natriumhydrogenkarbonatoppløsning for å fjerne biprodukter. Etter tørking med MgSO<sub>4</sub> og inndampning av den organiske fase isolerte man metylesteren av tittelforbindelsen ved flashkromatografi over kiselgel med DCM:MeOH 19:1. Utbyttet var 4,3 g tilsvarende 98%.

Sumformel C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>; M.W. = 520.22; MS (M+H) 521.3;

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) 2.95 (s(b), 3H), 3.60 (s, 3H), 4.19-4.58 (m, 2H), 4.85 (q, 1H), 6.90-7.10 (m, 7H), 7.18 (d, J = 3 Hz, 1H), 7.25-7.40 (m, 5H), 7.50 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 8.05 (s, 1H), 8.35 (d, J = 3 Hz, 1H), 8.70 (d, J = 3.75 Hz, 1H), 11.85 (s, 1H).

2-(2-metyldiamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-karboksylysyre-((S)-2-difenyldiamin-1-hydrazin-karbonyl-etyl)-amid (12)

1,0 g (1,92 mmol) 3-difenyldiamin-2-[[2-(2-metyldiamin-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-karbonyl]-(S)-amino}-propionsyre (11) ble oppløst i 10 ml metanol, det ble tilsatt 0,48 g (9,95 mmol) hydrazinhydrat og det hele omrørt i 15 timer ved romtemperatur. 0,3 g bunnfall av produktet ble separert fra moderlutten ved filtrering. Fra den inndampede moderlut isolerte man ved flashkromatografi på kiselgel med DCM:MeOH 19:1 ytterligere 0,1 g hydrazon 12. Utbyttet var 0,4 g tilsvarende 40%.

Sumformel C<sub>29</sub>H<sub>28</sub>N<sub>8</sub>O<sub>2</sub>; M.W. = 520.6; MS (M+H) 521.4;

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) 2.95 (s(b), 3H), 4.02-4.58 (m, 2H), 4.4 (s, 2H), 4.85 (q, 1H), 6.90-7.10 (m, 7H), 7.18 (d, J = 3 Hz, 1H), 7.20-7.45 (m, 5H), 7.50 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 8.25 (d, J = 3 Hz, 1H), 8.35 (s(b), 1H), 9.30 (s, 1H), 11.70 (s, 1H).

2-(2-metylamin-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-karboksylysyre-[(S)-2-difenylamin-1-(5-okso-4,5-dihydro-[1,3,4]oksadiazol-2-yl)-etyl]-amid (13)

200 mg (0,384 mmol) 2-(2-metylamin-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-karboksylysyre-((S)-2-difenylamin-1-hydrazinkarbonyl-etyl)-amid (12) ble suspendert i 20 ml metylenklorid og ved 0°C ble en 20% fosgenoppløsning i toluene (0,398 mmol) dryppet til under omrøring. Det ble omrørt i ytterligere 15 timer ved romtemperatur og oppløsningsmidlet ble dampet inn. Oksadiazolonet 13 ble deretter isolert ved flashkromatografi på kiselgel med DCM:MeOH 9:1. Utbyttet var 160 mg tilsvarende 76%.

10 Sumformel  $C_{30}H_{26}N_8O_3$ ; M.W. = 546.6; MS (M+H) 547.3;

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 2.95 (s(b), 3H), 4.02-4.58 (m, 2H), 4.85 (q, 1H), 6.90-7.10 (m, 7H), 7.15 (d, J = 3 Hz, 1H), 7.20-7.40 (m, 6H), 7.52 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.92 (d, J = 3 Hz, 1H), 11.78 (s, 1H), 12.15-12.40 (s(b), 1H).

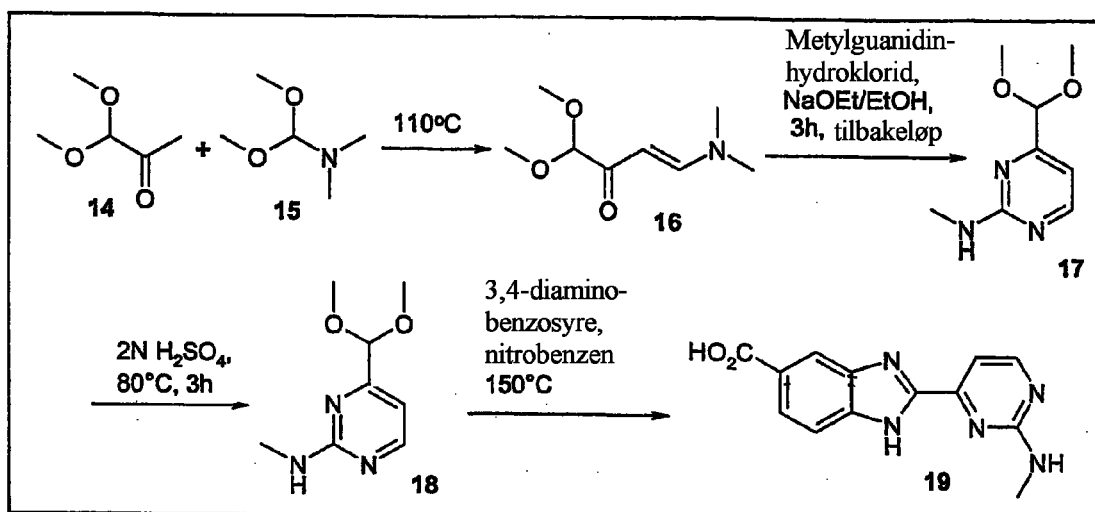
15

B.) Eksempel på benzimidazol I $\kappa$ B-kinase-inhibitor

B.1.) Syntese av aminosyren ((S)-2-amino-3-difenylamino-propionsyre-metylester (5)) som beskrevet under A.1.

20

B.2.) Syntese av det heterocykliske grunnlegeme (2-(2-metylaminopyrimidin-4-yl)-1H-benzimidazol-5-karboksylysyre (19))



25

## 4-dimetylamin-1,1-dimetoksy-but-3-en-2-on (16)

300 g (307 ml, 2,54 mol) metylglyoksaldimetylacetal ble omrørt med 303 g (337 ml, 2,54 mol) N,N-dimetylformamid-dimetylacetal ved 110°C i 4 timer. Den ved reaksjonen dannede metanol ble kontinuerlig fjernet fra reaksjonsoppløsningen ved destillasjon.

- 5 Etter avkjøling ble oppløsningen ekstrahert med heptan og oppløsningsmidlet fordampet. Man oppnådde på denne måte 303 g råprodukt 16 tilsvarende et utbytte på 70% som ble omsatt videre uten ytterligere rensing.

Sumformel  $C_8H_{15}NO_3$ ; M.W. = 173.21; MS (M+H) 174.1;

- 10  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 2.10 (s, 1H), 2.80 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 3.25 (s, 3H), 3.3 (s, 3H), 4.42 (s, 1H), 5.19 (d(b), J = 12.8 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 15 Hz, 1H).

## (4-dimetoksymetyl-pyrimidin-2-yl)-metyl-amin (17)

0,33 g (14,4 mmol) natrium ble oppløst i 50 ml absolutt etanol. Dertil ble det under omrøring satt 1,57 g (14,4 mmol) metylguanidinhydroklorid og 2,48 g (14,4 mmol) 4-dimetylamin-1,1-dimetoksy-but-3-en-2-on (16) og det hele oppvarmet til koketemperatur i 3 timer. For å avbryte reaksjonen ble etanolen fordampet. Det således oppnådde produkt 17 ble anvendt uten ytterligere rensing. Utbyttet var kvantitativt 2,6 g.

- 20 Sumformel  $C_8H_{13}N_3O_2$ ; M.W. = 183.21; MS (M+H) 184.1;

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 2.78 (s, 6H), 3.10 (s, 3H), 5.02 (s, 1H), 6.62 (d, J = 3 Hz, 1H), 8.30 (d, J = 3 Hz, 1H).

## 2-metylamin-pyrimidin-4-karbaldehyd (18)

- 25 10 g (54 mmol) (4-dimetoksymetyl-pyrimidin-2-yl)-metyl-amin (17) ble oppløst i 54 ml 2N svovelsyre og oppvarmet i 3 timer til 80°C under omrøring. Etter avkjøling av reaksjonsblandingen ble den forsiktig bragt til en pH-verdi på rundt 9 med fast  $Na_2CO_3$  og ekstrahert tre ganger med etanol. De forente, tørkede ekstrakter ga etter fordampning av oppløsningsmidlet tittelaldehydet 18 i en mengde på 4,47 g tilsvarende et utbytte på 60%.
- 30

Sumformel  $C_6H_7N_3O$ ; M.W. = 137.12; MS (M+H) 138.2;

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 2.60-2.80 (s(b), 3H), 6.95 (d, J = 3 Hz, 1H), 7.40-7.60 (s(b), 1H), 8.55 (d, J = 3 Hz, 1H).

2-(2-metylamin-pyrimidin-4-yl)-1H-benzoimidazol-5-karboksylysyre (19)

4,3 g (31,3 mmol) metylamin-pyrimidin-4-karbaldehyd (18) og 4,8 g (31,1 mmol)

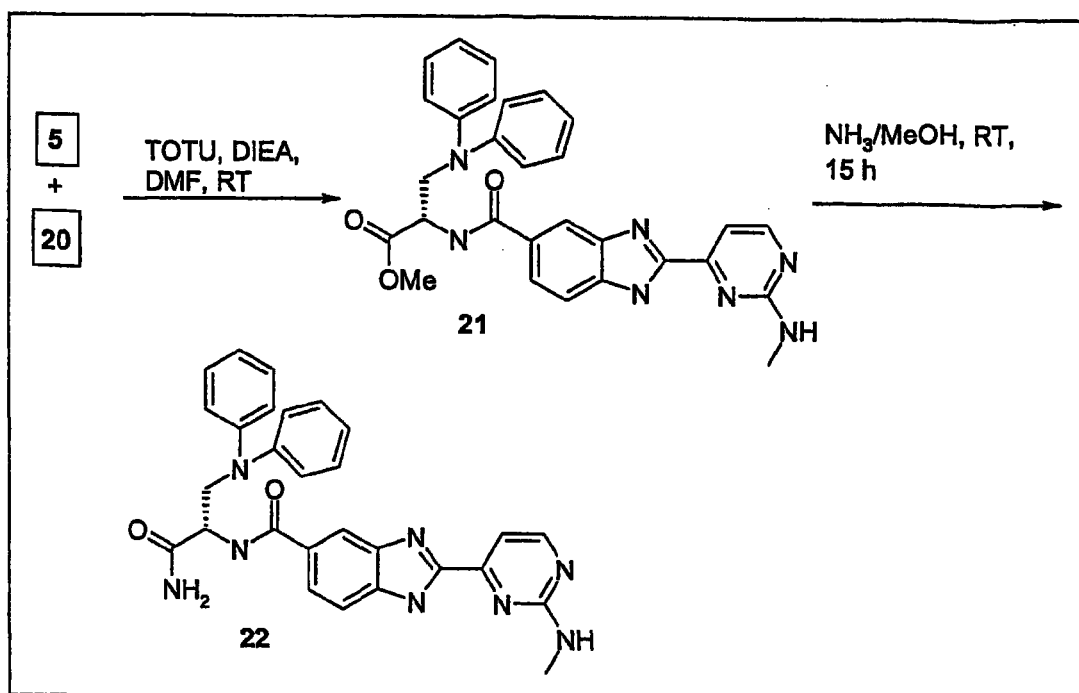
3,4-diamino-benzosyre ble oppvarmet i 300 ml nitrobenzene i 2 timer til 150°C. Etter avkjøling til 0°C ble benzoimidazol-bunnfallet fjernet fra nitrobenzene ved filtrering og

5 produktet renset ved flashkromatografi med DCM:metanol 4:1. Utbyttet var 2,66 g tilsvarende 32%.

Sumformel  $C_{13}H_{11}N_5O_2$ ; M.W. = 269.28; MS (M+H) 270.2;

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 2.95 (s, 3H), 7.50 (d, J = 3 Hz, 1H), 7.75 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.90  
10 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.55 (d, J = 3 Hz, 1H), 8.70-9.05 (s(b), 1H).

- 3.) Sammenføring av byggestenene og syntese av 2-(2-metylamin-pyrimidin-4-yl)-  
15 1H-benzoimidazol-5-karboksylysyre-((S)-1-karbamoyl-2-difenylamin-etyl)-amid (22)



3-difenyldiamino-2-{{[2-(2-metyldiamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzoimidazol-5-karbonyl]-  
(S)-amino}}-propionsyre (21)

2,6 g (9,6 mmol) 2-(2-metyldiamin-pyrimidin-4-yl)-1H-benzoimidazol-5-karboksylysyre  
(20) ble oppløst i 300 ml DMF og etter hverandre tilsatt 3,17 g (9,6 mmol) TOTU og  
5 1,6 ml (11,6 mmol) etyldiisopropylamin. Det hele ble omrørt i 20 minutter ved 5°C og  
til oppløsningen ble det satt 2,6 g (9,6 mmol) (S)-2-benzyloksykarbonyldiamin-3-difenyldiamin-propionsyre (5). Etter 16 timers omrøring ble det hele dampet inn under redusert trykk og til slutt ble metylesteren 21 isolert ved flashkromatografi på kiselgel med DCM:MeOH 9:1. Utbyttet var 1,61 g tilsvarende 32%.

10

Sumformel  $C_{29}H_{27}N_7O_3$ ; M.W. = 521.58; MS (M+H) 522.3;

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 2.95 (s(b), 3H), 3.60 (s, 3H), 4.19-4.40 (m, 2H), 4.90 (q, 1H),  
6.90-7.10 (m, 6H), 7.25-7.35 (m, 6H), 7.40 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.60-7.80  
(d(b) 1H), 8.05-8.25 (d(b), 1H), 8.45 (d, J = 3 Hz, 1H), 8.90 (s(b), 1H),  
15 11.85 (s(b), 1H).

2-(2-metyldiamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzoimidazol-5-karboksylysyre-((S)-1-  
karbamoyl-2-difenyldiamin-etyl)-amid (22)

50 ml absolutt metanol ble mettet med ammoniakk ved 0°C. Dertil ble det satt 0,5 g  
20 (0,959 mmol) 3-difenyldiamin-2-{{[2-(2-metyldiamin-pyrimidin-4-yl)-1H-benzoimidazol-5-  
karbonyl]-  
(S)-amin}}-propionsyre (21) og det hele ble omrørt i 24 timer ved romtemperatur. Etter fordamping av oppløsningsmidlet og overskytende ammoniakk ble amidet 22 isolert ved flashkromatografi over kiselgel med DCM:MeOH 19:1. Utbyttet var 0,43 g tilsvarende 89%.

25

Sumformel  $C_{29}H_{28}N_8O_2$ ; M.W. = 506.57; MS (M+H) 507.2;

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ) 2.95 (s(b), 3H), 4.02-4.35 (m, 2H), 4.85 (q, 1H), 6.80-7.10 (m,  
6H), 7.15-7.25 (m, 5H), 7.40 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.58 (s(b), 1H), 7.68 (s(b),  
1H), 8.06-8.19 (d(b), 1H), 8.40-8.58 (m, 2H), 13.10 (s, 1H).

30

### Farmakologiske eksempler

I $\kappa$ B-kinase ELISA:

35 Aktiviteten for I $\kappa$ B-kinase ble bestemt med en ELISA bestående av et biotinyleret  
substratpeptid som inneholdt aminosyresekvensen i proteinet I $\kappa$ B fra serin 32 til 36, og  
et spesifikt poly- eller monoklonalt antistoff (f.eks. fra New England Biolabs, Beverly,

MA, USA, kat. 9240), som kun binder til den fosforylerte form av peptidet I $\kappa$ B. Dette kompleks ble immobilisert på en antistoff-bindende plate (protein A belagt) og detektert med et konjugat av et biotin-bindende protein og HRP (f.eks. Streptavidin-HRP). Aktiviteten ble kvantifisert ved hjelp av standardkurve med substratfosfopeptid.

5

#### Gjennomføring:

For å oppnå kinasekomplekset ble 10 ml HeLa S3-celleekstrakt S100 fortynnet med 40 ml 50 mM HEPES, pH 7,5, bragt til 40% ammoniumsulfat og inkubert på is i 30 minutter. Den presipiterte pellett ble oppløst i 5 ml SEC-buffer (50 mM HEPES, pH 7,5, 1  
10 mM DTT, 0,5 mM EDTA, 10 mM 2-glyserofosfat), sentrifugert ved 20.000 x g i 15 minutter og filtrert gjennom et 0,22  $\mu$ m filter. Proben ble bragt på en 320 ml Superose-6 FPLC-søyle (Amersham Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Sverige) som var ekvilibrent med SEC-buffer og som ble drevet med en strømningshastighet på 2 ml/min. ved 4°C. Fraksjonene som lå ved en løpetid for 670 kDa molekylvektstandard ble forenet for  
15 aktivering. Aktiveringen ble oppnådd ved en 45 minutters inkubering med 100 nM MEKK1 $\Delta$ , 250  $\mu$ M MgATP, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 mM Ditiotretol (DTT), 10 mM 2-glyserofosfat, 2,5  $\mu$ M Microcystin-LR ved 37°C. Det aktiverte enzym ble lagret ved -80°C.

20 De i DMSO oppløste testsubstanser (2  $\mu$ l) ble forinkubert i 30 minutter ved 25°C med 43  $\mu$ l aktivert enzym (fortynnet 1:25 i reaksjonsbuffer 50 mM HEPES, pH 7,5, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 mM DTT, 10 mM  $\beta$ -glycerofosfat, 2,5  $\mu$ M Microcystin-LR). Deretter ble 5  $\mu$ l substratpeptid (Biotin-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-DRHDSGLDSMKD-CONH<sub>2</sub>) (200  $\mu$ M) tilsatt, det hele inkubert i 1 time og så stanset med 150  $\mu$ l 50 mM HEPES, pH 7,5, 0,1% BSA, 50 mM  
25 EDTA, antistoff [1:200]. 100  $\mu$ l av den stoppede reaksjonsblanding henholdsvis en standardfosfopeptidfortynningsserie (Biotin-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-DRHDS[PO<sub>3</sub>]GLDSMKD-CONH<sub>2</sub>) ble så overført til en protein-A-plate (Pierce Chemical Co., Rockford, IL, USA) og inkubert i 2 timer under rysting. Etter 3 vasketrinn med PBS ble det tilsatt 100  $\mu$ l 0,5  $\mu$ g/ml Streptavidin-HRP (pepperrotoksydase) (fortynnet i 50 mM HEPES/0,1% BSA) i  
30 30 minutter. Etter 5 vasketrinn med PBS ble det tilsatt 100  $\mu$ l TMB-substrat (Kirkegaard & Perry Laboratories, Gaithersburg, MD, USA) og fargeutviklingen stanset ved tilsetning av 100  $\mu$ l 0,18M svovelsyre. Absorpsjonen ble målt ved 450 nm. Standardkurven ble oppnådd ved lineær regresjon tilsvarende en 4-parameter dosis-virkningsligning. Ved hjelp av denne standardkurve kunne man kvantitere enzym-  
35 aktiviteten henholdsvis deres inhibering via teststoffene.

IC<sub>50</sub> for 2-(2-metylamin-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-karboksylysyre-[(S)-2-difenylamin-1-(5-okso-4,5-dihydro-[1,3,4]oksadiazol-2-yl)-etyl]-amid var 0,050 µM.

IC<sub>50</sub> for 1-(2-metylamin-pyrimidin-4-yl)-1H-benzoimidazol-5-karboksylysyre-((S)-1-  
5 karbamoyl-2-difenylamin-etyl)-amid utgjorde 0,045 µM.

### Smerteanalyse

Den analgetiske og anti-noziseptive virkning av forbindelsen 2-(2-metylamin-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-karboksylysyre-[(S)-2-difenylamin-1-(5-okso-4,5-dihydro-  
10 [1,3,4,] oksadiazol-2-yl)-etyl]-amid, nedenfor kalt forbindelse 13, ble påvist i de følgende modeller:

1. modell: Zymosan-indusert potebetennelse hos rotte;

Parameter: Potetilbaketrekningstid eller potetilbaketrekningsterskel ved termisk  
15 eller mekanisk stimulering av bakpoten.

2. modell: Kaolin/Karragenan-indusert kneleddsbetennelse hos rotte;

Parameter: Reaksjon på spinale neuroner ved gjennomirritasjon av kneet.

### 20 Modell 1

Forsøks gjennomføring: I kortidsnarkose med isofluran ble forsøksdyret injisert subkutant med 1 mg zymosan (som suspensjon i 100 µl PBS (med fosfat-bufret saltoppløsning) i midten av plantarsiden av en bakpote. Deretter bestemte man kvantitativt utviklingen av en hyperalgesi med to forskjellige oppførelstester.

25

a) Bestemmelse av potetilbaketrekningstid ved termisk stimulering (Hargreaves-test).

Forsøksdyret ble satt i et gjennomsiktig plastkammer med en glassbunn. Med en gang forsøksdyret etter undersøkelsesperioden (ca. 5 minutter) ikke lenger beveget seg, ble en IR-lyskilde anbragt direkte under bakpoten som skulle stimuleres og slått på. Lampen  
30 strålte fokusert IR-lys med stigende intensitet, slik at hudtemperaturen for bakpoten steg så å si lineært. Med en gang dyret trakk poten vekk, ble lampen slått av. Potetemperaturen for tidspunktet for vekttrækking er den for dyret akkurat ubehagelige temperatur og man snakker om den termiske smerteterskel.

35 b) Bestemmelse av potetilbaketrekningstiden ved mekanisk stimulering (von Frey-test). Forsøksdyret ble satt i et gjennomsiktig plastkammer hvis bunn bestod av trådmasker. Ved hjelp av kalibrerte nylontråder, såkalt von Frey-hår, ble det oppnådd

punktformige trykk med definert styrke. Den svakeste trykkipring ved hvilken dyret trakk poten vekk, bestemte den mekaniske smerteterskel.

Ved ca. ½ time før og til forskjellige tidspunkter etter zymosan-injeksjonen ble den termiske og mekaniske smerteterskel for høyre og venstre bakpote bestemt (se tabellene 1 og 2). Fra dette kunne man beregne den synkende ipsilaterale smerteterskel, uttrykt i % av den kontralaterale smerteterskel (se tabellene 1 og 2). Desto sterkere reduksjonen er, desto mer utpreget er hyperalgesien.

Zymosan-injeksjonen induerte i kontrollgruppen en utpreget mekanisk og termisk hyperalgesi (se kontrolldata i tabellene 1 og 2). Ca. 15 minutter før og 2,5 henholdsvis 5,5 timer etter zymosan-injeksjonen ble en ytterligere gruppe dyr under korttidsnarkose med isofluran injisert den ovenfor nevnte forbindelse 13 ad intraperitoneal vei (30 mg/kg i polyetylenglykol:vann 1:1). Den termiske hyperalgesi var hos disse dyr fra 2 timer etter zymosan-injeksjon mindre utpreget enn i kontrollgruppen, etter den tredje substansadministrering var det over hodet ingen sideforskjell når det gjaldt potetilbake- trekningstiden (se tabell 1). Denne effekt vedvarte 18 timer etter den siste substans-administrering.

Den mekaniske hyperalgesi ble likeledes redusert signifikant ved forbindelse 13. Effekten startet 1 time etter zymosan-injeksjon og varte 18 timer etter den siste substans-administrering (se tabell 2).

Virksomheten for forbindelse 13 er meget sterk i begge testmodeller. Sammenligningsdata fra en tidligere gjennomført studie viste at forbindelse 13 reduserte den termiske hyperalgesi betydelig sterkere enn NSAID-diklofenac.

30

35

Tabell 1: Endring av potetilbaketrekningstiden (%).

Tid (h) etter zymosan-injeksjon (0)	Middelverdi for forbindelse 13	SA forbindelse 13	Middelverdi kontroll	SA kontroll
Bunmlinje -0,5	0,0	0,0	0,0	0,0
0,5	-16,6	6,6	-21,4	6,3
1	-31,3	14,1	-28,8	11,6
2	-30,2	15,4	-44,8	19,1
3	-15,3	5,3	-49,2	17,9
4	-16,0	11,5	-50,6	23,0
5	-9,7	18,6	-46,6	24,8
6	5,0	2,6	-38,4	17,6
7	3,4	5,8	-29,9	22,1
24	-3,8	7,0	-46,1	18,4

SA – standard avvik

5 Tabell 2: Forandring i potetilbaketrekningstiden (%).

Tid (h) etter zymosan-injeksjon (0)	Middelverdi for forbindelse 13	SA forbindelse 13	Middelverdi kontroll	SA kontroll
Bunmlinje -0,5	0,0	0,0	0,0	0,0
0,5	-37,4	6,6	-48,9	31,3
1	-43,1	20,5	-66,0	23,2
2	-36,0	17,8	-71,8	26,0
3	-35,1	13,1	60,5	20,2
4	-46,7	11,9	-64,3	18,2
5	-40,6	14,0	-55,5	25,8
6	-33,1	23,3	-57,3	18,0
7	-44,7	21,5	-47,1	23,9
24	-9,7	26,6	-41,5	17,3

SA – standard avvik

## Modell 2

Forsøks gjennomføring: Hos rotter ble under trapanal-narkose virvelkanalen åpnet og de ryggmargsneuroner som forarbeider "smerteimpulsene" fra kneleddet, identifisert. Etter identifisering ble det gjennomført en langtidsavledning der aktiviteten av nervecellene før og under utviklingen av en akutt betennelse i kneleddet, ble registrert. Deretter ble i en kontrollperiode før induksjon av betennelsen og etter induksjon av denne i flere timer responsene på ikke-noksisk og noksisk irritasjon i kneleddet.

Den akutte betennelse ble indusert ved en intraartikulær injeksjon av en kaolin- og karragenansuspensjon (ca. 150  $\mu$ l). I kontrollforsøk ble kun bæreren anbragt på ryggmargsoverflaten for å illustrere utviklingen av overpurring under kontrollbetingelser. Som regel skjedde denne utvikling av overpurringen i løpet av 2 til 4 timer og ytret seg i en sterk økning av responsen på ikke-noksisk og noksisk piring av kneleddet (tabell 3). I forsøkene der den ovenfor nevnte forbindelse 13 ble administrert, ble substansen inngitt ca. 30 minutter før induksjon av betennelsen på ryggmargen (ca. 3  $\mu$ l av en 10  $\mu$ M oppløsning). Deretter ble responsene hos cellen på ikke-noksisk og noksisk piring forfulgt videre som i kontrollforsøkene.

Sammenligning av forandringen av responsen i de to grupper viser at forbindelse 13 så å si fullstendig undertrykket utviklingen av spinal overreaksjon i forhold til kontrollene (tabell 3). Virkningen av forbindelse 13 på responsen på noksiskkneleddsstimulering var totalt sett sterkere utpreget enn virkningen av indometacin, noe som ble fastslått ved en sammenligning med publiserte data fra en tidligere studie.

Tabell 3: Neuronale responser før og under en kneleddsbetennelse (imp/15s)

Noksisk piring i kneleddet				
Tid (min.) etter K/C-injeksjon (0)	Middelverdi forbindelse 13	SEM forbindelse 13	Middelverdi kontroll	SEM kontroll
Bunmlinje	0,8	29,9	0	0
30-60	62,3	49,3	161,6	43,7
60-120	26,9	35	458,1	125,4
120-180	8,5	58,9	544,2	140,0
180-240	19,5	59,9	616,3	174,7

## Ikke-noksisk piring i kneleddet

Tid (min.) etter K/C-injeksjon (0)	Middelverdi forbindelse 13	SEM forbindelse 13	Middelverdi kontroll	SEM kontroll
Bunlinje	0,92	16,90	0	0
30-60	8,66	23,76	21,4	11,9
60-120	2,71	25,94	74,6	38,3
120-180	11,16	24,22	105,7	39,0
180-240	39,78	25,09	149,7	44,3

Videre ble virkningen av 2-(2-metylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzoimidazol-5-karboksytsyre-((S)-1-karbamoyl-2-difenylamin-etyl)-amid i det følgende kalt forbindelse 22, testet i modell 2.

Kontrolldata: se tabell 3

Tabell 4: Neuronale responser før og under kneleddsbetennelse (imp/15s)

10

## Noksisk piring i kneleddet

Tid (min. etter K/C-injeksjon)	Forbindelse 22 Forsøk 1	Forbindelse 22 Forsøk 2
Bunlinje	0	0
30-60	-109,1	-9,2
60-120	-101,1	
120-180	-37,8	60
180-240		96,7

## Ikke-noksisk piring i kneleddet

Tid (min. etter K/C-injeksjon)	Forbindelse 22 Forsøk 1	Forbindelse 22 Forsøk 2
Bunlinje	0	0
30-60	-34,1	-30,6
60-120	-37,2	
120-180	-32,1	50,3
180-240		68,7

15 Disse data bekrefter den gode virkning for forbindelse 22 i model 2.

### 3. modell: Zymosan-indusert potebetennelse hos mus;

Parameter: Potetilbaketrekningstid ved termisk stimulering av bakpoten.

- 5 Forsøkgjennomføring: I korttidsnarkose med isofluran ble forsøksdyret injisert 25  $\mu$ l av en suspensjon som inneholdt 50 mg/ml zymosan, i den høyre bakpote. Deretter ble utviklingen av en hyperalgesi bestemt kvantitativt som følger:

Bestemmelse av potetilbaketrekningstiden ved termisk stimulering (Hargreaves-test, se ovenfor). Bestemmelse av potetilbaketrekningstid ved termisk stimulering (Hargreaves-test). Forsøksdyret ble satt i et gjennomsiktig plastkammer med en glassbunn. Med en gang forsøksdyret etter undersøkelsesperioden (ca. 5 minutter) ikke lenger beveget seg, ble en IR-lyskilde anbragt direkte under bakpoten som skulle stimuleres og slått på. Lampen strålte fokusert IR-lys med stigende intensitet, slik at hudtemperaturen for bakpoten steg så å si lineært. Med en gang dyret trakk poten vekk, ble lampen slått av. Potetemperaturen for tidspunktet for vekttrekking er den for dyret akkurat ubehagelige temperatur og man snakker om den termiske smerteterskel.

Kort før zymosan-injeksjonen og i 7 til 14 dager etter injeksjonen ble den termiske smerteterskel på høyre og venstre bakpote bestemt en gang pr. dag. Deretter bestemte man som mål for hyperalgesien integralet av flaten som ble dannet av kurvene for potevekkingsstid for betent og ikke-betent pote (AUC, areal mellom kurvene, se tabellene 5 og 6). Desto større denne verdi er, desto mer utpreget er hyperalgesien og desto mindre verdien er hos dyr som får substansen, desto mer vellykket er terapien.

25 I en 7-dagers studie induserte zymosan-injeksjonen i en kontrollgruppe en utpreget termisk hyperalgesi (se bærer, tabell 5). I den andre gruppe begynte substansadministreringen en dag etter zymosan-injeksjonene etter at det allerede var oppstått en tydelig termisk hyperalgesi. Forbindelse 13 ble så administrert 2 ganger daglig i 7 dager oralt og hver gang enten 25 eller 75 mg/kg i HEC/Lipofundin (1% HEC i Lipofundin). Bedømmelsen av potevekketrekningstidene under det totale tidsrom av studien (7 dager) ga at AUC under substansadministrering avtok dosisavhengig. Ved doser fra 8,3 mg/kg enkelt dose var den vellykkede terapi signifikant i forhold til bærergruppen (tabell 5). Virkningen for forbindelse 13 i testmodellen er meget sterk. I en parallelt medført gruppe av dyr ble Paracetamol administrert i en meget høy dose, likeledes 2 ganger pr. dag. Forbindelse 13 reduserte den termiske hyperalgesi sterkere enn Paracetamol (tabell 5).

Tabell 5. Termisk hyperalgesi i løpet av 7 dager etter zymosan-injeksjon.

	AUC middelverdi [målt på hyperalgesi]	Standardfeil for det aritmetiske middel (SEM)	Antall dyr pr. gruppe	Statistisk forskjell i forhold til bærer
Bærer	45,1	1,5	8	
Paracetamol	24,6	4,1	8	ja
Forbindelse 13, 2,8 mg/kg	40,4	2,4	8	nei
Forbindelse 13, 8,3 mg/kg	32,3	2,2	8	ja
Forbindelse 13, 25 mg/kg	19,4	2,9	8	ja
Forbindelse 13, 75 mg/kg	17,4	2,6	8	ja

I en ytterligere studie på mus ble virksamheten for forbindelse 13 sammenlignet med den til den spesifikke COX-2-inhibitor Celecoxib. Zymosan-injeksjon og doserings-  
 5 skjema var identisk med den til det beskrevne studie. Den eneste forskjell var at den ytterligere studie løp over 14 dager.

På grunn av forbindelse 13 kunne man nok en gang på dosisavhengig måte redusere den  
 10 termiske hyperalgesi (tabell 6). Derved var effekten av forbindelse 13 og Celecoxib like sterk i den høyere dosering (tabell 6).

15

20

Tabell 6. Termisk hyperalgesi i løpet av 14 dager etter zymosan-injeksjon.

	AUC middelverdi [målt på hyperalgesi]	Standardfeil for det aritmetiske middel (SEM)	Antall dyr pr. gruppe	Statistisk forskjell i forhold til bærer
Bærer	90,0	5,1	8	
Celecoxib, 8,3 mg/kg	79,9	5,9	5	nei
Celecoxib, 25 mg/kg	51,5	3,7	9	ja
Forbindelse 13, 8,3 mg/kg	64,5	5,0	5	ja
Forbindelse 13, 25 mg/kg	47,6	4,4	9	ja

#### 4. modell: Zymosan-indusert potebetennelse hos mus;

5 Parameter: Spontan løpeytelse i løpehjul.

Forsøksdyret hadde i oppholds buret tilgang til et løpehjul hvis omdreining kunne registreres elektronisk. C57/B6-musene benyttet løpehjulet frivillig i nattetimene og la bak seg i løpet av en uke tilvenningsfase 4100 meter/natt. Etter zymosan-injeksjon ble den nattlige løpestrekning forkortet. Denne reduksjon av løpestrekningen gjaldt som parameter for den betennelsessmertebetingede funksjonsbegrensning.

Forsøksgjennomføring: Løpestrekningen pr. 24 timer ble målt etter en tilvendingsfase, i en uke for bestemmelse av bunnlinjen. Deretter ble dyrene i korttidsnarkose med isofluran injisert 25 µl av en suspensjon inneholdende 50 mg/ml zymosan i den høyre bakpote. Deretter ble løpestrekningen pr. 24 timer målt de neste 7 dager. Ved utregningen ble flaten under kurven bestemt for løpestrekningens verdier (AUC, tabell 7); desto mindre AUC, desto mindre løpeytelse i uken etter zymosan-injeksjon. Forbindelse 13 ble administrert 2 ganger daglig i 7 dager og hver gang 25 henholdsvis 75 mg/kg i HEC/lipofundin (1% HEC i lipofundin). Substansadministreringen begynte 1 dag etter zymosan-injeksjonen.

I en studie ble virkningen av forbindelse 13 sammenlignet med Paracetamol når det gjelder løpeytelsen etter zymosan-injeksjon. Det ble registrert en dosisavhengig økning av løpestrekningen som for begge ved høyere dosering var signifikant i forhold til bærergruppen (tabell 7). Med Paracetamol i en ekstremt høy dose (likeledes 2 ganger

daglig) ble det i sammenligning med dette ikke registrert noen forbedring i forhold til bærergruppen (tabell 7).

Tabell 7. Løpehjulaktivitet i løpet av 7 dager etter zymosan-injeksjon

5

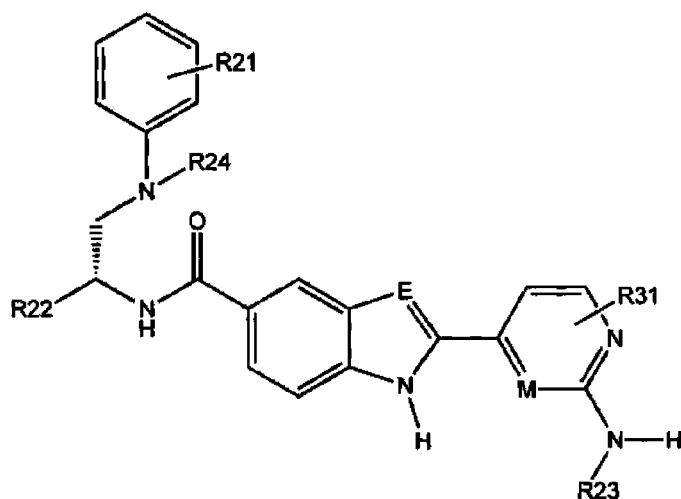
	AUC middel- verdi rt	Standardfeil for det aritmetiske middel (SEM)	Antall dyr pr. gruppe	Statistisk for- skjell i forhold til bærer
Bærer	108,8	12,5	8	
Paracetamol, 200 mg/kg	187,2	42,7	8	nei
Forbindelse 13, 2,8 mg/kg	131,1	23,3	8	nei
Forbindelse 13, 8,3 mg/kg	142,1	29,1	8	nei
Forbindelse 13, 25 mg/kg	216,7	58,5	8	ja
Forbindelse 13, 75 mg/kg	251,7	41,9	8	ja

P a t e n t k r a v

1.

Anvendelse av en forbindelse med formel (Ia)

5



(Ia)

og/eller en stereoisomerform av forbindelsen med formel (Ia) og/eller et fysiologisk godtagbart salt av forbindelsen med formel (Ia), hvorved

10

E og M er like eller forskjellige og uavhengig av hverandre er N eller CH,

R21 og R31 er like eller forskjellige og uavhengig av hverandre er

1. hydrogen,
- 15 2. halogen,
3.  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,
4.  $-CN$ ,
5.  $-CF_3$ ,
6.  $-OR^{15}$ , der  $R^{15}$  er hydrogen eller  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,
- 20 7.  $-N(R^{15})-R^{16}$ , der  $R^{15}$  og  $R^{16}$  uavhengig av hverandre er hydrogen eller  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,
8.  $-C(O)-R^{15}$ , der  $R^{15}$  er hydrogen eller  $-(C_1-C_4)$ -alkyl eller
9.  $-S(O)_x-R^{15}$ , der X er det hele tall 0, 1 eller 2 og  $R^{15}$  er hydrogen eller  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,

25

R22 er

1. en heteroarylrest fra gruppen 3-hydroksypyrrol-2,4-dion, imidazol, imidazolidin, imidazolin, indazol, isotiazol, isotiazolidin, isoksazol, 2-isoksazolidin, isoksazolidin, isoksazolon, morfolin, oksazol, 1,3,4-oksadiazol, oksadiazolidindion, oksadiazolon, 1,2,3,5-oksatiadiazol-2-oksyd, 5-okso-4,5-dihydro-  
 5 [1,3,4]oksadiazol, 5-okso-1,2,4-tiadiazol, piperazin, pyrazin, pyrazol, pyrazolidin, pyridazin, pyrimidin, tetrazol, tiadiazol, tiazol, tiomorfolin, triazol eller triazolon, og heteroarylresten eventuelt er substitueret en, to eller tre gange, uafhængig af  
 10 hverandre med
  - 1.1  $-C(O)-R^{15}$ , der  $R^{15}$  er hydrogen eller  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,
  - 1.2  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,
  - 1.3  $-O-R^{15}$ , der  $R^{15}$  er hydrogen eller  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,
  - 1.7  $-N(R^{15})-R^{16}$ , der  $R^{15}$  og  $R^{16}$  uafhængig af hverandre er hydrogen eller  
 15  $(C_1-C_4)$ -alkyl,
  - 1.8 halogen eller
  - 1.9 keto-rester,
2.  $-C(O)-R^{15}$ , der  $R^{15}$  er hydrogen eller  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,
3.  $-C(O)-OR^{15}$ , der  $R^{15}$  er hydrogen eller  $-(C_1-C_4)$ -alkyl eller
- 20 4.  $-C(O)-N(R^{17})-R^{18}$ , der  $R^{17}$  og  $R^{18}$  uafhængig af hverandre er hydrogen eller  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,

R23 er hydrogen eller  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,

25 R24 er

1. en heteroarylrest fra gruppen pyrrol, furan, tiofen, imidazol, pyrazol, oksazol, isoksazol, tiazol, isotiazol, tetrazol, 1,2,3,5-oksatiadiazol-2-oksyd, triazolon, oksadiazolon, isoksazolon, oksadiazolidindion, triazol, 3-hydroksypyrrol-2,4-  
 30 dion, 5-okso-1,2,4-tiadiazol, pyridin, pyrazin, pyrimidin, indol, isoindol, indazol, ftalazin, kinolin, isokinolin, kinoksalin, kinazolin, cinnolin,  $\beta$ -karbolin og benz-annellerte cyklopenta- eller cykloheksaderivater af disse heteroarylrester, hvorved heteroarylresten eventuelt er substitueret en, to eller tre gange uafhængig af hverandre med  $-(C_1-C_5)$ -alkyl,  $-(C_1-C_5)$ -alkoksy, halogen, nitro,  
 35 amino, trifluormetyl, hydroksyl, hydroksy- $(C_1-C_4)$ -alkyl, metylendioksy, etylendioksy, formyl, acetyl, cyano, hydroksykarbonyl, aminokarbonyl eller  $-(C_1-C_4)$ -alkoksykarbonyl, eller

2. en arylrest fra gruppen fenyl, naftyl, 1-naftyl, 2-naftyl, bifenylyl, 2-bifenylyl, 3-bifenylyl og 4-bifenylyl, antryl eller fluorenyl, og arylresten eventuelt er substituert en, to eller tre ganger, med  $-(C_1-C_5)$ -alkyl,  $-(C_1-C_5)$ -alkoksy, halogen, nitro, amino, trifluormetyl, hydroksyl, hydroksy-  
 5  $(C_1-C_4)$ -alkyl, metylendioksy, etylendioksy, formyl, acetyl, cyano, hydroksykarbonyl, aminokarbonyl eller  $-(C_1-C_4)$ -alkoksykarbonyl, for fremstilling av legemidler for behandling av smerter.

2.

10 Anvendelse av forbindelsen med formel (Ia) ifølge krav 1, der E og M er like eller forskjellige og uavhengig av hverandre er N eller CH,

R21 og R31 er like eller forskjellige og uavhengig er definert som i krav 1 under 1 til 9,

15 R22 er 1. en heteroarylrest fra gruppen imidazol, isotiazol, isoksazol, 2-isoksazolidin, isoksazolidin, isoksazol, 1,3,4-oksadiazol, oksadiazolidindion, 1,2,3,5-oksadiazolon, oksazol, 5-okso-4,5-dihydro-[1,3,4]oksadiazol, tetrazol, tiadiazol, tiazol, triazol eller triazol, og heteroarylresten eventuelt er substituert en, to eller tre ganger, uavhengig av hverandre med

20 1.1 keto-rest,

1.2 halogen eller

1.3  $-(C_1-C_2)$ -alkyl eller

2.  $-C(O)-N(R^{17})-R^{18}$ , der  $R^{17}$  og  $R^{18}$  uavhengig av hverandre er hydrogen,  $-(C_1-C_4)$ -alkyl-OH,  $-O-(C_1-C_4)$ -alkyl eller  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,

25

R23 er hydrogen, metyl eller etyl,

R24 er 1. en heteroarylrest fra gruppen umettede, delvis mettede eller fullstendig mettede ringer som avledes fra pyridin, pyrazin, pyrimidin, pyridazin, pyrrol,  
 30 furan, tiofen, imidazol, pyrazol, oksazol, isoksazol, tiazol, triazol eller isotiazol, hvorved heteroarylresten eventuelt er substituert en, to eller tre ganger uavhengig av hverandre med  $-(C_1-C_4)$ -alkyl,  $-(C_1-C_4)$ -alkoksy, F, Cl, J, Br, nitro, amino, trifluormetyl, hydroksyl, hydroksy- $(C_1-C_4)$ -alkyl, metylendioksy, etylendioksy, formyl, acetyl, cyano, hydroksykarbonyl, aminokarbonyl eller  
 35  $-(C_1-C_4)$ -alkoksykarbonyl eller

2. fenyl, der fenyl eventuelt er substituert en, to eller tre ganger uavhengig av hverandre med F, Cl, J, Br, CF<sub>3</sub>, -OH, -(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkyl eller -(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkoksy.

3.

5 Anvendelse av forbindelsen med formel (Ia) ifølge krav 1, der forbindelsen er 2-(2-metylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-karboksylysyre-[(S)-2-difenylamino-1-(5-okso-4,5-dihydro-[1,3,4]oksadiazol-2-yl)-etyl]-amid eller 2-(2-metylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzoimidazol-5-karboksylysyre-((S)-1-karbamoyl-2-difenylamin-etyl)-amid.

10

4.

Anvendelse av forbindelsen med formel (Ia) ifølge et eller flere av kravene 1 til 3 for fremstilling av legemidler for profylakse og terapi av akutte smerter eller kroniske smerter.

15

5.

20 Anvendelse ifølge krav 4, der det dreier seg om kroniske smerter fra gruppen kroniske, muskelskjeletære sykdommer som rygg smerter, smerter ved regelblødninger, smerter ved osteoartrose eller rheumatoid artritt, smerter ved tarmbetennelse, smerter ved hjerte-muskelbetennelse, smerter ved multippelskleroser, smerter ved neuritt, smerter ved karsinomer og sarkomer, smerter ved AIDS, smerter ved kjemoterapi, amputasjons-smerte, trigeminus-neuralgi, hodesmerter som migrenehodesmerter eller neuropatiske smerter som postherpetiske zosterneuralgi.

25

6.

Anvendelse ifølge krav 4, der det dreier seg om akutte smerter fra gruppen smerter etter skader, postoperative smerter, smerter ved akutte giktangrep eller akutte smerter etter kjevekirurgiske inngrep.