(19) Octrooicentrum Nederland

(11) **1031335**

(12) C **OCTROOI**[20]

(21) Aanvrage om octrooi: **1031335**

(22) Ingediend: **09.03.2006**

(51) Int.Cl.:
C07C311/08 (2006.01) ***A61K31/18*** (2006.01)
A61P29/00 (2006.01)

(30) Voorrang:
10.03.2005 US 60/660978

(41) Ingeschreven:
12.09.2006 I.E. 2006/11

(47) Dagtekening:
23.01.2007

(45) Uitgegeven:
02.04.2007 I.E. 2007/04

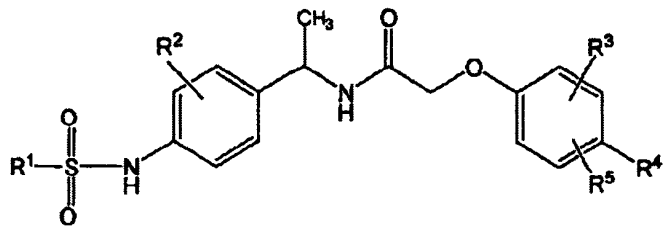
(73) Octrooihouder(s):
Pfizer Inc. te New York, New York, Verenigde Staten van Amerika (US).

(72) Uitvinder(s):
Takeshi Hanazawa te Chita (JP).
Misato Hirano te Chita (JP).
Tadashi Inoue te Chita (JP).
Satoshi Nagayama te Chita (JP).
Kazunari Nakao te Chita (JP).
Yuji Shishido te Chita (JP).
Hirotaka Tanaka te Chita (JP).

(74) Gemachtigde:
Mr. G.L. Kooy c.s. te 2514 BB Den Haag.

(54) **Gesubstitueerde *N*-sulfonylaminofenylethyl-2-fenoxyaceetamideverbindingen.**

(57) De onderhavige uitvinding voorziet in een verbinding met de formule (I):
waarin R^1 staat voor (C_1-C_6)alkyl, R^2 staat voor een waterstofatoom, een halogeenatoom, een hydroxygroep, (C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkoxy, hydroxy(C_1-C_6) alkyl, (C_1-C_6) alkoxy-(C_1-C_6) alkyl of halogeen (C_1-C_6)-alkyl, R^3 staat voor een halogeenatoom, (C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6) alkoxy, hydroxy (C_1-C_6) alkoxy, (C_1-C_6) alkoxy-(C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6) alkoxy- (C_1-C_6) alkoxy, halogeen (C_1-C_6) alkyl, (C_1-C_6) alkylthio, (C_1-C_6) alkylsulfinyl, (C_1-C_6) alkylsulfonyl, [(C_1-C_6)alcyl]NH- of [(C_1-C_6)alkyl]$_2$N-, R^4 staat voor een halogeenatoom, (C_1-C_6) alkyl, halogeen (C_1-C_6) alkyl, (C_1-C_6) alkoxy, hydroxy (C_1-C_6) alkoxy, (C_1-C_6) alkoxy-(C_1-C_6) alkyl, (C_1-C_6) alkoxy- (C_1-C_6) alkoxy, [(C_1-C_6)alkyl]NH-, of [(C_1-C_6)alkyl]$_2$N-, R^5 staat voor een halogeenatoom, (C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6) alkoxy, hydroxy (C_1-C_6) alkoxy, (C_1-C_6) alkoxy- (C_1-C_6) alkyl, (C_1-C_6) alkoxy- (C_1-C_6) alkoxy, halogeen (C_1-C_6) alkyl, (C_1-C_6) alkylthio, (C_1-C_6) alkylsulfinyl, (C_1-C_6) alkylsulfonyl, [(C_1-C_6) alkyl]NH-, [(C_1-C_6) alkyl]$_2$N-, H_2N- (C_1-C_6)alkoxy, (C_1-C_6) alkyl-NH- (C_1-C_6) alkoxy, [(C_1-C_6) alkyl]$_2$N (C_1-C_6)alkoxy, H_2N-(C_1-C_6) alkoxy- (C_1-C_6) alkyl, (C_1-C_6) alkyl-NH- (C_1-C_6) alkoxy-(C_1-C_6) alkyl of [(C_1-C_6) alkyl] $_2$N (C_1-C_6) alkoxy- (C_1-C_6) alkyl, en
* een chiraal centrum aanduidt, of een farmaceutisch aanvaardbaar zout of solvaat daarvan.
Deze verbindingen zijn bruikbaar voor de behandeling van ziektetoestanden die worden veroorzaakt door overactivering van de VR1-receptor, zoals pijn en dergelijke, bij een zoogdier. De onderhavige uitvinding voorziet ook in een farmaceutisch preparaat dat de bovenstaande verbinding bevat.



De inhoud van dit octrooi wijkt af van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en). De oorspronkelijk ingediende stukken kunnen bij het Octrooicentrum Nederland worden ingezien.
Octrooicentrum Nederland is het Bureau voor de Industriële Eigendom, een agentschap van het ministerie van Economische Zaken

NL C 1031335

GESUBSTITUEERDE *N*-SULFONYLAMINOFENYLETHYL-2-FENOXYACEET-AMIDEVERBINDINGEN

Technisch terrein

Deze uitvinding heeft betrekking op nieuwe gesubstitueerde *N*-sulfonylaminofenylethyl-2-fenoxyaceetamideverbindingen. Deze verbindingen zijn bruikbaar als antagonisten van de VR1-(type 1 vanilloïd)-receptor en zijn dus bruikbaar voor de behandeling van pijn, neuralgie, neuropathieën, zenuwletsel, brandwonden, migraine, carpale-tunnelsyndroom, fibromyalgie, neuritis, sciatica, bekkenovergevoeligheid, ziekte van de blaas, ontsteking en dergelijke bij zoogdieren, en in het bijzonder mensen. De onderhavige uitvinding heeft ook betrekking op een farmaceutisch preparaat dat de bovenstaande verbindingen omvat.

Stand der techniek

De vanilloïdreceptor 1 (VR1) is een ligand gestuurd niet-selectief kationkanaal. Men neemt aan dat het een lid is van de transiente-receptor-potentiaal-superfamilie. VR1 wordt erkend als een polymodale nociceptor die verscheidene pijnprikkels integreert, bijvoorbeeld schadelijke warmte, protonen en vanilloïden (European Journal of Physiology, 451:151-159, 2005). De belangrijkste verdeling van VR1 is in de sensorische (Aδ- en C-)vezels, die bipolaire neuronen zijn met somata in de sensorische ganglia. De perifere vezels van deze neuronen innerveren de huid, de membranen in de slijmvliezen en bijna alle inwendige organen. Ook wordt erkend dat VR1 voorkomt in de blaas, nier, hersenen, pancreas en diverse andere soorten organen. Een aantal studies met VR1-agonisten, bijvoorbeeld capsaïcine

of resiniferatoxine, hebben gesuggereerd dat VR1-positieve zenuwen mogelijk deel hebben in een aantal fysiologische responsen, waaronder nociceptie (Clinical Therapeutics, 13(3): 338-395, 1991, Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 314:410-421, 2005 en Neuroscience Letter, 3888: 75-80, 2005). Op grond van zowel de weefselverdeling als de rollen van VR1, zouden VR1-antagonisten goede therapeutische potentie hebben.

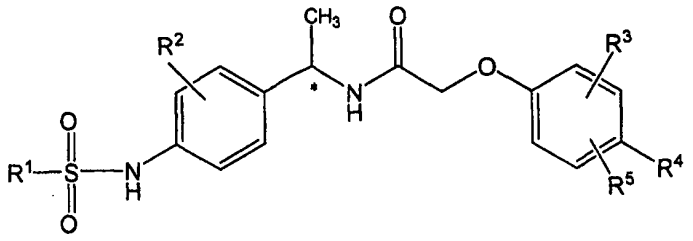
In internationale octrooiaanvrage WO-A-2005003084 worden 4-(methylsulfonylamino)fenylanaloga besproken die naar verluidt activiteit als VR1-antagonisten hebben.

Het zou wenselijk zijn indien kon worden voorzien in een nieuwe selectieve VR1-antagonist met een betere bindingsactiviteit aan de VR1-receptor door middel van systemische toediening en een goede halfwaardetijd. Andere mogelijke voordelen omvatten een geringere toxiciteit, goede absorptie, goede oplosbaarheid, geringe eiwitbindingsaffiniteit, minder geneesmiddel-geneesmiddelinteractie, een lagere remmende activiteit op het HERG-kanaal, een lagere QT-prolongatie en een goede metabolische stabiliteit.

Korte beschrijving van de uitvinding

Men heeft nu ontdekt dat gesubstitueerde *N*-sulfonylaminobenzyl-2-fenoxyaceetamideverbindingen krachtige VR1-antagonisten met analgetische activiteit door systemische toediening zijn. De verbindingen van de onderhavige uitvinding kunnen een geringere toxiciteit, goede absorptie, goede halfwaardetijd, goede oplosbaarheid, geringe eiwitbindingsaffiniteit, minder geneesmiddel-geneesmiddelinteractie, een lagere remmende activiteit op het HERG-kanaal, een lagere QT-prolongatie en een goede metabolische stabiliteit vertonen.

De onderhavige uitvinding voorziet in een verbinding met de volgende formule (I):



(I)

waarin R^1 staat voor (C_1-C_6)alkyl,

R^2 staat voor waterstof, halogeen, hydroxy, (C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkoxy, hydroxy(C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkyl of halogeen(C_1-C_6)alkyl,

R^3 staat voor een halogeenatoom, (C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkoxy, hydroxy(C_1-C_6)alkoxy, (C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkoxy, halogeen(C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkylthio, (C_1-C_6)alkylsulfinyl, (C_1-C_6)alkylsulfonyl, [(C_1-C_6)alkyl]NH- of [(C_1-C_6)alkyl]$_2$N-,

R^4 staat voor een halogeenatoom, (C_1-C_6)alkyl, halogeen(C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkoxy, hydroxy(C_1-C_6)alkoxy, (C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkoxy, [(C_1-C_6)alkyl]NH- of [(C_1-C_6)alkyl]$_2$N-,

R^5 staat voor een halogeenatoom, (C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkoxy, hydroxy(C_1-C_6)alkoxy, (C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkoxy, halogeen(C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkylthio, (C_1-C_6)alkylsulfinyl, (C_1-C_6)alkylsulfonyl, [(C_1-C_6)alkyl]NH-, [(C_1-C_6)alkyl]$_2$N-, H_2N-(C_1-C_6)alkoxy, (C_1-C_6)alkyl-NH-(C_1-C_6)alkoxy, [(C_1-C_6)alkyl]$_2$N(C_1-C_6)alkoxy, H_2N-(C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkyl-NH-(C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkyl of [(C_1-C_6)alkyl]$_2$N(C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkyl en

* een chiraal centrum aanduidt,

of een farmaceutisch aanvaardbaar zout of solvaat daarvan.

Gedetailleerde beschrijving van de uitvinding

Zoals deze hierin wordt gebruikt, betekent de term **"halogeen"** fluor, chloor, broom en jood, en bij voorkeur fluor of chloor.

Zoals deze hierin wordt gebruikt, betekent de term "(C_1-C_6)**alkyl**" verzadigde groepen met rechte of vertakte keten van 1 tot 6 koolstofatomen, waaronder, maar niet beperkt tot methyl, ethyl, *n*-propyl, *iso*-propyl, *n*-butyl, *iso*-butyl, *secundaire*-butyl, *tertiaire*-butyl. Alkylgroepen die de voorkeur hebben, zijn methyl, ethyl, *n*-propyl, *n*-butyl, *tertiaire*-butyl.

Zoals deze hierin wordt gebruikt, betekent de term "**hydroxy**(C_1-C_6)**alkyl**" een (C_1-C_6)alkylgroep als hierboven gedefinieerd die gesubstitueerd is met een hydroxygroep, waaronder, maar niet beperkt tot hydroxymethyl, hydroxyethyl, hydroxy-*n*-propyl, hydroxy-*iso*-propyl, hydroxy-*n*-butyl, hydroxy-*iso*-butyl, hydroxyl-*secundaire*-butyl, hydroxy-*tertiaire*-butyl. Hydroxyalkylgroepen die de voorkeur hebben, zijn hydroxymethyl, hydroxyethyl, hydroxy-*n*-propyl, hydroxy-*n*-butyl.

Zoals deze hierin wordt gebruikt, betekent de term "(C_1-C_6)**alkoxy**" (C_1-C_6)alkyl-O-, waaronder, maar niet beperkt tot, methoxy, ethoxy, *n*-propoxy, *iso*-propoxy, *n*-butoxy, *iso*-butoxy, *secundaire*-butoxy, *tertiaire*-butoxy. Alkoxygroepen die de voorkeur hebben, zijn methoxy, ethoxy, *n*-propoxy, *n*-butoxy, *tertiaire*-butoxy.

Zoals deze hierin wordt gebruikt, betekent de term "**hydroxy**(C_1-C_6)**alkoxy**" een (C_1-C_6)alkoxygroep als hierboven gedefinieerd die gesubstitueerd is met een hydroxygroep, waaronder, maar niet beperkt tot, hydroxymethoxy, hydroxyethoxy, hydroxy-*n*-propoxy, hydroxy-*iso*-propoxy, hydroxy-*n*-butoxy, hydroxy-*iso*-butoxy, hydroxy-*secundaire*-butoxy, hydroxy-*tertiaire*-butoxy. Hydroxyalkoxygroepen die de voorkeur hebben, zijn hydroxymethoxy, hydroxyethoxy, hydroxy-*n*-propoxy, hydroxy-*n*-butoxy.

Zoals deze hierin wordt gebruikt, betekent de term "(C_1-C_6)**alkylthio**" (C_1-C_6)alkyl-S-, waarin (C_1-C_6)alkyl is zoals hierboven gedefinieerd, waaronder, maar niet beperkt tot, methylthio, ethylthio, *n*-propylthio, *iso*-propylthio, *n*-butylthio, *iso*-butylthio, *secundaire*-butylthio, *tertiai-*

re-butylthio. Alkylthiogroepen die de voorkeur hebben, zijn methylthio, ethylthio, *n*-propylthio, *n*-butylthio.

Zoals deze hierin wordt gebruikt, betekent de term "(C_1-C_6)**alkylsulfinyl**" (C_1-C_6)alkyl-SO-, waarin (C_1-C_6)alkyl is zoals hierboven gedefinieerd, waaronder, maar niet beperkt tot, methylsulfinyl, ethylsulfinyl, *n*-propylsulfinyl, *iso*-propylsulfinyl, *n*-butylsulfinyl, *iso*-butylsulfinyl, *secundaire*-butylsulfinyl, *tertiaire*-butylsulfinyl. Alkylsulfinylgroepen die de voorkeur hebben, zijn methylsulfinyl, ethylsulfinyl, *n*-propylsulfinyl, *n*-butylsulfinyl.

Zoals deze hierin wordt gebruikt, betekent de term "(C_1-C_6)**alkylsulfonyl**" (C_1-C_6)alkyl-SO_2-, waarin (C_1-C_6)alkyl is zoals hierboven gedefinieerd, waaronder, maar niet beperkt tot, methylsulfonyl, ethylsulfonyl, *n*-propylsulfonyl, *iso*-propylsulfonyl, *n*-butylsulfonyl, *iso*-butylsulfonyl, *secundaire*-butylsulfonyl, *tertiaire*-butylsulfonyl. Alkylsulfonylgroepen die de voorkeur hebben, zijn methylsulfonyl, ethylsulfonyl, *n*-propylsulfonyl, *n*-butylsulfonyl.

Zoals deze hierin wordt gebruikt, betekent de term "**[(C_1-C_6)alkyl]NH-**" (C_1-C_6)alkyl-NH-, waarin (C_1-C_6)alkyl is zoals hierboven gedefinieerd, waaronder, maar niet beperkt tot, methylamino, ethylamino, *n*-propylamino, *iso*-propylamino, *n*-butylamino, *iso*-butylamino, *secundaire*-butylamino, *tertiaire*-butylamino. Alkylaminogroepen die de voorkeur hebben, zijn methylamino, ethylamino, *n*-propylamino, *n*-butylamino.

Zoals deze hierin wordt gebruikt, betekent de term "**[(C_1-C_6)alkyl]$_2$N-**" di((C_1-C_6)alkyl)-N-, waarin (C_1-C_6)alkyl is zoals hierboven gedefinieerd, waaronder, maar niet beperkt tot, dimethylamino, diethylamino, methylethylamino, di-*n*-propylamino, methyl-*n*-propylamino, ethyl-*n*-propylamino, di-*iso*-propylamino, di-*n*-butylamino, methyl-*n*-butylamino, di-*iso*-butylamino, di-*secundaire*-butylamino, di-*tertiaire*-butylamino. Dialkylaminogroepen die de voorkeur

hebben, zijn dimethylamino, diethylamino, di-*n*-propylamino, di-*n*-butylamino.

Zoals deze hierin wordt gebruikt, betekent de term "**halogeen**(C_1-C_6)**alkyl**" een (C_1-C_6)alkylgroep die gesubstitueerd is met één of meer halogeenatomen zoals hierboven gedefinieerd, waaronder, maar niet beperkt tot, fluormethyl, difluormethyl, trifluormethyl, 2-fluorethyl, 2,2-difluorethyl, 2,2,2-trifluorethyl, 2,2,2-trichloorethyl, 3-fluorpropyl, 4-fluorbutyl, chloormethyl, trichloormethyl, joodmethyl en broommethyl. Halogeenalkylgroepen die de voorkeur hebben, zijn fluormethyl, difluormethyl, trifluormethyl, 2-fluorethyl, 2,2-difluorethyl, 2,2,2-trifluorethyl.

Wanneer de verbindingen met de formule (I) hydroxygroepen bevatten, kunnen deze esters vormen. Voorbeelden van dergelijke esters omvatten esters met een carboxylgroep. De esterrest kan een gewone beschermende groep zijn, of een beschermende groep die *in vivo* kan worden afgesplitst met een biologische werkwijze, zoals hydrolyse.

Bij voorkeur staat R^1 voor methyl en hebben R^2, R^3, R^4 en R^5 elk de hierboven gegeven betekenis.

Bij voorkeur staat R^2 voor waterstof, fluor, chloor, hydroxy, hydroxymethyleen of methoxy, heeft R^1 de hierboven gegeven betekenis in de breedste definitie, of is deze methyl en hebben R^3, R^4 en R^5 elk de hierboven gegeven betekenis.

Bij voorkeur staat R^3 voor halogeen of (C_1-C_3)alkoxy, en liefst is deze fluor, hebben R^1 en R^2 de hierboven gegeven betekenis, in de breedste of in de voorkeursdefinities, en hebben R^4 en R^5 elk de hierboven gegeven betekenis.

Bij voorkeur staat R^4 voor (C_1-C_6)alkyl of halogeen(C_1-C_6)alkyl en liefst is deze *tert*-butyl of 2,2,2-trifluor-1,1-dimethylethyl, hebben R^1, R^2 en R^3 elk de hierboven gegeven betekenis, in de breedste of in de voorkeursdefinities, en heeft R^5 de hierboven gegeven betekenis.

Bij voorkeur staat R^5 voor halogeen of (C_1-C_3)alkoxy, en liefst is deze fluor, en hebben R^1, R^2, R^3 en R^4 elk de hierboven gegeven betekenis, in de breedste of in de voorkeursdefinities.

Afzonderlijke verbindingen van de onderhavige uitvinding die de voorkeur hebben, worden gekozen uit:
2-(4-*tert*-butyl-3,5-difluorfenoxy)-*N*-(1-{3-methyl-4-[(methylsulfonyl)amino]fenyl}ethyl)aceetamide,
2-(4-*tert*-butyl-3,5-difluorfenoxy)-*N*-(1-{3-fluor-4-[(methylsulfonyl)amino]fenyl}ethyl)aceetamide,
2-(4-*tert*-butyl-3,5-difluorfenoxy)-*N*-(1-{4-[(methylsulfonyl)amino]fenyl}ethyl)aceetamide,
2-(4-*tert*-butyl-3,5-difluorfenoxy)-*N*-(1-{3-hydroxymethyl-4-[(methylsulfonyl)amino]fenyl}ethyl)aceetamide en
2-(4-(2,2,2-trifluor-1,1-dimethylethyl)-3,5-difluorfenoxy)-*N*-(1-{3-methyl-4-[(methylsulfonyl)amino]fenyl}-ethyl)aceetamide,
of een farmaceutisch aanvaardbaar zout of solvaat daarvan.

Liefst hebben de verbindingen met de formule (I) op de positie die wordt aangeduid met * (R)-stereochemie.

Verdere voorkeursverbindingen van de onderhavige uitvinding omvatten die waarin elke variabele in de formule (I) wordt gekozen uit de voorkeursgroepen voor elke variabele.

De verbindingen van de onderhavige uitvinding zijn antagonisten van de VR1-receptor en dus bruikbaar in therapeutica, met name voor de behandeling van acute cerebrale ischemie, pijn, chronische pijn, neuropathische pijn, pijn door ontsteking, post-herpetische neuralgie, neuropathieën, neuralgie, diabetische neuropathie, neuropathie in verband met HIV, zenuwletsel, reumatoïde artritische pijn, osteoartritische pijn, brandwonden, pijn in de rug, viscerale pijn, pijn door kanker, kiespijn, hoofdpijn, migraine, carpale-tunnelsyndroom, fibromyalgie, neuritis, sciatica, bekkenovergevoeligheid, pijn in het bekken, menstruatiepijn, ziekte van de blaas, zoals incontinentie, mic-

tiestoornis, nierkolieken en cystitis, ontsteking, zoals brandwonden, reumatoïde artritis en osteoartritis, neurodegeneratieve ziekte, zoals beroerte, pijn na beroerte en multiple sclerose, pulmonale ziekte, zoals astma, hoesten, chronische obstructieve pulmonale ziekte (Chronic Obstructive Pulmonary Disease; COPD) en bronchoconstrictie, gastro-intestinale ziekte, zoals gastro-oesophageale reflux-ziekte (Gastroesophageal Reflux Disease; GERD), dysfagie, ulcer, prikkelbare-darm-syndroom (Irritable Bowel Syndrome; IBS), ontstekingsziekte van de darmen (Inflammatory Bowel Disease; IBD), colitis en ziekte van Crohn, ischemie zoals cerebrovasculaire ischemie, emesis, zoals door chemotherapie tegen kanker geïnduceerde emesis, en obesitas en dergelijke bij zoogdieren, in het bijzonder bij mensen.

De verbindingen met de formule (I) die VR1-antagonisten zijn, zijn mogelijk bruikbaar bij de behandeling van een reeks van stoornissen. De behandeling van pijn, met name van neuropathische pijn, is een voorkeurstoepassing.

Fysiologische pijn is een belangrijk beschermend mechanisme dat bestemd is om te waarschuwen tegen het gevaar van mogelijk schadelijke prikkels uit de omgeving. Het systeem werkt door een specifieke reeks van primaire gevoelsneuronen en wordt door schadelijke prikkels geactiveerd via perifere transductiemechanismen (zie Millan, 1999, Prog. Neurobiol., 57, 1-164 voor een overzicht). Deze sensorische vezels staan bekend als nociceptoren en zijn kenmerkend axonen met een kleine diameter die lage geleidingssnelheden hebben. Nociceptoren coderen voor de intensiteit, duur en kwaliteit van schadelijke prikkels en, dankzij hun topografische georganiseerde projectie op het ruggenmerg, ook voor de plaats van de prikkel. De nociceptoren worden aangetroffen op nociceptieve zenuwvezels waarvan er twee hoofdtypen zijn, A-deltavezels (gemyelineerd) en C-vezels (niet-gemyelineerd). De activiteit gegenereerd door de nociceptorinput, wordt, na een ingewikkelde verwerking in de dorsale hoorn, overgebracht, ofwel

rechtstreeks, ofwel via relais-kernen in de hersenstam, naar de ventrobasale thalamus en vervolgens naar de hersenschors, waar de gewaarwording van pijn wordt ontwikkeld.

Pijn kan in het algemeen worden geclassificeerd als acuut of chronisch. Acute pijn begint plotseling en is van korte duur (doorgaans twaalf weken of minder). Deze wordt gewoonlijk geassocieerd met een specifieke oorzaak, zoals een specifiek letsel en is deze scherp en ernstig. Het is de soort pijn die kan optreden na specifieke letsels die het resultaat zijn van een operatie, tandheelkundige ingrepen, een verrekking of een verstuiking. Acute pijn heeft in het algemeen geen blijvende psychologische respons tot gevolg. Daarentegen is chronische pijn een langdurige pijn, houdt typisch meer dan drie maanden aan en leidt tot aanzienlijke psychologische en emotionele problemen. De gebruikelijke voorbeelden van chronische pijn zijn neuropathische pijn (bijvoorbeeld pijnlijke diabetische neuropathie, post-herpetische neuralgie), carpale-tunnelsyndroom, pijn in de rug, hoofdpijn, pijn door kanker, artritische pijn en chronische pijn na een operatie.

Wanneer aanzienlijk letsel in een lichaamsweefsel optreedt, door ziekte of een trauma, worden de kenmerken van de nociceptoractivering gewijzigd en is er sensibilisering in de periferie, plaatselijk rond het letsel en centraal waar de nociceptoren eindigen. Deze effecten leiden tot een verhoogde gewaarwording van pijn. Bij acute pijn kunnen deze mechanismen bruikbaar zijn, doordat gedrag wordt bevorderd dat zich richt op de bescherming, zodat herstelprocessen beter kunnen plaatsvinden. De normale verwachting zou zijn dat de gevoeligheid tot een normale waarde terugkeert zodra het letsel is geheeld. Bij vele chronische pijntoestanden duurt de overgevoeligheid echter veel langer dan het genezingsproces en is deze vaak te wijten aan letsel van het zenuwstelsel. Dit letsel leidt vaak tot afwijkingen in vezels van de sensorische zenuwen geassoci-

eerd met maladaptatie en afwijkende activiteit (Woolf & Salter, 2000, Science, 288, 1765-1768).

Klinische pijn is aanwezig wanneer ongemak en abnormale gevoeligheid een belangrijke plaats innemen onder de symptomen van de patiënt. De patiënten zullen nogal heterogeen zijn en kunnen diverse pijnsymptomen vertonen. Dergelijke symptomen omvatten: 1) spontane pijn die dof, brandend of stekend kan zijn; 2) overdreven pijnresponsen op schadelijke prikkels (hyperalgesie) en 3) pijn geproduceerd door doorgaans onschadelijke prikkels (allodynie - Meyer *et al.*, 1994, Textbook of Pain, 13-44). Hoewel patienten die aan diverse vormen van acute en chronische pijn lijden vergelijkbare symptomen kunnen hebben, kunnen de fundamentele mechanismen verschillend zijn en derhalve verschillende behandelingsstrategieën vereisen. Pijn kan derhalve ook in een aantal verschillende subtypen worden onderverdeeld naar gelang van een verschillende pathofysiologie, waaronder nociceptieve, ontstekings- en neuropathische pijn.

Nociceptieve pijn wordt geïnduceerd door letsel aan weefsel, of door intense prikkels die mogelijk letsel kunnen veroorzaken. Afferente pijnzenuwen worden geactiveerd door transductie van prikkels door nociceptoren ter plaatse van het letsel en activeren neuronen in het ruggenmerg ter hoogte van waar deze eindigen. Dit wordt vervolgens via het ruggenmerg vervolgens overgebracht naar de hersenen waar de pijn wordt waargenomen (Meyer *et al.*, 1994, Textbook of Pain, 13-44). De activering van nociceptoren activeert twee typen van afferente zenuwvezels. Gemyelineerde A-deltavezels zorgen voor een snelle overdracht van het signaal en zijn verantwoordelijk voor scherpe en stekende pijnsensaties, terwijl niet-gemyelineerde C-vezels daarentegen in een lagere snelheid doorgeven en een doffe of zeurende pijn doorgeven. Matige tot ernstige acute nociceptieve pijn is een belangrijk kenmerk van pijn van trauma aan het centrale zenuwstelsel, verrekkingen/verstuikingen, brandwonden, myocardiaal infarct en

acute pancreatitis, pijn na operaties (pijn die volgt op alle typen chirurgische ingrepen), post-traumatische pijn, nierkoliek, pijn door kanker en pijn in de rug. Pijn door kanker kan chronische pijn zijn, zoals tumor-geïnduceerde pijn (bijvoorbeeld botpijn, hoofdpijn, aangezichtspijn of viscerale pijn), of pijn in verband met een therapie tegen kanker (bijvoorbeeld post-chemotherapiesyndroom, chronisch post-chirurgisch pijnsyndroom of post-bestralingssyndroom). Pijn door kanker kan ook optreden als reactie op chemotherapie, immunotherapie, hormonale therapie of radiotherapie. Pijn in de rug kan het gevolg zijn van een hernia van tussenwervelschijven of gebroken tussenwervelschijven of afwijkingen van lumbale gewrichtsvlakken, sacro-iliacale gewrichten, para-spinale spieren of het achterste longitudinale ligament. Pijn in de rug kan op natuurlijke wijze overgaan, maar bij sommige patiënten, waarbij deze meer dan 12 weken duurt, wordt het een chronische aandoening die bijzonder slopend kan zijn.

Neuropathische pijn wordt momemteel gedefinieerd als pijn geïnitieerd of veroorzaakt door een primaire laesie of dysfunctie in het zenuwstelsel. Schade aan de zenuwen kan worden veroorzaakt door trauma en ziekte en dus omvat de term "neuropathische pijn" vele stoornissen met diverse etiologieën. Deze omvatten, maar zijn niet beperkt tot, perifere neuropathie, diabetische neuropathie, post-herpetische neuralgie, trigeminale neuralgie, pijn in de rug, neuropathie door kanker, neuropathie door HIV, fantoompijn in ledematen, carpale-tunnelsyndroom, centrale pijn na een beroerte en pijn geassocieerd met chronisch alcoholisme, hyperthyroïdie, uremie, multipele sclerose, letsel van het ruggenmerg, ziekte van Parkinson, epilepsie en vitaminegebrek. Neuropathische pijn is een pathologische pijn, aangezien deze geen beschermende rol heeft. Vaak treedt deze op lang nadat de oorspronkelijke oorzaak is verdwenen, en vaak duurt deze jaren, hetgeen de kwaliteit van leven van de patiënt aanzienlijk vermindert (Woolf en Mannion, 1999, Lancet, 353, 1959-1964). De symptomen van neuropathische

pijn zijn moeilijk te behandelen, aangezien deze zelfs onder patiënten met dezelfde ziekte vaak heterogeen zijn (Woolf & Decosterd, 1999, Pain Supp., 6, S141-S147; Woolf en Mannion, 1999, Lancet, 353, 1959-1964). Deze symptomen omvatten spontane pijn, die continu kan zijn, en paroxistische of abnormaal opgewekte pijn, zoals hyperalgesie (toegenomen gevoeligheid voor schadelijke prikkels) en allodynie (gevoeligheid voor doorgaans onschadelijke prikkels).

Het ontstekingsproces is een ingewikkelde reeks van biochemische en cellulaire gebeurtenissen geactiveerd in respons op letsel aan weefsels of de aanwezigheid van vreemde stoffen, hetgeen leidt tot zwelling en pijn (Levine en Taiwo, 1994, Textbook of Pain, 45-56). Artritische pijn is de algemeenste pijn door ontsteking. Reumatische ziekte is één van de meest algemene chronische ontstekingsaandoeningen in de ontwikkelde landen en reumatoïde artritis is een algemene oorzaak van invaliditeit. De exacte etiologie van reumatoïde artritis is onbekend, maar de gangbare hypothesen suggereren dat zowel genetische als microbiologische factoren van belang kunnen zijn (Grennan & Jayson, 1994, Textbook of Pain, 397-407). Men heeft wel geschat dat bijna 16 miljoen Amerikanen lijden aan symptomatische osteoartritis (OA) of degeneratieve ziekte van de gewrichten. De meesten van hen zijn ouder dan 60 jaar en de verwachting is dat dit aantal zal toenemen tot 40 miljoen met het stijgen van de leeftijd van de bevolking, hetgeen dit tot een volksgezondheidsprobleem van enorme omvang maakt (Houge & Mersfelder, 2002, Ann. Pharmacother., 36, 679-686; McCarthy *et al.*, 1994, Textbook of Pain, 387-395). De meeste patiënten met osteoartritis vragen medische aandacht vanwege de daarmee gepaard gaande pijn. Artritis heeft een belangrijke invloed op de psychosociale en psychische functie en staat bekend als de voornaamste oorzaak van invaliditeit op latere leeftijd. Spondylitis ankylopoetica is eveneens een reumatische ziekte die artritis van het ruggenmerg en de sacro-iliacale ge-

wrichten veroorzaakt. Deze varieert van steeds terugkerende episoden van pijn in de rug die tijdens de gehele levensduur optreden tot een ernstige chronische ziekte die aangrijpt op het ruggenmerg, de perifere gewrichten en andere organen in het lichaam.

Een andere type ontstekingspijn is viscerale pijn die pijn geassocieerd met ontstekingsziekte van de darmen (IBD) omvat. Viscerale pijn is pijn geassocieerd met de viscera, die de organen van de buikholte omvatten. Deze organen omvatten de geslachtsorganen, de milt en een gedeelte van het spijsverteringsstelsel. Pijn geassocieerd met de viscera kan worden onderverdeeld in digestieve viscerale pijn en niet-digestieve viscerale pijn. Vaak geconstateerde gastro-intestinale (GI) stoornissen die pijn veroorzaken, omvatten functionele stoornis van de darmen (Functional Bowel Disorder; FBD) en ontstekingsziekte van de darmen (IBD). Deze GI-stoornissen omvatten een grote verscheidenheid van ziektetoestanden die momenteel slechts matig worden beheerst, waaronder, met betrekking tot FBD, gastro-oesophageale reflux, dyspepsie, prikkelbare-darmsyndroom (IBS) en functioneel pijnsyndroom van de buik (Functional Abdominal Pain Syndrome; FAPS), en, met betrekking tot IBD, de ziekte van Crohn, ileïtis en ulceratieve colitis, die alle regelmatig viscerale pijn produceren. Andere typen viscerale pijn omvatten pijn geassocieerd met dysmenorroe, cystitis en pancreatitis en bekkenpijn.

Er dient te worden opgemerkt dat sommige typen pijn verscheidene etiologieën hebben en dus kunnen worden geclassificeerd in meer dan één gebied, bijvoorbeeld pijn in de rug en pijn door kanker hebben zowel nociceptieve als neuropathische componenten.

Andere typen pijn omvatten:

- pijn die het resultaat is van spier-skeletstoornissen, waaronder myalgie, fibromyalgie, spondylitis, seronegatieve (niet-reumatoïde) artropathieën, niet-articulair

reumatisme, dystrofinopatie, glycogenolyse, polymyositis en pyomyositis,

- pijn van het hart en vasculaire pijn, waaronder pijn veroorzaakt door angina, myocardiaal infarct, mitrale stenose, pericarditis, verschijnsel van Raynaud, sclerodermа en ischemie van skeletspieren,
- hoofdpijn, zoals migraine (waaronder migraine met aura en migraine zonder aura), clusterhoofdpijn, hoofdpijn door spanningen, gemengde hoofdpijn en hoofdpijn die verband houdt met vasculaire stoornissen en
- orofaciale pijn, waaronder kiespijn, oorpijn, syndroom van brandend gevoel in de mond en temporomandibulaire myofasciale pijn.

De onderhavige uitvinding voorziet in een farmaceutisch preparaat dat een verbinding met de formule (I), of een farmaceutisch aanvaardbaar zout of solvaat daarvan, tezamen met een farmaceutisch aanvaardbare excipiënt omvat. Het preparaat is bij voorkeur bruikbaar voor de behandeling van de hierboven gedefinieerde ziektetoestanden.

De onderhavige uitvinding voorziet bovendien in een verbinding met de formule (I), of een farmaceutisch aanvaardbaar zout of solvaat daarvan, voor het gebruik als een geneesmiddel.

Bovendien voorziet de onderhavige uitvinding in een werkwijze voor de behandeling van de hierboven gedefinieerde ziektetoestanden bij een zoogdier, bij voorkeur een mens, die omvat het toedienen aan het zoogdier van een therapeutisch effectieve hoeveelheid van een verbinding met de formule (I), of een farmaceutisch aanvaardbaar zout of solvaat daarvan.

Bovendien omvat de onderhavige uitvinding nog het gebruik van een verbinding met de formule (I), of een farmaceutisch aanvaardbaar of solvaat daarvan, bij de vervaardiging van een geneesmiddel voor de behandeling van de hierboven gedefinieerde ziektetoestanden.

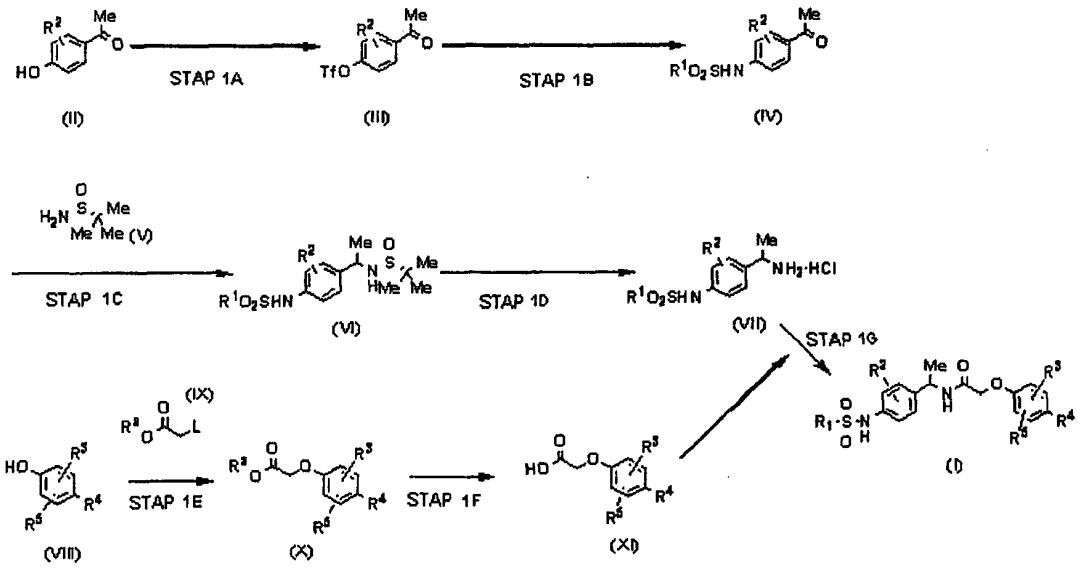
Bovendien voorziet de onderhavige uitvinding ook nog in een combinatie van een verbinding met de formule (I), of een farmaceutisch aanvaardbaar zout of solvaat daarvan, en een ander farmacologisch actief middel.

Algemene synthese

De verbindingen van de onderhavige uitvinding kunnen worden bereid met een verscheidenheid aan werkwijzen die bekend zijn voor de bereiding van verbindingen van dit type, bijvoorbeeld zoals in het volgende reactieschema wordt getoond. De term "beschermende groep" betekent zoals deze hierna wordt gebruikt een hydroxy of amino beschermende groep gekozen uit typische hydroxy of amino beschermende groepen beschreven in Protective Groups in Organic Synthesis, onder redactie van T.W. Greene *et al.* (John Wiley & Sons, 1999).

Het volgende reactieschema licht de bereiding toe van verbindingen met de formule (I).

Schema 1:



waarin L een geschikte vertrekkende groep is, zoals een halogeen, en bij voorkeur chloor, broom of jood is,

Me methyl is en

Tf triflaat is.

Stap 1A

In deze stap kan een verbinding met de formule (III) worden bereid door reactie van een verbinding met de formule (II) met een triflaatbron zoals trifluormethaansulfonzuuranhydride onder basische omstandigheden en in een inert oplosmiddel.

Een voorkeursbase wordt bij voorkeur gekozen, maar is niet beperkt tot, een alkali- of aardalkalimetaalhydroxide, -alkoxide, -carbonaat, -halogenide of -hydride, zoals natriumhydroxide, kaliumhydroxide, natriummethoxide, natriumethoxide, kalium-*tert*-butoxide, natriumcarbonaat, kaliumcarbonaat, kaliumfluoride, natriumhydride of kaliumhydride, of een amine zoals triethylamine, tributylamine, diisopropylethylamine, 2,6-lutidine, pyridine of dimethylaminopyridine.

Voorbeelden van geschikte oplosmiddelen omvatten: tetrahydrofuran, 1,4-dioxaan, *N*,*N*-dimethylformamide, acetonitril, alcoholen zoals methanol of ethanol, gehalogeneerde koolwaterstoffen zoals dichloormethaan, 1,2-dichloorethaan, chloroform of koolstoftetrachloride, en azijnzuur.

Reactietemperaturen liggen in het algemeen in het traject van -78°C tot 200°C, en bij voorkeur in het traject van 0°C tot kamertemperatuur. De reactieduren zijn in het algemeen 1 minuut tot 1 dag en bij voorkeur 1 uur tot 20 uur.

Stap 1B

In deze stap kan een verbinding met de formule (IV) worden bereid door een koppelingsreactie van een verbinding met de formule (III) met een alkylsulfonamide onder basische omstandigheden in aanwezigheid van een katalysator en Xantphos in een inert oplosmiddel, zoals wordt beschreven door Buchwald, S.L., in Journal of American Chemical Society, 2002, 124, 6043-4048.

Voorbeelden van geschikte katalysatoren omvatten tris(dibenzylideenaceton)dipalladium(0) en palladiumreagentia, zoals palladiumacetaat en palladiumdibenzylaceton.

Een voorkeursbase wordt bijvoorbeeld gekozen uit, maar is niet beperkt tot, een alkali- of aardalkalimetaalhydroxide, -alkoxide, -carbonaat, -halogenide of -hydride, zoals natriumhydroxide, kaliumhydroxide, natriummethoxide, natriumethoxide, natrium-*tert*-butoxide, natriumcarbonaat, kaliumcarbonaat, cesiumcarbonaat, kaliumfluoride, natriumhydride of kaliumhydride, of een amine zoals triethylamine, tributylamine, diisopropylethylamine, 2,6-lutidine, pyridine of dimethylaminopyridine.

Voorbeelden van geschikte oplosmiddelen omvatten: tetrahydrofuran, 1,4-dioxaan, *N*,*N*-dimethylformamide, acetonitril, alcoholen zoals methanol of ethanol, gehalogeneerde koolwaterstoffen zoals dichloormethaan, 1,2-dichloorethaan, chloroform of koolstoftetrachloride, en azijnzuur.

De reactietemperaturen liggen in het algemeen in het traject van 0°C tot 200°C en bij voorkeur in het traject van 100°C tot 140°C. De reactieduren zijn in het algemeen 1 minuut tot 1 dag en bij voorkeur 5 minuten tot 1 uur.

Stap 1C

In deze stap kan een verbinding met de formule (VI) worden bereid door dehydratatie en reductie van een verbinding met de formule (IV) met een sulfinamide met de formule (V) in aanwezigheid van een katalysator en een reductiemiddel in een ten opzichte van de reactie inert oplosmiddel.

De dehydratatiereactie wordt uitgevoerd in aanwezigheid van een dehydratatiemiddel. Voorbeelden van geschikte dehydratatiemiddelen omvatten: waterstofhalogenide, zoals waterstofchloride en waterstofbromide; sulfonzuren, zoals p-tolueensulfonzuur en benzeensulfonzuur; sulfonylchloride, zoals methaansulfonylchloride en p-tolueensulfonylchloride; (methoxycarbonylsulfamoyl)triethylammoniumhy-

droxide, p-tolueensulfonylisocyanaat en titaan(IV)ethoxide.

De reactietemperaturen liggen in het algemeen in het traject van 0°C tot 200°C en bij voorkeur in het traject van 50°C tot 100°C, De reactieduren zijn in het algemeen 1 minuut tot 48 uur en bij voorkeur 12 uur tot 24 uur.

De reductie kan worden uitgevoerd in aanwezigheid van een geschikt reductiemiddel in een inert oplosmiddel of zonder oplosmiddel. Een voorkeursreductiemiddel wordt bijvoorbeeld gekozen uit, maar is niet beperkt tot, $NaBH_4$, $LiAlH_4$, $LiBH_4$, Fe, Sn of Zn.

De reactietemperaturen liggen in het algemeen in het traject van -78°C tot kamertemperatuur en bij voorkeur in het traject van -70°C tot 0°C. De reactieduren zijn in het algemeen 1 minuut tot 1 dag en bij voorkeur 3 uur tot 6 uur.

Voorbeelden van geschikte oplosmiddelen omvatten: tetrahydrofuran, 1,4-dioxaan, *N,N*-dimethylformamide, acetonitril; alcoholen zoals methanol of ethanol; gehalogeneerde koolwaterstoffen zoals dichloormethaan, 1,2-dichloorethaan, chloroform of koolstoftetrachloride, en azijnzuur.

Stap 1D

In deze stap kan een verbinding met de formule (VII) worden bereid door ontscherming en zoutvorming van een verbinding met de formule (VI) onder zure omstandigheden in een inert oplosmiddel, met gebruik van de werkwijze beschreven door D. Cogan *et al.* in Journal of American Chemical Society, 1999, 121, 268-269.

De reactietemperaturen liggen in het algemeen in het traject van 0°C tot 200°C en bij voorkeur zijn deze kamertemperatuur. De reactieduren zijn in het algemeen 1 minuut tot 24 uur en bij voorkeur 5 minuten tot 1 uur.

Voorbeelden van geschikte oplosmiddelen omvatten: tetrahydrofuran, 1,4-dioxaan, *N,N*-dimethylformamide, acetonitril; alcoholen zoals methanol of ethanol, gehalogeneer-

de koolwaterstoffen zoals dichloormethaan, 1,2-dichloorethaan, chloroform of koolstoftetrachloride, en azijnzuur.

Stap 1E

In deze stap kan een verbinding met de formule (X) worden bereid met de substitutiereactie van een verbinding met de formule (VIII) met een verbinding met de formule (IX) in aanwezigheid van een base in een inert oplosmiddel. Voorbeelden van geschikte oplosmiddelen omvatten: tetrahydrofuran, *N,N*-dimethylformamide, dimethylsulfoxide, diethylether, tolueen, ethyleenglycoldimethylether of 1,4-dioxaan. Voorkeursoplosmiddelen zijn tetrahydrofuran, *N,N*-dimethylformamide, dimethylsulfoxide en 1,4-dioxaan. Voorbeelden van geschikte basen omvatten: alkyllithiumverbindingen, zoals *n*-butyllithium, *sec*-butyllithium of *tert*-butyllithium; aryllithiumverbindingen, zoals fenyllithium of lithiumnaftalide; metaalamiden zoals natriumamide of lithiumdiisopropylamide; alkalimetaalhydriden, zoals kaliumhydride of natriumhydride, en een alkalimetaalcarbonaat, zoals kaliumcarbonaat of natriumcarbonaat. Voorkeursbasen zijn *n*-butyllithium, *tert*-butyllithium, kaliumhydride en kaliumcarbonaat. Deze reactie kan worden uitgevoerd bij een temperatuur in het traject van -50°C tot 200°C en doorgaans van 0°C tot 80°C, gedurende 5 minuten tot 72 uur en doorgaans van 30 minuten tot 24 uur.

Stap 1F

In deze stap kan een zuurverbinding met de formule (XI) worden bereid door hydrolyse van de esterverbinding met de formule (X) in een geschikt oplosmiddel.

De hydrolyse kan worden uitgevoerd met gebruikelijke procedures. In een typische procedure wordt de hydrolyse uitgevoerd onder basische omstandigheden, bijvoorbeeld in aanwezigheid van natriumhydroxide, kaliumhydroxide of lithiumhydroxide. Geschikte oplosmiddelen omvatten bijvoorbeeld alcoholen zoals methanol, ethanol, propanol, butanol, 2-methoxyethanol en ethyleenglycol; ethers zoals te-

trahydrofuran (THF), 1,2-dimethoxyethaan (DME) en 1,4-dioxaan; amiden zoals *N,N*-dimethylformamide (DMF) en hexamethylfosfortriamide, en sulfoxiden zoals dimethylsulfoxide (DMSO). Voorkeursoplosmiddelen zijn methanol, ethanol, propanol, tetrahydrofuran (THF), dimethoxyethaan (DME), 1,4-dioxaan, *N,N*-dimethylformamide (DMF), en dimethylsulfoxide (DMSO). Deze reactie kan worden uitgevoerd bij een temperatuur in het traject van -20°C tot 100°C en doorgaans van 20°C tot 65°C, gedurende 30 minuten tot 24 uur en doorgaans van 60 minuten tot 10 uur.

De hydrolyse kan ook worden uitgevoerd onder zure omstandigheden, bijvoorbeeld in aanwezigheid van waterstofhalogeniden, zoals waterstofchloride en waterstofbromide; sulfonzuren, zoals p-tolueensulfonzuur en benzeensulfonzuur, pyridinium-p-tolueensulfonaat, of carbonzuren, zoals azijnzuur en trifluorazijnzuur. Geschikte oplosmiddelen omvatten bijvoorbeeld alcoholen zoals methanol, ethanol, propanol, butanol, 2-methoxyethanol en ethyleenglycol; ethers zoals tetrahydrofuran (THF), 1,2-dimethoxyethaan (DME) en 1,4-dioxaan; amiden zoals *N,N*-dimethylformamide (DMF) en hexamethylfosfortriamide, en sulfoxiden zoals dimethylsulfoxide (DMSO). Voorkeursoplosmiddelen zijn methanol, ethanol, propanol, tetrahydrofuran (THF), dimethoxyethaan (DME), 1,4-dioxaan, *N,N*-dimethylformamide (DMF) en dimethylsulfoxide (DMSO). Deze reactie kan worden uitgevoerd bij een temperatuur in het traject van -20°C tot 100°C en doorgaans van 20°C tot 65°C, gedurende 30 minuten tot 24 uur en doorgaans van 60 minuten tot 10 uur.

Stap 1G

In deze stap kan een amideverbinding met de formule (I) worden bereid met de koppelingsreactie van een amineverbinding met de formule (VII) met de zuurverbinding met de formule (XI) in aanwezigheid of afwezigheid van een koppelingsreagens in een inert oplosmiddel. Deze reactie kan worden uitgevoerd door middel van geactiveerde carbonzuurderivaten.

De reactie wordt doorgaans en bij voorkeur gerealiseerd in aanwezigheid van een oplosmiddel. Er is geen bijzondere beperking aan de aard van het oplosmiddel dat zal worden gebruikt, mits het geen schadelijk effect heeft op de reactie of op de desbetreffende reagentia en het de reagentia kan oplossen, ten minste in enige mate. Voorbeelden van geschikte oplosmiddelen omvatten: aceton, nitromethaan, DMF, sulfolaan, DMSO, *N*-methylpyrrolidon (NMP), 2-butanon, acetonitril, gehalogeneerde koolwaterstoffen zoals dichloormethaan, dichloorethaan, chloroform, en ethers zoals tetrahydrofuran en dioxaan.

De reactie kan plaatsvinden over een breed temperatuurtraject, en de precieze reactietemperatuur is niet van kritisch belang voor de onderhavige uitvinding. De reactietemperatuur die de voorkeur heeft, zal afhankelijk zijn van dergelijke factoren als de aard van het oplosmiddel en het gebruikte uitgangsmateriaal of reagens. In het algemeen is het echter gemakkelijk om de reactie uit te voeren bij een temperatuur van -20°C tot 100°C en liever van ongeveer 0°C tot 60°C. De tijdsduur die voor de reactie benodigd is, kan eveneens over een breed traject variëren en is afhankelijk van vele factoren, met name de reactietemperatuur en de aard van de reagentia en het gebruikte oplosmiddel. Mits de reactie wordt uitgevoerd onder de voorkeursomstandigheden die hierboven worden geschetst, zal een periode van 5 minuten tot 1 week en liever van 30 minuten tot 24 uur doorgaans echter toereikend zijn.

Geschikte koppelingsreagentia zijn die typisch gebruikt bij de peptidesynthese, waaronder, bijvoorbeeld, diimiden (bijvoorbeeld dicyclohexylcarbodiimide (DCC) en 1-ethyl-3-(3'-dimethylaminopropyl)carbodiimide-hydrochloride (EDC)), 2-ethoxy-*N*-ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinoline, 2-broom-1-ethylpyridiniumtetrafluorboraat (BEP), 2-chloor-1,3-dimethylimidazoliniumchloride (CDI), benzotriazool-1-yloxytris(dimethylamino)fosfoniumhexafluorfosfaat (BOP), diethylazodicarboxylaattrifenylfosfine, diethylcyaanfosfaat, diethylfosforylazide, 2-chloor-1-methylpyri-

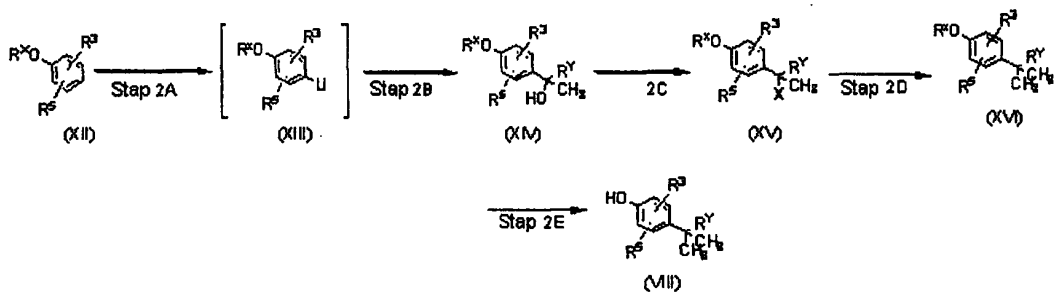
diniumjodide, *N,N'*-carbonyldiimidazool, benzotriazool-1-yldiethylfosfaat, ethylchloorformiaat of isobutylchloorformiaat.

De reactie kan worden uitgevoerd in aanwezigheid van een base, zoals 1-hydroxybenzotriazool (HOBt), *N,N*-diisopropylethylamine, *N*-methylmorfoline en triethylamine. De amideverbinding met de formule (I) kan worden gevormd via een acylhalogenide, dat kan worden verkregen door reactie met halogeneringsmiddelen zoals oxalylchloride, fosforoxychloride en thionylchloride. Het ontstane acylhalogenide kan worden omgezet in de overeenkomstige amideverbinding door te behandelen met een amineverbinding met de formule (VII) onder omstandigheden die overeenkomen met die welke in deze stap worden beschreven.

De uitgangsmaterialen in de voornoemde algemene synthese zijn commercieel verkrijgbaar of kunnen worden verkregen door middel van gebruikelijke werkwijzen die voor de deskundigen bekend zijn. Extra informatie voor het synthetiseren van bepaalde fenolen met de formule (VIII) wordt echter beschreven in het onderstaande Schema 2.

Schema 2:

Wanneer R^4 *tert*-butyl of 2,2,2-trifluor-1,1-dimethylethyl is, kunnen de verbindingen met de formule (VIII) worden bereid als toegelicht in schema 2.



waarin R^x een geschikte beschermende groep is, zoals $(C_1\text{-}C_6)$alkyl, benzyl, benzoyl of $(C_1\text{-}C_6)$alkylsilyl, en bij voorkeur is deze methyl,

R^y methyl of trifluormethyl is en

X halogeen is.

Stap 2A

In deze stap kan een organolithiumverbinding met de formule (XIII) worden bereid door een gerichte metalleringsreactie van een verbinding met de formule (XII) met een alkyllithiumverbinding. Deze reactie kan worden uitgevoerd in aanwezigheid van een organometaalreagens of een metaal. Voorbeelden van geschikte organometaalreagentia omvatten: alkyllithiumverbindingen zoals *n*-butyllithium, *sec*-butyllithium en *tert*-butyllithium, en aryllithiumverbindingen zoals fenyllithium en lithiumnaftalide. Voorkeursoplosmiddelen die ten opzichte van de reactie inert zijn, omvatten bijvoorbeeld koolwaterstoffen zoals hexaan; ethers zoals diethylether, diisopropylether, dimethoxyethaan (DME), tetrahydrofuran (THF) en 1,4-dioxaan, of mengsels daarvan. De reactietemperaturen zijn in het algemeen in het traject van -100°C tot 50°C en bij voorkeur in het traject van -100°C tot kamertemperatuur. De reactieduren zijn in het algemeen 1 minuut tot een dag en bij voorkeur 1 uur tot 10 uur.

Stap 2B

In deze stap kan een verbinding met de formule (XIV) worden bereid door de nucleofiele additie van een verbinding met de formule (XIII) met een keton. Voorbeelden van geschikte ketonreagentia omvatten aceton en 1,1,1-trifluoraceton. Inerte voorkeursoplosmiddelen omvatten bijvoorbeeld koolwaterstoffen zoals hexaan; ethers zoals diethylether, diisopropylether, dimethoxyethaan (DME), tetrahydrofuran (THF) en dioxaan, of mengsels daarvan. De reactietemperaturen zijn in het algemeen in het traject van -100°C tot 50°C en bij voorkeur in het traject van -100°C tot kamertemperatuur. De reactieduren zijn in het algemeen 1 minuut tot één dag en bij voorkeur 1 uur tot 10 uur.

Stap 2C

In deze stap kan een verbinding met de formule (XV) worden bereid door de halogeneringsreactie van een verbinding met de formule (XIV) met een halogeneringsmiddel. De halogenering kan worden uitgevoerd in aanwezigheid van een geschikt halogeneringsmiddel in een inert oplosmiddel of zonder een oplosmiddel. Inerte voorkeursoplosmiddelen omvatten bijvoorbeeld koolwaterstoffen zoals benzeen, tolueen, xyleen; gehalogeneerde koolwaterstoffen zoals dichloormethaan, 1,2-dichloorethaan, chloroform of koolstoftetrachloride, of mengsels daarvan. Een voorkeurshalogeneringsmiddel wordt gekozen uit, maar is niet beperkt tot, de volgende voorbeelden: thionylchloride, oxalylchloride, fosforoxychloride, titaanchloride, fosforpentachloride, en eventueel wordt dit gecombineerd met het katalytische pyridine. Bij voorkeur is het halogeneringsmiddel de combinatie van thionylchloride en het katalytische pyridine. De reactietemperaturen liggen in het algemeen in het traject van -100°C tot 200°C en bij voorkeur in het traject van -40°C tot 100°C. De reactieduren zijn in het algemeen 1 minuut tot een dag en bij voorkeur 1 uur tot 10 uur.

Stap 2D

In deze stap kan een verbinding met de formule (XVI) worden bereid door een substitutiereactie van een verbinding met de formule (XV) met een alkyleringsmiddel. De alkylering kan worden uitgevoerd in aanwezigheid van een geschikt alkyleringsmiddel in een inert oplosmiddel. Inerte voorkeursoplosmiddelen omvatten bijvoorbeeld gehalogeneerde koolwaterstoffen zoals dichloormethaan, 1,2-dichloorethaan, chloroform of koolstoftetrachloride; ethers zoals diethylether, diisopropylether, DME, THF en 1,4-dioxaan; koolwaterstoffen zoals *n*-hexaan, cyclohexaan, benzeen, tolueen, of mengsels daarvan. Een voorkeursalkyleringsmiddel wordt gekozen uit, maar is niet beperkt tot de volgende voorbeelden: een trialkylmetaalverbinding, zoals trimethylaluminium, triethylaluminium; een alkylmagnesium-

halogenide, zoals methylmagnesiumbromide, in aanwezigheid van een bijgevoegde verbinding zoals lithiumbromide; een dialkylzinkhalogenide, zoals dimethylzinkdichloride dat wordt bereid uit dimethylzink en titaanchloride, en bij voorkeur is dit trimethylaluminium. De reactietemperaturen liggen in het algemeen in het traject van -100°C tot 200°C en bij voorkeur in het traject van -40°C tot 100°C. De reactieduren zijn in het algemeen 1 minuut tot één dag en bij voorkeur 1 uur tot 10 uur.

Stap 2E

In deze stap kan een verbinding met de formule (VIII) worden bereid door ontscherming van een verbinding met de formule (XVI) met een ontschermingsmiddel in een inert oplosmiddel. Voorbeelden van geschikte ontschermingsmiddelen omvatten: een boorhalogenide, zoals boortribromide, boortrichloride, en een waterstofhalogenide, zoals waterstofbromide. Inerte voorkeursoplosmiddelen omvatten bijvoorbeeld gehalogeneerde koolwaterstoffen zoals dichloormethaan, 1,2-dichloorethaan, chloroform of koolstoftetrachloride, en azijnzuur. De reactietemperaturen liggen in het algemeen in het traject van -100°C tot 200°C en bij voorkeur in het traject van -80°C tot 80°C. De reactieduren zijn in het algemeen 1 minuut tot één dag en bij voorkeur 1 uur tot 10 uur.

De verbindingen met de formule (I) en de tussenproducten van de bovengenoemde bereidingswerkwijzen kunnen worden geïsoleerd en gezuiverd met gebruikelijke procedures, zoals herkristallisatie of chromatografische zuivering.

De diverse algemene werkwijzen die hierboven worden beschreven, kunnen bruikbaar zijn voor het inbrengen van gewenste groepen in elk stadium van de stapsgewijze vorming van de vereiste verbinding. Het zal duidelijk zijn dat deze algemene werkwijzen in dergelijke uit verscheidene stadia bestaande werkwijzen op verschillende manieren kunnen worden gecombineerd. De volgreeks van reacties in

de uit verscheidene stadia bestaande werkwijzen dient uiteraard zo te worden gekozen dat de gebruikte reactieomstandigheden de groepen in het molecuul die in het eindproduct worden gewenst, niet beïnvloeden.

Werkwijze voor het beoordelen van biologische activiteiten:

Humane VR1-antagonistassay

VR1-antagonistische activiteit op kan worden bepaald met Ca^{2+}-beeldassay met gebruik van cellen die humane VR1 sterk tot expressie brengen. De cellen die humane VR1-receptoren tot sterke expressie brengen zijn met verschillende gebruikelijke werkwijzen verkrijgbaar. Een standaardwerkwijze is het kloneren uit humane Dorsal Root Ganglion (DRG) of de nier volgens de werkwijzen zoals beschreven in het tijdschriftartikel in Nature, 389, blz. 816-824, 1997. Als alternatief zijn humane keratinocyten die VR1-receptoren sterk tot expressie brengen bekend en gepubliceerd in een tijdschriftartikel (Biochemical and Biophysical Research Communications, 291, blz. 124-129, 2002). In dit artikel vertoonden keratinocyten een VR1-geïnduceerde intracellulaire Ca^{2+}-toename door de toevoeging van capsaïcine. Bovendien is ook een werkwijze beschikbaar voor de opwaartse regulering van het humane VR1-gen, dat doorgaans een rustend gen is, of geen detecteerbare hoeveelheden van VR1-receptoren produceert, zodat de geschikte cellen kunnen worden verkregen. Een dergelijke werkwijze voor genetische modificatie werd in detail beschreven; Nat. Biotechnol., 19, blz. 440-445, 2001.

De cellen die humane VR1-receptoren tot expressie brengen, werden in een kweekkolf van 37°C in een omgeving met 5% CO_2 gehouden, tot deze in de assay werden gebruikt. De beeld-assay voor intracellulair Ca^{2+} voor de bepaling van de antagonistische activiteiten op VR1 werd gedaan volgens de volgende procedures.

Het kweekmedium werd uit de kolf verwijderd en een fluorescerende calciumindicator (fura-2/AM) werd aan de

kolf toegevoegd tot een concentratie van 5 µM in het medium. De kolf werd in een CO_2-incubator geplaatst en gedurende 1 uur geïncubeerd. Vervolgens werden de cellen die de humane VR1-receptoren tot expressie brengen, uit de kolf gehaald door te wassen met fosfaatbuffer-zoutoplossing PBS (-) en werd opnieuw gesuspendeerd in assay-buffer. Een volume van 80 µl celsuspensie ($3,75x10^5$ cellen/ml) werd aan de assay-plaat toegevoegd en de cellen werden met behulp van een centrifuge (950 rpm, 20°C, 3 minuten) tot bezinken gebracht.

Stimulerings-assay met capsaïcine:

De door capsaïcine geïnduceerde veranderingen in de intracellulaire calciumconcentratie werden gevolgd met gebruik van een fluorimetrisch beeldsysteem (FDSS 6000; Hamamatsu Photonics, Japan). De celsuspensie in Krebs-Ringer HEPES (KRH)-buffer (115 mM NaCl, 5,4 mM KCl, 1 mM $MgSO_4$, 1,8 mM $CaCl_2$, 11 mM D-glucose, 25 mM HEPES, 0,96 mM Na_2HPO_4 met pH=7,3) werd gedurende 15 minuten bij kamertemperatuur in het donker voorgeïncubeerd met uiteenlopende concentraties van de proefverbindingen of KRH-buffer (controle met buffer). Vervolgens werd de capsaïcineoplossing, die in het assay-mengsel een concentratie van 300 nM gaf, automatisch aan de assay-plaat toegevoegd door de FDSS 6000.

Stimulerings-assay met zuur

De door zuur geïnduceerde veranderingen in de intracellulaire calciumconcentratie werden gevolgd met gebruik van een fluorimetrisch beeldsysteem (FDSS 6000; Hamamatsu Photonics, Japan). De celsuspensie in rustbuffer (HBSS, aangevuld met 10 mM HEPES met pH=7,4) werd gedurende 15 minuten bij kamertemperatuur in het donker voorgeïncubeerd met uiteenlopende concentraties van de proefverbindingen of rustbuffer (controle met buffer). Aan de cellen werd de stimuleringsoplossing (HBSS, aangevuld met MES, pH van uiteindelijke assay-buffer=5,8) automatisch toegevoegd door de FDSS 6000. De IC_{50}-waarden van de VR1-antagonisten

werden bepaald uit de helft van de stijging die de monsters met buffer als controle na stimulering met zuur vertoonden.

Bepaling van antagonistische activiteit

Met het volgen van de veranderingen in de fluorescentiesignalen (λ_{ex}=340 nm/380 nm, λ_{em}=510-520 nm) werd begonnen 1 minuut voordat de capsaïneoplossing of de zure buffer werden toegevoegd en dit werd gedurende 5 minuten volgehouden. De IC_{50}-waarden van de VR1-antagonisten werden bepaald uit de helft van de stijging die de monsters met buffer als controle na stimulering met agonist vertoonden.

Model van chronische-constrictieletsel (Chronic Constriction Injury; CCI-model):

Mannelijke Sprague-Dawleyratten (270-300 g; B.W., Charles River, Tsukuba, Japan) werden gebruikt. De operatie die chronisch constrictieletsel (CCI) veroorzaakte, werd uitgevoerd volgens de werkwijze beschreven door Bennett en Xie (Bennett, G.J. en Xie, Y.K., Pain, 33:87-107, 1988). In het kort: de dieren werden geanesthetiseerd met natriumpentobarbital (64,8 mg/kg, i.p.) en de linker gemeenschappelijke heupzenuw werd blootgelegd in het midden van de dij door stompe dissectie door de biceps femoris. Proximaal ten opzichte van de splitsing in drieën van de heupzenuw werd deze ontdaan van omliggend weefsel en werden 4 ligatuurdraden (4-0 zijde) los daar omheen gebonden met een tussenruimte van ongeveer 1 mm. Er werd een schijnoperatie uitgevoerd die dezelfde was als de CCI-operatie, behalve voor het afbinden van de heupzenuw. Twee weken na de operatie werd de mechanische allodynie beoordeeld door middel van Von Frey-haren (VFH's) op het zooloppervlak van de achterpoot. De minste kracht van de VFH die nodig was om een respons uit te lokken, werd geregistreerd als de drempelwaarde voor het terugtrekken van de poot (Paw Withdrawal Threshold; PWT). De VFH-proef werd 0,5, 1 en 2 uur na de dosering uitgevoerd. De experimente-

le gegevens werden geanalyseerd met gebruik van de Kruskal-Wallis-proef en vervolgens de Dunn-proef voor meervoudige vergelijkingen, of de man-Whitney-U-proef voor een gepaarde vergelijking.

Permeabiliteit van Caco-2

Caco-2-permeabiliteit werd gemeten volgens de werkwijze beschreven door Shiyin Yee, in *Pharmaceutical Research*, 763 (1997).

Caco-2-cellen werden gedurende 14 dagen gekweekt op filterdragers (Falcon HTS multiwell insert system). Kweekmedium werd uit zowel de apicale als basolaterale compartimenten verwijderd en de monolagen werden gedurende 0,75 uur bij 37°C voorgeïncubeerd met 0,3 ml voorverwarmde apicale buffer en 1,0 ml basolaterale buffer, in een schudder met een waterbad die werkte bij een snelheid van 50 cycli/min. De apicale buffer bestond uit Hanks Balanced Salt Solution, 25 mM D-glucosemonohydraat, 20 mM MES Biological Buffer, 1,25 mM $CaCl_2$ en 0,5 mM $MgCl_2$ (pH=6,5). De basolaterale buffer bestond uit Hanks Balanced Salt Solution, 25 mM D-glucosemonohydraat, 20 mM HEPES Biological Buffer, 1,25 mM $CaCl_2$ en 0,5 mM $MgCl_2$ (pH=7,4). Aan het eind van de voorincubatie werd het medium verwijderd en de oplossing van de proefverbinding (10 µM) in buffer aan het apicale compartiment toegevoegd. De houders werden overgebracht in putjes die verse basolaterale buffer bevatten en er werd gedurende 1 uur geïncubeerd. De concentratie van het geneesmiddel in de buffer werd gemeten door middel van LC/MS-analyse.

De stroomsnelheid (F, massa/tijd) werd berekend uit de helling van de cumulatieve verschijning van substraat op de ontvangende zijde en de kennelijke permeabiliteitscoëfficiënt (P_{app}) werd berekend uit de volgende vergelijking:

$$P_{app}\ (cm/sec) = (F*VD)/(SA*MD)$$

waarin SA het specifiek oppervlak voor transport (0,3 cm^2) is, VD het donorvolume (0,3 ml) is, MD de totale hoeveelheid geneesmiddel aan de donorzijde op tijdstip t=0 is. Alle gegevens vertegenwoordigen het gemiddelde van twee proeven. De integriteit van de monolaag werd bepaald door Lucifer Yellow-transport.

Humane binding van dofetilide

Een celpasta van HEK-293-cellen die het HERG-product tot expressie brengen, kan bij 25°C worden gesuspendeerd in een tienvoudig volume van 50 mM Tris-buffer met pH=7,5 met 2 M HCl die 1 mM $MgCl_2$ en 10 mM KCl bevat. De cellen werden gehomogeniseerd met gebruik van een Polytron-homogenisator (gedurende 20 seconden bij maximaal vermogen) en gedurende 20 minuten bij 4°C gecentrifugeerd op 48.000xg. De pellet werd weer gesuspendeerd, gehomogeniseerd en nog één maal op dezelfde wijze gecentrifugeerd. De ontstane supernatant werd verwijderd en de uiteindelijke pellet werd opnieuw gesuspendeerd (tienvoudig volume van 50 mM Tris-buffer) en gedurende 20 seconden gehomogeniseerd bij maximaal vermogen. Het membraanhomogenaat werd onderverdeeld in kleine volumina en tot gebruik bewaard bij -80°C. Een volume werd gebruikt voor een bepaling van de eiwitconcentratie; hiervoor werden een Protein Assay Rapid Kit en een ARVO SX-plaatlezer (Wallac) gebruikt. Alle bewerkingen werden in ijs gedaan, en ook de voorraadoplossing en de uitrusting werden in ijs bewaard. Voor de verzadigingsassays werden de experimenten uitgevoerd in een totaal volume van 200 µl. De verzadiging werd bepaald door incuberen van 20 µl [^{3}H]-dofetilide en 160 µl membraanhomogenaten (20-30 µg eiwit per putje); dit geschiedde gedurende 60 minuten bij kamertemperatuur in afwezigheid of aanwezigheid van 10 µM dofetilide in de eindconcentraties (20 µl) voor respectievelijk de totale of niet-specifieke binding. Alle incubaties werden beëindigd door snelle filtratie onder vacuüm door met polyetherimide (PEI) geweekte glasvezelfilters. Hiervoor werd een Skatron-celoogster ge-

bruikt, en er werd twee maal gewassen met 50 mM Tris-buffer (pH=7,5 bij 25°C). De aan de receptor gebonden radioactiviteit werd gemeten door vloeistofscintillatie, waarbij werd geteld met een Packard LS-teller.

Voor de competitie-assay werden van de verbindingen in polypropyleenplaten met 96 putjes vier verdunningen op half-logaritmische schaal gemaakt. Alle verdunningen werden eerst uitgevoerd in DMSO en vervolgens werden deze overgebracht in 50 mM Tris-buffer (pH=7,5 bij 25°C) die 1 mM $MgCl_2$ en 10 mM KCl bevatte, zodat de uiteindelijke concentratie in DMSO gelijk werd aan 1%. De verbindingen werden in drievoud verdeeld in assayplaten (4 ml). In 6 putjes werden de proeven voor de totale hoeveelheid binding en de niet-specifieke binding respectievelijk gedaan met vehiculum en 10 µM dofetilide in de eindconcentratie. Het radioligand werd bereid als 5,6 maal de eindconcentratie en deze oplossing werd toegevoegd aan elk putje (36 µl). De assay werd ingezet door de toevoeging van YSi poly-L-lysine Scintillation Proximity Assay (SPA)-parels (50 µl, 1 mg/putje) en membranen (110 µl, 20 µg/putje). De incubatie werd gedurende 60 minuten voortgezet bij kamertemperatuur. De platen werden gedurende nog 3 uur geïncubeerd bij kamertemperatuur, zodat de parels konden bezinken. De aan de receptor gebonden radioactiviteit werd gemeten door telling met een platenteller (MicroBeta van Wallac).

I_{HERG}-Assay

HEK 293-cellen die het HERG-kaliumkanaal tot stabiele expressie brachten, werden voor de elektrofysiologische studie gebruikt. De methodologie voor een stabiele transfectie van dit kanaal in HEK-cellen kan elders worden gevonden (Z. Zhou *et al.*, 1998, Biophysical Journal, 74, blz. 230-241). Voorafgaand aan de dag van het experiment werden de cellen uit de kweekkolven geoogst en als lagen op dekglaasjes aangebracht in een standaardmedium (Minimum Essential Medium; MEM) met 10% foetaal kalfsserum (Fetal

Calf Serum, FCS). De uitgeplaatte cellen werden bewaard in een incubator van 37°C die in een atmosfeer van 95% O_2/5% CO_2 werd gehouden. De cellen werden 15-28 uur na het oogsten bestudeerd.

De HERG-stromen werden in de gehele cel bestudeerd met gebruik van standaard "patch clamp"-technieken. Tijdens het experiment werden de cellen gesuperfundeerd met een uitwendige standaardoplossing van de volgende samenstelling (mM): NaCl, 130; KCl, 4; $CaCl_2$, 2; $MgCl_2$, 1; glucose, 10; HEPES, 5; de pH werd op 7,4 gebracht met NaOH. De registratie van de gehele cel werd gedaan met behulp van een "patch clamp"-versterker en "patch"-pipetten die een weerstand van 1-3 M Ohm hadden wanneer deze werden gevuld met een inwendige standaardoplossing van de volgende samenstelling (mM): KCl, 130; MgATP, 5; $MgCl_2$, 1,0; HEPES, 10; EGTA 5, pH=7,2 met KOH. Alleen cellen met toegangsweerstanden beneden 15 MΩ en sluitweerstanden >1GΩ werden voor verdere experimenten geaccepteerd. Compensatie voor de reeksweerstand werd toegepast tot een maximum van 80%. Er werd geen aftrek voor lekken gemaakt. De aanvaardbare toegangsweerstand was echter afhankelijk van de grootte van de geregistreerde stromen en het niveau van de compensatie voor de reeksweerstand die veilig kan worden gebruikt. Na het verkrijgen van de configuratie van de gehele cel en voldoende tijd voor celdialyse met een oplossing in een pipet (>5 min) werd een voltage volgens een standaardprotocol over de cel aangelegd, hetgeen stroming door het membraan tot gevolg had. Het spanningsprotocol was als volgt. Het membraan werd gedepolariseerd met een houdpotentiaal van -80 mV tot 40 mV gedurende 1.000 ms. Deze werd gevolgd door een dalende spanning (snelheid 0,5 mV, ms^{-1}) dat terugliep tot de houdpotentiaal. Het voltageprotocol werd gedurende het experiment continu iedere 4 seconden op een cel toegepast (0,25 Hz). De amplitude van de piekstroom die werd opgeroepen rond -40 mV tijdens de helling werd gemeten. Zodra stabiele stromen werden verkregen in de uitwendige oplossing werd door middel van een peri-

staltische pomp gedurende 10-20 min vehiculum (0,5% DMSO in uitwendige standaardoplossing) toegevoegd. Mits er minimale veranderingen in de amplitude van de opgeroepen stroom in de controleproef met vehiculum was, werd de proefverbinding in een concentratie van 0,3, 1, 3 en 10 µM gedurende een periode van 10 minuten in contact gebracht. De periode van 10 minuten omvatte de tijd waarin de toegevoerde oplossing uit het reservoir met de oplossing door de leiding via de pomp naar de registratiekamer liep. De tijdsduur waarin de cellen waren blootgesteld aan de oplossing van de verbinding bedroeg meer dan 5 minuten nadat de concentratie van het geneesmiddel in de ruimte de beoogde concentratie bereikte. Er was vervolgens een uitwasperiode van 10-20 minuten om de reversibiliteit vast te stellen. Ten slotte werden de cellen blootgesteld aan een hoge dosis dofetilide (5 µM), een specifieke IKr-blokker, om de ongevoelige endogene stroom te kunnen vaststellen.

Alle experimenten werden uitgevoerd bij kamertemperatuur (23±1°C). De opgeroepen stromen door het membraan werden on-line geregistreerd met een computer, gefiltreerd bij 500-1 KHz (Bessel -3dB) en tot monsters van 1-2 KHz verwerkt met de "patch clamp"-versterker en specifieke software voor het analyseren van de gegevens. De amplitude van de piekstroom, die optrad bij ongeveer -40 mV, werd off-line met de computer gemeten.

Het rekenkundig gemiddelde van de tien waarden van de amplitude werd berekend onder de omstandigheden van de controleproef met vehiculum en in aanwezigheid van geneesmiddel. Het percentage daling van I_N in elk experiment werd verkregen door de genormaliseerde stroomwaarde, waarvoor de volgende formule werd gebruikt:

$$I_N=(1-I_D/I_C)x100,$$

waarin I_D de gemiddelde stroomwaarde in aanwezigheid van geneesmiddel is en I_C de gemiddelde stroomwaarde onder de omstandigheden van de controleproef is. Voor elke concen-

tratie van het geneesmiddel of in de controleproef bij gelijke tijdsduur werden aparte experimenten uitgevoerd, en het rekenkundig gemiddelde in elk experiment wordt gedefinieerd als de uitkomst van de studie.

Geneesmiddel-geneesmiddelinteractie-assay

Deze werkwijze houdt in wezen het bepalen van het percentage remming van de productvorming uit een fluorescentiesonde bij 3 µM voor elke verbinding.

In meer specifieke zin werd de assay als volgt uitgevoerd. De verbindingen werden gedurende 5 minuten voorgeincubeerd met recombinant CYPs, 100 mM kaliumfosfaatbuffer en een fluorescerende stof als substraat. De reactie werd gestart door toevoegen van een verwarmd NADPH-generatiesysteem, dat bestond uit 0,5 mM NADP (verwachting voor 2D6: 0,03 mM), 10 mM $MgCl_2$, 6,2 mM DL-isocitroenzuur en 0,5 U/ml isocitroenzuurdehydrogenase (ICD). De assayplaat werd geïncubeerd bij 37°C (verwachting voor 1A2 en 3A4 bij 30°C) en gedurende 20 tot 30 minuten werd iedere minuut de fluorescentie afgelezen.

De berekeningen met de gegevens werden als volgt uitgevoerd:

1. De helling (tijdsduur versus fluorescentie-eenheden) werd berekend in het lineaire gebied.
2. Het percentage remming van de verbindingen werd berekend door middel van de vergelijking $\{(V_o-V_i)/V_o\}x100=\%$ remming

waarin:

v_0=snelheid van controlereactie (geen remmer)

v_i=snelheid van reactie in aanwezigheid van verbindingen.

Tabel 1. Omstandigheden voor geneesmiddel-geneesmiddelinteractie-assay

	1A2	2C9	2C19	2D6	3A4
Substraat	Vivid blue (Aurora)	MFC (Gentest)	Vivid blue (Aurora)	AMMC (Gentest)	Vivid red (Aurora)
Substraat (μM)	10	30	10	1	2
Enzym (pmol)	50	50	5	50	5
EX./Em(λ)	408/465	408/535	408/465	400/465	530/595

Halfwaardetijd in microsomen uit de menselijke lever (HLM)

De proefverbindingen (1 μM) werden bij 37°C in platen met 96 diepe putjes geïncubeerd met 3,3 mM $MgCl_2$ en 0,78 mg/ml HLM (HL101) in 100 mM kaliumfosfaatbuffer (pH=7,4). Het reactiemengsel werd verdeeld in twee groepen, een non-P450- en een P450-groep. NADPH werd slechts toegevoegd aan het reactiemengsel van de P450-groep. Een klein volume van de monsters van de P450-groep werd verzameld op de tijdstippen 0, 10, 30 en 60 minuten, waarbij het tijdpunt van 0 minuten het tijdstip aangaf waarop NADPH werd toegevoegd aan het reactiemengsel van de P450-groep. Een klein volume van monsters van de non-P450-groep werd verzameld op de tijdstippen -10 en 65 minuten. De verzamelde kleine volumina werden geëxtraheerd met een oplossing in acetonitril die een inwendige standaard bevatte. Het eiwit werd neergeslagen in een centrifuge (2.000 rpm., 15 min.). De concentratie van de verbinding in de supernatant werd gemeten door middel van een LC/MS/MS-systeem.

De halfwaardetijd werd verkregen door uitzetten van de natuurlijke logaritme van de verhouding van het piekoppervlak van de verbinding/de inwendige standaard tegen de tijd. De helling van de lijn die het beste bij de verzameling punten paste, leverde de snelheid van het metabolisme (k) op. Deze werd met behulp van de volgende vergelijking omgezet in de halfwaardetijd:

$$\text{Halfwaardetijd} = \ln 2/k$$

Monojoodacetaat (MIA)-geïnduceerde OA-model

Mannelijke 6 weken oude Sprague-Dawley-ratten (SD, Japan SLC of Charles River Japan) werden geanesthetiseerd met pentobarbital. De plaats van injectie (de knie) van het MIA werd geschoren en schoongemaakt met 70% ethanol. Met behulp van een 29G-naald werd 25 µl MIA-oplossing of zoutoplossing in het rechterkniegewricht geïnjecteerd. Het effect van de schade aan het gewricht op de gewichtsverdeling op de rechter (beschadigde) en linker (onbehandelde) knie werd beoordeeld met een invaliditeitstester (Linton Instrumentation, Norfolk, VK). De kracht die door elke achterpoot werd uitgeoefend, werd gemeten in grammen. Het verschil in gewicht (weight-bearing; WB) werd bepaald uit het verschil in gewicht dat op elke poot rustte. De ratten werden erop getraind om de WB één maal per week te laten meten, tot 20 dagen na de MIA-injectie. De analgetische effecten van de verbindingen werden 21 dagen na de injectie van MIA gemeten. Voor de toediening van de verbinding werd de "pre-waarde" van het WB-tekort gemeten. Na de toediening van de verbindingen werd de vermindering van de WB-tekorten bepaald als de analgetische effecten.

Door compleet Freund-Adjuvans (CFA) geïnduceerde thermische en mechanische hyperalgesie in ratten

Thermische hyperalgesie

Er werden mannelijke 6 weken oude SD-ratten gebruikt. Compleet Freund-Adjuvans (CFA, 300 µg van *Mycobacterium Tuberculosis* H37RA (Difco, MI, VS) in 100 µl vloeibare paraffine (Wako, Osaka, Japan)) werd geïnjecteerd in het zooloppervlak van een achterpoot van de ratten. Twee dagen na de CFA-injectie werd de thermische hyperalgesie bepaald door middel van een werkwijze die eerder werd beschreven (Hargreaves *et al.*, 1988) waarvoor het plantaire proefapparaat (Ugo-Basil, Varese, Italië) werd gebruikt. Men liet de ratten zich aan de proefomgeving aanpassen gedurende ten minste 15 minuten voordat enige prikkeling werd toege-

diend. Het zooloppervlak van een achterpoot werd onderworpen aan warmtestraling en de tijd waarna de poot werd teruggetrokken (Paw Withdrawal Latencies; PWL in seconden) werd bepaald. De intensiteit van de warmtestraling werd aangepast, zodat een stabiele PWL van 10 tot 15 seconden werd geproduceerd. De proefverbinding werd toegediend in een volume van 0,5 ml per 100 g lichaamsgewicht. De PWL-waarden werden gemeten op tijdstippen 1, 3 of 5 uur na toediening van het geneesmiddel.

Mechanische hyperalgesie

Er werden mannelijke 4 weken oude SD-ratten gebruikt. CFA (300 µg van *Mycobacterium Tuberculosis* H37RA (Difco, MI, VS) in 100 µl vloeibare paraffine (Wako, Osaka, Japan)) werd geïnjecteerd in het zooloppervlak van een achterpoot van de ratten. Twee dagen na de CFA-injectie werd de mechanische hyperalgesie getest door meten van de drempelwaarde van de benodigde druk voor terugtrekking van de poot (Paw Withdrawal Threshold; PWT, grammen), waarvoor de analgesiemeter werd gebruikt (Ugo-Basil, Varese, Italië). De dieren werden voorzichtig vastgehouden en een gestaag toenemende druk werd via een plastic punt uitgeoefend op het dorsale oppervlak van een achterpoot. De druk die nodig was om terugtrekking van een pootje uit te lokken werd bepaald. De proefverbinding werd toegediend in een volume van 0,5 ml per 100 g lichaamsgewicht. De PWT-waarden werden gemeten op tijdstippen 1, 3 of 5 uur na toediening van het geneesmiddel.

Farmaceutisch aanvaardbare zouten van de verbindingen met de formule (I) omvatten de zuuradditie- en basezouten daarvan.

Geschikte zuuradditiezouten worden gevormd uit zuren die niet-toxische zouten vormen. Voorbeelden omvatten acetaat-, aspartaat-, benzoaat-, besylaat-, bicarbonaat-/carbonaat-, bisulfaat-/sulfaat-, boraat-, camsylaat-, citraat-, edisylaat-, esylaat-, formiaat-, fumaraat-, gluceptaat-, gluconaat-, glucuronaat-, hexafluorfosfaat-, hi-

benzaat-, hydrochloride-/chloride-, hydrobromide-/bromide-, hydrojodide-/jodide-, isethionaat-, lactaat-, malaat-, maleaat-, malonaat-, mesylaat-, methylsulfaat-, naftylaat-, 2-napsylaat-, nicotinaat-, nitraat-, orotaat-, oxalaat-, palmitaat-, pamoaat-, fosfaat-/waterstoffosfaat-/diwaterstoffosfaat-, saccharaat-, stearaat-, succinaat-, tartraat-, tosylaat- en trifluoracetaatzouten.

Geschikte basezouten worden gevormd uit basen die niet-toxische zouten vormen. Voorbeelden omvatten de aluminium-, arginine-, benzathine-, calcium-, choline-, diethylamine-, diolamine-, glycine-, lysine-, magnesium-, meglumine-, olamine-, kalium-, natrium-, tromethamine- en zinkzouten.

Zie voor een overzicht van de geschikte zouten "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use" door Stahl en Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Duitsland 2002).

Een farmaceutisch aanvaardbaar zout van een verbinding met de formule (I) kan gemakkelijk worden bereid door tezamen mengen van oplossingen van de verbinding met de formule (I) en het gewenste zuur of de gewenste base, naar gelang van hetgeen van toepassing is. Het zout kan uit oplossing neerslaan en worden verzameld door affiltreren of worden verkregen door afdamping van het oplosmiddel. De ionisatiegraad in het zout kan variëren van volledig geïoniseerd tot nagenoeg niet-geïoniseerd.

De verbindingen van de onderhavige uitvinding kunnen in zowel ongesolvateerde als gesolvateerde vormen bestaan. De uitdrukking "solvaat" wordt hierin gebruikt om een molecuulcomplex te omschrijven dat de verbinding van de onderhavige uitvinding en één of meer farmaceutisch aanvaardbare oplosmiddelmoleculen omvat, bijvoorbeeld ethanol. De uitdrukking "hydraat" wordt gebruikt wanneer het oplosmiddel water is.

Vervat in de beschermingsomvang van de onderhavige uitvinding zijn complexen zoals clathraten, inclusiecomplexen van geneesmiddel-gastheer waarin, in tegenstelling

tot de voornoemde solvaten, het geneesmiddel en de gastheer aanwezig zijn in stoichiometrische of niet-stoichiometrische hoeveelheden. Eveneens vervat zijn complexen van het geneesmiddel die twee of meer organische en/of anorganische bestanddelen bevatten, die in zowel stoichiometrische als in niet-stoichiometrische hoeveelheden kunnen zijn. De ontstane complexen kunnen geïoniseerd, gedeeltelijk geïoniseerd of niet-geïoniseerd zijn. Zie voor een overzicht van dergelijke complexen J. Pharm. Sci., 64 (8), 1269-1288 door Haleblian (augustus 1975).

Hierna omvatten alle verwijzingen naar verbindingen met de formule (I) referenties naar zouten, solvaten en complexen daarvan en naar solvaten en complexen van zouten daarvan.

De verbindingen van de onderhavige uitvinding omvatten verbindingen met de formule (I) als hiervoor gedefinieerd, polymorfen, prodrugs en isomeren daarvan (met inbegrip van optische, geometrische en tautomere isomeren) als hierna gedefinieerd en van een isotooplabel voorziene verbindingen met de formule (I).

Zoals genoemd, omvat de onderhavige uitvinding alle polymorfen van de verbindingen met de formule (I) als hiervoor gedefinieerd.

Eveneens binnen de beschermingsomvang van de onderhavige uitvinding zijn zogenaamde "prodrugs" van de verbindingen met de formule (I). Bepaalde derivaten van verbindingen met de formule (I) die zelf weinig of geen farmacologische activiteit hebben, kunnen, wanneer deze in of aan het lichaam worden toegediend, worden omgezet in verbindingen met de formule (I) met de gewenste activiteit, bijvoorbeeld door hydrolytische splitsing. Dergelijke derivaten worden "prodrugs" genoemd. Verdere informatie omtrent het gebruik van prodrugs kan worden aangetroffen in "Prodrugs als Novel Delivery Systems", vol. 14, ACS Symposium Series (T. Higuchi en W. Stella) en "Bioreversible Carriers in Drug Design", Pergamon Press, 1987 (red. E.B. Roche, American Pharmaceutical Association).

Prodrugs volgens de onderhavige uitvinding kunnen bijvoorbeeld worden geproduceerd door vervangen van geschikte functies die in de verbindingen met de formule (I) aanwezig zijn door bepaalde resten die voor de deskundigen bekendstaan als "pro-resten" zoals bijvoorbeeld worden beschreven in "Design of Prodrugs" door H. Bundgaard (Elsevier, 1985).

Enkele voorbeelden van prodrugs volgens de onderhavige uitvinding omvatten:

(i) wanneer de verbinding met de formule (I) een carbonzuurfunctie (-COOH) bevat, een ester daarvan, bijvoorbeeld door vervanging van de waterstof door (C_1-C_8)alkyl,

(ii) wanneer de verbinding met formule (I) een alcoholfunctie (-OH) bevat, een ether daarvan, bijvoorbeeld door vervanging van de waterstof door (C_1-C_6)alkanoyloxymethyl, en

(iii) wanneer de verbinding met de formule (I) een primaire of secundaire aminofunctie ($-NH_2$ of -NHR, waarin R≠H) bevat, een amide daarvan, bijvoorbeeld door vervanging van één of beide waterstoffen door (C_1-C_{10})alkanoyl.

Verdere voorbeelden van vervangingsgroepen in overeenstemming met de voorgaande voorbeelden en voorbeelden van andere prodrugtypen kunnen worden aangetroffen in de voornoemde referenties.

Ten slotte kunnen bepaalde verbindingen met de formule (I) zelf fungeren als prodrugs van andere verbindingen met de formule (I).

De verbindingen met de formule (I) die één of meer asymmetrische koolstofatomen bevatten, kunnen bestaan als twee of meer stereo-isomeren. Wanneer een verbinding met de formule (I) een alkenyl- of alkenyleengroep bevat, zijn geometrische *cis-/trans* (of Z/E)isomeren mogelijk. Wanneer de verbinding bijvoorbeeld een keto- of oximgroep of een aromatische rest bevat, kan tautomere isomerie ("tautomerie") optreden. Het is duidelijk dat een enkele verbinding meer dan één type isomerie kan vertonen.

Vervat in de beschermingsomvang van de onderhavige uitvinding zijn alle stereo-isomeren, geometrische isomeren en tautomere vormen van de verbindingen met de formule (I), met inbegrip van verbindingen die meer dan één type isomerie vertonen, en mengsels van één of meer daarvan. Ook vervat zijn zuuradditie- of basezouten waarin het tegenion optisch actief is, bijvoorbeeld D-lactaat of L-lysine, of racemisch is, bijvoorbeeld DL-tartraat of DL-arginine.

Cis/trans-isomeren kunnen worden gescheiden door middel van gebruikelijke technieken die voor de deskundigen bekend zijn, bijvoorbeeld chromatografie en gefractioneerde kristallisatie.

Gebruikelijke technieken voor de bereiding/isolering van afzonderlijke enantiomeren omvatten chirale synthese uit een geschikte optisch zuivere voorloper of scheiding van het racemaat (of het racemaat van een zout of derivaat) met, bijvoorbeeld, chirale High Pressure Liquid Chromatography (HPLC).

Als alternatief kan het racemaat (of een racemische voorloper) in reactie worden gebracht met een geschikte optisch actieve verbinding, bijvoorbeeld een alcohol, of, in het geval waarin de verbinding met de formule(I) een zure of basische rest bevat, met een zuur of een base zoals wijnsteenzuur, of 1-fenylethylamine. Het ontstane diastereomere mengsel kan worden gescheiden door chromatografie en/of gefractioneerde kristallisatie en één of beide diastereo-isomeren kunnen worden omgezet in de overeenkomstige een of meer zuivere enantiomeren op een wijze die voor een deskundige bekend is.

Chirale verbindingen van de onderhavige uitvinding (en chirale voorlopers daarvan) kunnen in enantiomeer verrijkte vorm worden verkregen met behulp van chromatografie, typisch HPLC, over een asymmetrische kunsthars met een mobiele fase die bestaat uit een koolwaterstof, typisch heptaan of hexaan, die 0 tot 50% isopropanol, typisch 2 tot 20%, en 0 tot 5% van een alkylamine bevat, ty-

pisch 0,1% diëthylamine. Concentratie van het eluaat levert het verrijkte mengsel op.

Stereo-isomere conglomeraten kunnen worden gescheiden door middel van gebruikelijke werkwijzen die voor de deskundigen bekend zijn - zie bijvoorbeeld "Stereochemistry of Organic Compounds" door E.L Eliel (Wiley, New York, 1994).

De onderhavige uitvinding omvat alle farmaceutisch aanvaardbare van een isotooplabel voorziene verbindingen met de formule (I) waarin één of meer atomen zijn vervangen door atomen met hetzelfde atoomnummer, maar met een atoommassa of massagetal die respectievelijk dat verschilt van de atoommassa of het massagetal die respectievelijk dat doorgaans in de natuur wordt aangetroffen.

Voorbeelden van isotopen die geschikt zijn voor opneming in de verbindingen van de onderhavige uitvinding omvatten isotopen van waterstof, zoals ^{2}H en ^{3}H, koolstof, zoals ^{11}C, ^{13}C en ^{14}C, chloor, zoals ^{36}Cl, fluor, zoals ^{18}F, jood, zoals ^{123}I en ^{125}I, stikstof, zoals ^{13}N en ^{15}N, zuurstof, zoals ^{15}O, ^{17}O en ^{18}O, fosfor, zoals ^{32}P, en zwavel, zoals ^{35}S.

Bepaalde van een isotooplabel voorziene verbindingen met de formule (I), bijvoorbeeld die waarin een radioactieve isotoop is opgenomen, zijn bruikbaar in studies naar de verdeling van geneesmiddel en/of substraat in de weefsels. De radioactieve isotopen tritium, dat wil zeggen ^{3}H, en koolstof-14, dat wil zeggen ^{14}C, zijn voor dit doel met name bruikbaar met het oog ook op het gemak waarmee deze kunnen worden opgenomen en de gemakkelijke detectiewijzen.

Substitutie met zwaardere isotopen, zoals deuterium, dat wil zeggen ^{2}H, kan bepaalde therapeutische voordelen opleveren die voortvloeien uit een grotere metabolische stabiliteit, bijvoorbeeld een langere *in vivo*-halfwaardetijd, of geringere doseereisen, en dus in sommige omstandigheden de voorkeur verdienen.

Substitutie met isotopen die positronen emitteren, zoals ^{11}C, ^{18}F, ^{15}O en ^{13}N, kan bruikbaar zijn in Positron

Emission Topography (PET)studies voor het onderzoek naar de bezetting van receptoren met substraat.

Van een isotooplabel voorziene verbindingen met de formule (I) kunnen in het algemeen worden bereid door middel van gebruikelijke technieken die voor de deskundigen bekend zijn, of door middel van werkwijzen die analoog zijn aan die welke worden beschreven in de begeleidende voorbeelden en bereidingen, waarvoor in plaats van een tevoren gebruikt niet van een label voorzien reagens nu van een geschikt isotooplabel voorzien reagentia worden gebruikt.

Farmaceutisch aanvaardbare solvaten in overeenstemming met de onderhavige uitvinding omvatten die waarin het oplosmiddel waaruit wordt gekristalliseerd met een isotoop gesubstitueerd is, bijvoorbeeld D_2O, d_6-aceton, d_6-DMSO.

De verbindingen van de onderhavige uitvinding die bestemd zijn voor farmaceutisch gebruik kunnen worden toegediend als kristallijne of amorfe producten. Deze kunnen bijvoorbeeld worden verkregen als vaste massa's, poeders of films door middel van werkwijzen als neerslaan, kristallisatie, vriesdrogen of sproeidrogen of drogen door afdamping. Drogen met magnetronstraling of golven van radiofrequentie kan ook voor dit doel worden gebruikt.

Deze kunnen alleen of in combinatie worden toegediend met één of meer andere verbindingen van de onderhavige uitvinding, of in combinatie met één of meer andere geneesmiddelen (of als een combinatie daarvan). In het algemeen zullen deze worden toegediend als een preparaat in associatie met één of meer farmaceutisch aanvaardbare excipiënten. De uitdrukking "excipiënt" wordt hierin gebruikt om een ander bestanddeel dan de een of meer verbindingen van de onderhavige uitvinding te omschrijven. De keuze van de excipiënt zal in grote mate afhankelijk zijn van factoren zoals de desbetreffende wijze van toediening, het effect van de excipiënt op de oplosbaarheid en stabiliteit en de aard van de doseervorm.

Farmaceutische preparaten die geschikt zijn voor de afgifte van verbindingen van de onderhavige uitvinding en werkwijzen voor hun bereiding zullen voor de deskundigen duidelijk zijn. Dergelijke preparaten en werkwijzen voor hun bereiding kunnen bijvoorbeeld worden aangetroffen in "Remington's Pharmaceutical Sciences", 19e editie (Mack Publishing Company, 1995).

ORALE TOEDIENING

De verbindingen van de onderhavige uitvinding kunnen oraal worden toegediend. Orale toediening kan inslikken inhouden, zodat de verbinding het maagdarmkanaal binnengaat, of buccale of sublinguale toediening kan worden gebruikt, waardoor de verbinding de bloedstroom rechtstreeks vanuit de mond binnengaat.

Preparaten die geschikt zijn voor orale toediening omvatten vaste preparaten zoals tabletten, capsules die deeltjes bevatten, vloeistoffen of poeders, pastilles (waaronder met vloeistof gevulde), kauwgommen, multi- en nano-deeltjes, gelen, oplossingen van vaste stoffen, liposomen, films (waaronder muco-adhesieven), ovules, sprays en vloeibare preparaten.

Vloeibare preparaten omvatten suspensies, oplossingen, siropen en elixers. Dergelijke preparaten kunnen worden gebruikt als vulmiddelen in zachte of harde capsules en omvatten typisch een drager, bijvoorbeeld water, ethanol, polyethyleenglycol, propyleenglycol, methylcellulose, of een geschikte olie, en één of meer emulgatoren en/of suspendeermiddelen. Vloeibare preparaten kunnen ook worden bereid door hernieuwde samenstelling van een vaste stof, bijvoorbeeld uit een sachet.

De verbindingen van de onderhavige uitvinding kunnen ook worden gebruikt in snel in oplossing gaande, snel desintegrerende doseervormen zoals die welke worden beschreven in Expert Opinion in Therapeutic Patents, 11(6), 981-986, door Liang en Chen (2001).

Voor tabletdoseervormen kan het geneesmiddel, afhankelijk van de dosis, 1 tot 80 gew.% van de doseervorm, en typisch 5 tot 60 gew.% van de doseervorm uitmaken. Behalve het geneesmiddel bevatten tabletten in het algemeen een desintegreermiddel. Voorbeelden van desintegreermiddelen omvatten natriumzetmeelglycolaat, natriumcarboxymethylcellulose, calciumcarboxymethylcellulose, croscarmellosenatrium, crospovidon, polyvinylpyrrolidon, methylcellulose, microkristallijne cellulose, met lagere alkyl gesubstitueerde hydroxypropylcellulose, zetmeel, pregegelatineerde zetmeel en natriumalginaat. In het algemeen zal het desintegreermiddel 1 tot 25 gew.% en bij voorkeur 5 tot 20 gew.% van de doseervorm omvatten.

Bindmiddelen worden in het algemeen gebruikt om bindende eigenschappen aan een tabletpreparaat te verlenen. Geschikte bindmiddelen omvatten microkristallijne cellulose, gelatine, suikers, polyethyleenglycol, natuurlijke en synthetische gommen, polyvinylpyrrolidon, pregegelatineerde zetmeel, hydroxypropylcellulose en hydroxypropylmethylcellulose. Tabletten kunnen ook verdunningsmiddelen bevatten, zoals lactose (monohydraat, gesproeidroogd monohydraat, watervrije en dergelijke), mannitol, xylitol, dextrose, saccharose, sorbitol, microkristallijne cellulose, zetmeel en dibasische calciumfosfaatdihydraat.

Tabletten kunnen eventueel ook oppervlakteactieve middelen bevatten, zoals natriumlaurylsulfaat en polysorbaat 80, alsmede glijmiddelen zoals siliciumdioxide en talk. Wanneer deze aanwezig zijn, kunnen oppervlakactieve middelen 0,2 tot 5 gew.% van het tablet en glijmiddelen 0,2 tot 1 gew.% van het tablet omvatten.

Tabletten bevatten in het algemeen ook smeermiddelen zoals magnesiumstearaat, calciumstearaat, zinkstearaat, natriumstearylfumaraat en mengsels van magnesiumstearaat met natriumlaurylsulfaat. Smeermiddelen omvatten in het algemeen 0,25 tot 10 gew.% en bij voorkeur 0,5 tot 3 gew.% van het tablet.

Andere mogelijke bestanddelen omvatten antioxidanten, kleurstoffen, geur- en smaakmiddelen, conserveermiddelen en smaakmaskerende middelen.

Voorbeelden van tabletten bevatten tot ongeveer 80% geneesmiddel, ongeveer 10 tot ongeveer 90 gew.% bindmiddel, ongeveer 0 tot ongeveer 85 gew.% verdunningsmiddel, ongeveer 2 tot ongeveer 10 gew.% desintegreermiddel en ongeveer 0,25 tot ongeveer 10 gew.% smeermiddel.

Tabletmengsels kunnen rechtstreeks of door middel van een roller worden samengeperst voor het vormen van tabletten. Tabletmengsels of gedeelten van mengsels kunnen als alternatief nat, droog of door middel van smelten worden gegranuleerd, men kan deze smelten en weer doen stollen, of deze kunnen worden geëxtrudeerd voorafgaand aan het tabletteren. Het eindpreparaat kan één of meer lagen omvatten en zowel bekleed als onbekleed zijn; het kan zelfs ingekapseld zijn.

De formulering van tabletten wordt besproken in "Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, vol. 1" door H. Lieberman en L. Lachman, Marcel Dekker, N.Y., N.Y., V.S., 1980 (ISBN 0-8247-6918-X).

Vaste preparaten voor orale toediening kunnen worden geformuleerd voor onmiddellijke en/of gemodificeerde gecontroleerde afgifte. Preparaten voor de gemodificeerde afgifte omvatten die voor de vertraagde, ononderbroken, gepulseerde, gecontroleerde, doelgerichte en geprogrammeerde afgifte.

Geschikte preparaten voor gemodificeerde afgifte voor de doeleinden van de onderhavige uitvinding worden beschreven in Amerikaans octrooischrift 6.106.864. Bijzonderheden van andere geschikte afgiftetechnologieën, zoals hoogenergetische dispersies en osmotische en beklede deeltjes kunnen worden aangetroffen bij Verma *et al.*, Pharmaceutical Technology On-line, 25(2), 1-14 (2001). Het gebruik van kauwgom ter verkrijging van gecontroleerde afgifte wordt beschreven in WO 00/35298.

PARENTERALE TOEDIENING

De verbindingen van de onderhavige uitvinding kunnen ook rechtstreeks in de bloedstroom worden toegediend, in de spieren of in een inwendig orgaan. Geschikte wijzen van parenterale toediening omvatten de intraveneuze, intra-arteriële, intraperitoneale, intratecale, intraventriculaire, intra-uretrale, intrasternale, intracraniële, intramusculaire en subcutane. Geschikte middelen voor parenterale toediening omvatten naaldinjectoren (waaronder micronaald), naaldvrije injectoren en infusietechnieken.

Parenterale preparaten zijn typisch waterige oplossingen die excipiënten kunnen bevatten zoals zouten, koolhydraten en buffermiddelen (bij voorkeur tot een pH van 3 tot 9), maar voor sommige toepassingen kunnen deze beter worden geformuleerd als een steriele niet-waterige oplossing of als een poeder in gedroogde vorm die resp. dat zal worden gebruikt samen met een geschikt vehiculum zoals steriel, pyrogeenvrij water.

De bereiding van parenterale preparaten onder steriele omstandigheden, bijvoorbeeld door vriesdrogen, kan dadelijk worden gerealiseerd met behulp van farmaceutische standaardtechnieken die voor de deskundigen bekend zijn.

De oplosbaarheid van de verbindingen met de formule (I) die worden gebruikt bij de bereiding van parenterale oplossingen kan worden verhoogd door het gebruik van geschikte formuleringstechnieken, zoals de opneming van middelen die de oplosbaarheid vergroten. Preparaten voor gebruik bij toediening door naaldvrije injectie omvatten een verbinding van de onderhavige uitvinding in gepoederde vorm met een geschikt vehiculum zoals steriel, pyrogeenvrij water.

Preparaten voor parenterale toediening kunnen worden geformuleerd voor onmiddellijke en/of gemodificeerde gecontroleerde afgifte. Preparaten voor de gemodificeerde afgifte omvatten die voor de vertraagde, ononderbroken, gepulseerde, gecontroleerde, doelgerichte en geprogrammeerde afgifte. De verbindingen van de onderhavige uitvin-

ding kunnen dus worden geformuleerd als een vaste stof, halfvaste stof of een tixotrope vloeistof voor toediening als een geïmplanteerd depot dat zorgt voor de gemodificeerde afgifte van de actieve verbinding. Voorbeelden van dergelijke preparaten omvatten met geneesmiddel beklede stents en PGLA-mocrobollen.

TOPISCHE TOEDIENING

De verbindingen van de onderhavige uitvinding kunnen ook topisch op de huid of slijmvliezen worden toegediend, dat wil zeggen dermaal of transdermaal. Typische preparaten voor dit doel omvatten gelen, hydrogelen, lotions, oplossingen, crèmes, zalven, stuifpoeders, smeersels, schuimen, films, huidpleisters, wafels, implantaten, sponzen, vezels, verbanden en micro-emulsies. Ook liposomen kunnen worden gebruikt. Typische dragers omvatten alcohol, water, minerale olie, vloeibare petrolatum, witte petrolatum, glycerine, polyethyleenglycol en propyleenglycol. Penetratieversterkers kunnen worden opgenomen - zie bijvoorbeeld J. Pharm. Sci., 88 (10), 955-958, door Finnin en Morgan (oktober 1999).

Andere wijzen van topische toediening omvatten afgifte door middel van elektroporatie, iontoforese, fonoforese, sonoforese en injectie met een micronaald of naaldvrije (bijvoorbeeld Powderject™, Bioject™, enz.) injectie.

Preparaten voor topische toediening kunnen worden geformuleerd voor onmiddellijke en/of gemodificeerde gecontroleerde afgifte. Preparaten voor de gemodificeerde afgifte omvatten die voor de vertraagde, ononderbroken, gepulseerde, gecontroleerde, doelgerichte en geprogrammeerde afgifte.

GEÏNHALEERDE/INTRANASALE TOEDIENING

De verbindingen van de onderhavige uitvinding kunnen ook intranasaal of door inhalatie worden toegediend, typisch in de vorm van een droog poeder (hetzij alleen, als een mengsel, bijvoorbeeld in een droog mengsel met lacto-

se, hetzij als een gemengd bestanddeel dat uit deeltjes bestaat, bijvoorbeeld gemengd met fosfolipiden, zoals fosfatidylcholine) uit een droog-poederinhalator, of als een aërosolspray uit een onder druk staande houder, pomp, spray, vernevelaar (bij voorkeur een vernevelaar die gebruikmaakt van elektrohydrodynamica, hetgeen een fijne mist produceert), met of zonder het gebruik van een geschikt drijfgas, zoals 1,1,1,2-tetrafluorethaan of 1,1,1,2,3,3,3-heptafluorpropaan. Voor intranasaal gebruik kan het poeder een bioadhesief middel bevatten, bijvoorbeeld chitosan of cyclodextrine.

De onder druk staande houder, pomp, spray of vernevelaar bevat een oplossing of suspensie van de verbinding(en) van de onderhavige uitvinding die bijvoorbeeld ethanol, waterige ethanol of een geschikt alternatief middel voor het dispergeren, solubiliseren of versterken van de afgifte van het actieve middel, een of meer drijfgassen als oplosmiddel en een eventuele oppervlakactieve stof, zoals sorbitantrioleaat, oliezuur of een oligomelkzuur bevat.

Voorafgaand aan gebruik in een droog-poeder- of suspensiepreparaat wordt het geneesmiddelproduct verkleind tot een afmeting die geschikt is voor afgifte door inhalatie (typisch minder dan 5 micron). Dit kan worden uitgevoerd door middel van een geschikte verkleiningswerkwijze, zoals door malen met een schroefstraal, malen met een gefluïdiseerd-bedstraal, bewerking met superkritische vloeistof, hetgeen nanodeeltjes vormt, homogenisatie onder hoge druk of sproeidrogen.

Capsules (die bijvoorbeeld uit gelatine of HPMC zijn gemaakt), doordrukverpakkingen en patronen voor gebruik in een inhalator of insufflator kunnen zodanig worden geformuleerd dat deze een poedermengsel van de verbinding van de onderhavige uitvinding, een geschikte poedergrondstof zoals lactose of zetmeel en een prestatieverbeteraar zoals *l*-leucine, mannitol of magnesiumstearaat bevatten. De lactose kan watervrij of in de vorm van het monohydraat zijn,

en bij voorkeur in de laatstgenoemde. Andere geschikte excipiënten omvatten dextran, glucose, maltose, sorbitol, xylitol, fructose, sacharose en trehalose.

Een geschikte oplossing voor gebruik in een vernevelaar met gebruik van elektrohydrodynamica, zodat een fijne mist wordt geproduceerd, kan 1 µg tot 20 mg van de verbinding van de onderhavige uitvinding per slag bevatten, en het slagvolume kan variëren van 1 µl tot 100 µl. Een typisch preparaat kan een verbinding met de formule (I), propyleenglycol, steriel water, ethanol en natriumchloride bevatten. Alternatieve oplosmiddelen die in plaats van propyleenglycol kunnen worden gebruikt, omvatten glycerol en polyethyleenglycol.

Geschikte geur- en smaakstoffen, zoals menthol en levomenthol, of zoetstoffen, zoals sacharine of sacharinenatrium, kunnen worden toegevoegd aan die preparaten van de onderhavige uitvinding die voor geïnhaleerde/intranasale toediening zijn bestemd.

Preparaten voor geïnhaleerde/intranasale toediening kunnen worden geformuleerd voor onmiddellijke en/of gemodificeerde gecontroleerde afgifte met, bijvoorbeeld, poly-(DL-melk-coglycolzuur) (PGLA). Preparaten voor de gemodificeerde afgifte omvatten die voor de vertraagde, ononderbroken, gepulseerde, gecontroleerde, doelgerichte en geprogrammeerde afgifte.

Bij droog-poederinhalatoren en aërosolen wordt de doseereenheid bepaald door middel van een ventiel dat een afgemeten hoeveelheid afgeeft. Eenheden in overeenstemming met de onderhavige uitvinding worden typisch zo ingesteld dat een afgemeten dosis of "puf" wordt toegediend die 1 µg tot 10 mg van de verbinding met de formule (I) bevat. De totale dagelijkse dosis zal typisch in het traject van 1 µg tot 10 mg zijn, die in een enkele dosis of, gebruikelijker, als verdeelde doses gedurende de dag kan worden toegediend.

RECTALE/INTRAVAGINALE TOEDIENING

De verbindingen van de onderhavige uitvinding kunnen rectaal of vaginaal worden toegediend, bijvoorbeeld in de vorm van een suppositorium, pessarium of clysma. Cacaoboter is een gebruikelijke grondstof voor een suppositorium, maar naar behoefte kunnen diverse alternatieven worden gebruikt.

Preparaten voor rectale/vaginale toediening kunnen worden geformuleerd voor onmiddellijke en/of gemodificeerde gecontroleerde afgifte. Preparaten voor gemodificeerde afgifte omvatten die voor de vertraagde, langdurige, gepulseerde, gecontroleerde, doelgerichte en geprogrammeerde afgifte.

ANDERE TECHNOLOGIEËN

De verbindingen van de onderhavige uitvinding kunnen worden gecombineerd met oplosbare macromoleculaire entiteiten, zoals cyclodextrine en geschikte derivaten daarvan, of polymeren die polyethyleenglycol bevatten, ter verbetering van hun oplosbaarheid, oplossnelheid, smaakmaskering, biologische beschikbaarheid en/of stabiliteit voor gebruik in één van de voornoemde wijzen van toediening.

Geneesmiddel-cyclodextrinecomplexen blijken bijvoorbeeld in het algemeen bruikbaar voor de meeste doseervormen en toedieningsroutes. Zowel inclusie- als niet-inclusiecomplexen kunnen worden gebruikt. Als een alternatief voor rechtstreekse complexering met het geneesmiddel kan het cyclodextrine als een hulpadditief worden gebruikt, dat wil zeggen als een drager, verdunningsmiddel of solubiliseerder. Voor deze doeleinden worden het vaakst alfa-, bèta- en gamma-cyclodextrinen gebruikt, waarvan voorbeelden kunnen worden aangetroffen in internationale octrooiaanvragen no. WO 91/11172, WO 94/02518 en WO 98/55148.

DOSERING

Voor toediening aan menselijke patiënten ligt de totale dagelijkse dosis van de verbindingen van de onderhavige uitvinding typisch in het traject van 0,1 mg tot 3.000 mg en bij voorkeur van 1 mg tot 500 mg, hetgeen uiteraard afhankelijk is van de wijze van toediening. Orale toediening kan bijvoorbeeld een totale dagelijkse dosis van 0,1 mg en 3.000 mg en bij voorkeur van 1 mg tot 500 mg vereisen, terwijl een intraveneuze dosis slechts 0,1 mg tot 1.000 mg en bij voorkeur 0,1 mg tot 300 mg kan vereisen. De totale dagelijkse dosis kan in enkele of verdeelde dosis worden toegediend.

Deze doseringen zijn gebaseerd op een gemiddelde menselijke patiënt met een gewicht van ongeveer 65 kg tot 70 kg. De arts zal dadelijk in staat zijn om doses te bepalen voor patiënten waarvan het gewicht buiten dit traject valt, zoals kinderen en ouderen.

Ter vermijding van twijfel omvatten verwijzingen naar "behandeling" hierin de verwijzingen naar curatieve, palliatieve en profylactische behandeling.

Een VR1-antagonist kan nuttig worden gecombineerd met een andere farmacologische actieve verbinding, of met twee of meer andere farmacologisch actieve verbindingen, met name bij de behandeling van pijn. Een VR1-antagonist, in het bijzonder een verbinding met de formule (I), of een farmaceutisch aanvaardbaar zout of solvaat daarvan, zoals hierboven wordt gedefinieerd, kan bijvoorbeeld gelijktijdig, opeenvolgend of afzonderlijk worden toegediend in combinatie met één of meer middelen die worden gekozen uit:

- een opioïd- analgeticum, bijvoorbeeld morfine, heroïne, hydromorfon, oxymorfon, levorfanol, levallorfan, methadon, meperidine, fentanyl, cocaïne, codeïne, dihydrocodeïne, oxycodon, hydrocodon, propoxyfeen, nalmefeen, nalorfine, naloxon, naltrexon, buprenorfine, butorfanol, nalbufine of pentazocine,

- een niet-steroïd geneesmiddel tegen ontsteking (non-steroidal antiinflammatory drug, NSAID), bijvoorbeeld aspirine, diclofenac, diflusinal, etodolac, fenbufen, fenoprofen, flufenisal, flurbiprofen, ibuprofen, indomethacine, ketoprofen, ketorolac, meclofenaminezuur, mefenaminezuur, meloxicam, nabumeton, naproxen, mimesulide, nitroflurbiprofen, olsalazine, oxaprozin, fenylbutazon, piroxicam, sulfasalazine, sulindac, tolmetin of zomepirac,
- een barbituraat-sedativum, bijvoorbeeld amobarbital, aprobarbital, butabarbital, butabital, mefobarbital, metharbital, methohexital, pentobarbital, fenobarbital, secobarbital, talbutal, theamylal of thiopental,
- een benzodiazepine met een sedatieve werking, bijvoorbeeld chloordiazepoxide, clorazepaat, diazepam, flurazepam, lorazepam, oxazepam, temazepam of triazolam,
- een H1-antagonist met een sedatieve werking, bijvoorbeeld difenhydramine, pyrilamine, promethazine, chloorfeniramine of chloorcyclizine,
- een sedativum zoals glutethimide, meprobamaat, methaqualon of dichooralfenazon,
- een verslapper van skeletspieren, bijvoorbeeld baclofen, carisoprodol, chloorzoxazon, cyclobenzaprine, methocarbamol of orphrenadine,
- een antagonist van de NMDA-receptor, bijvoorbeeld dextromethorfan ((+)-3-hydroxy-*N*-methylmorfinan) of haar metaboliet dextrorfan ((+)-3-hydroxy-*N*-methylmorfinan), ketamine, memantine, pyrrolochinoline, kinine, cis-4-(fosfonomethyl)-2-piperidinecarbonzuur, budipine, EN-3231, (MorphiDex®, een combinatiepreparaat van morfine en dextromethorfan), topiramaat, neramexaan of perzinfotel, waaronder een NR2B-antagonist, bijvoorbeeld ifenprodil, traxoprodil of (-)-(R)-6-(2-[4-(3-fluorfenyl)-4-hydroxy-1-piperidinyl]-1-hydroxyethyl-3,4-dihydro-2(1H)-chinolinon,
- een alfa-adrenergische stof, bijvoorbeeld doxazosine, tamsulosine, clonidine, guanfacine, dexmetatomidine, mo-

dafinil, of 4-amino-6,7-dimethoxy-2-(5-methaansulfonamido-1,2,3,4-tetrahydroisochinol-2-yl)-5-(2-pyridyl)chinazoline,

- een tricyclisch antidepressivum, bijvoorbeeld desipramine, imipramine, amitriptyline of nortriptyline,
- een anticonvulsief middel, bijvoorbeeld carbamazepine, lamotrigine, topiratmaat of valproaat,
- een tachykinine(NK)antagonist, met name een antagonist van NK-3, NK-2 OF NK-1, bijvoorbeeld (αR,9R)-7-[3,5-bis(trifluormethyl)benzyl]-8,9,10,11-tetrahydro-9-methyl-5-(4-methylfenyl)-7*H*-[1,4]diazocino[2,1-*g*][1,7]-naftyridine-6,13-dion (TAK-637), 5-[[(2R,3S)-2-[(1*R*)-1-[3,5-bis(trifluormethyl)fenyl]ethoxy-3-(4-fluorfenyl)-4-morfolinyl]methyl]-1,2-dihydro-3H-1,2,4-triazool-3-on (MK-869), aprepitant, lanepitant, dapitant of 3-[[2-methoxy-5-(trifluormethoxy)fenyl]methylamino]-2-fenylpiperidine (2S,3S),
- een muscarineantagonist, bijvoorbeeld oxybutynine, tolterodine, propiverine, tropsiumchloride, darifenacine, solifenacine, temiverine en ipratropium,
- een selectieve remmer van COX-2, bijvoorbeeld celecoxib, rofecoxib, parecoxib, valdecoxib, deracoxib, etoricoxib of lumiracoxib,
- een analgeticum uit koolteer, in het bijzonder paracetamol,
- een neurolepticum, zoals droperidol, chloorpromazine, haloperidol, perfenazine, thioridazine, mesoridazine, trifluperazine, flufenazine, clozapine, olanzapine, risperidon, ziprasidon, quetiapine, sertindol, aripiprazool, sonepiprazool, blonanserine, iloperidon, perospiron, raclopride, zotepine, bifeprunox, asenapine, lurasidon, amisulpride, balaperidon, palindore, eplivanserine, osanetant, rimonabant, meclinertant, Miraxion® of sarizotan,
- een agonist van de vanilloïdreceptor (bijvoorbeeld resinferatoxine), of een antagonist (bijvoorbeeld capsazepine),

- een bèta-adrenergische verbinding, zoals propranolol,
- een lokaal anestheticum, zoals mexiletine,
- een corticosteroïd, zoals dexamethason,
- een agonist of antagonist van de 5-HT-receptor, met name een 5-$HT_{1B/1D}$-agonist, zoals eletriptan, sumatriptan, naratriptan, zolmitriptan of rizatriptan,
- een antagonist van de 5-HT_{2A}-receptor, zoals R-(+)-alfa-(2,3-dimethoxyfenyl)-1-[2-(4-fluorfenylethyl)-4-piperidinemethanol (MDL-100907),
- een cholinergisch (nicotine) analgeticum, zoals ispronicline (TC-1734), (E)-*N*-methyl-4-(3-pyridinyl)-3-buteen-1-amine (RJR-2403), (R)-5-(2-azetidinylmethoxy)-2-chloorpyridine (ABT-594) of nicotine,
- Tramadol®,
- een PDE-V-remmer, zoals 5-[2-ethoxy-5-(4-methyl-1-piperazinylsulfonyl)fenyl]-1-methyl-3-*n*-propyl-1,6-dihydro-7*H*-pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidine-7-on (sildenafil), (6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-hexahydro-2-methyl-6-(3,4-methyleendioxyfenyl)pyrazino[2',1':6,1]pyrido[3,4-*b*]indool-1,4-dion (IC-351 of tadalafil), 2-[2-ethoxy-5-(4-ethylpiperazine-1-yl-1-sulfonyl)fenyl]-5-methyl-7-propyl-3H-imidazo[5,1-*f*][1,2,4]triazine-4-on (vardenafil), 5-(5-acetyl-2-butoxy-3-pyridinyl)-3-ethyl-2-(1-ethyl-3-azetidinyl)-2,6-dihydro-7*H*-pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidine-7-on, 5-(5-acetyl-2-propoxy-3-pyridinyl)-3-ethyl-2-(1-isopropyl-3-azetidinyl)-2,6-dihydro-7*H*-pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidine-7-on, 5-[2-ethoxy-5-(4-ethylpiperazime-1-ylsulfonyl)pyridine-3-yl]-3-ethyl-2-[2-methoxyethyl]-2,6-dihydro-7*H*-pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidine-7-on, 4-[(3-chloor-4-methoxybenzyl)amino]-2-[(2S)-2-(hydroxymethyl)pyrrolidine-1-yl]-*N*-(pyrimidine-2-ylmethyl)pyrimidine-5-carboxamide, 3-(1-methyl-7-oxo-3-propyl-6,7-dihydro-1H-pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidine-5-yl)-*N*-[2-(1-methylpyrrolidine-2-yl)ethyl]-4-propoxybenzeensulfonamide,
- een alfa-2-deltaligand, zoals gabapentine, pregabaline, 3-methylgabapentine, (1α,3α,5α)(3-aminomethylbicyclo-[3.2.0]hept-3-yl)azijnzuur, (3S,5R)-3-aminomethyl-5-me-

thylheptaanzuur, (3S,5R)-3-amino-5-methylheptaanzuur, (3S,5R)-3-amino-5-methyloctaanzuur, (2S,4S)-4-(3-chloorfenoxy)proline, (2S,4S)-4-(3-fluorbenzyl)proline, [(1*R*,5R,6S)-6-(aminomethyl)bicyclo[3,2,0]hept-6-yl]-azijnzuur, 3-(1-aminomethylcyclohexylmethyl)-4H-[1.2.4]-oxadiazool-5-on, C-[1-(1H-tetrazool-5-ylmethyl)cycloheptyl]methylamine, (3S,4S)-(1-aminomethyl-3,4-dimethylcyclopentyl)azijnzuur, (3S,5R)-3-aminomethyl-5-methyloctaanzuur, (3S,5R)-3-amino-5-methylnonaanzuur, (3S,5R)-3-amino-5-methyloctaanzuur, (3R,4R,5R)-3-amino-4,5-di-methylheptaanzuur en (3R,4R,5R)-3-amino-4,5-dimethyloctaanzuur,

- een cannabinoïd,
- een antagonist van de metabotropische glutamaat subtype 1-receptor (mGluR1),
- een remmer van de heropname van serotonine, zoals sertraline, de sertralinemetaboliet, demethylsertraline, fluoxetine, norfluoxetine (de desmethylmetaboliet van fluoxetine), fluvoxamine, paroxetine, citalopram, de desmethylmetaboliet van citalopram, escitalopram, d,l-fenfluramine, femoxetine, ifoxetine, cyaandothiepine, litoxetine, dapoxetine, nefazodon, ericlamine en trazodon,
- een remmer van de heropname van noradrenaline (norepinefrine), zoals maprotiline, lofepramine, mirtazepine, oxaprotiline, fezolamine, tomoxetine, mianserine, buproprion, de buproprionmetaboliet hydroxybuproprion, nomifensine en viloxazine (Vivala®), in het bijzonder een selectieve remmer van de heropname van noradrenaline, zoals reboxetine, in het bijzonder (S,S)-reboxetine,
- een tweeledige remmer van de heropname van serotonine-noradrenaline, zoals venlafaxine, de venlafaxinemetaboliet O-desmethylvenlafaxine, clomipramine, de clomipraminemetaboliet desmethylclomipramine, duloxetine, milnacipran en imipramine,
- een remmer van induceerbare stikstofoxidesynthase (iNOS), zoals S-[2-[(1-iminoethyl)amino]ethyl]-L-homo-

cyseïne, S-[2-[(1-iminoethyl)amino]ethyl]-4,4-dioxo-L-cysteïne, S-[2-[(1-iminoethyl)amino]ethyl]-2-methyl-L-cysteïne, (2S,5Z)-2-amino-2-methyl-7-[(1-iminoethyl)amino]-5-hepteenzuur, 2-[[(1*R*,3S)-3-amino-4-hydroxy-1-(5-thiazolyl)butyl]thio]-5-chloor-3-pyridinecarbonitril, 2-[[(1*R*,3S)-3-amino-4-hydroxy-1-(5-thiazolyl)butyl]thio]-4-chloorbenzonitril, (2S,4R)-2-amino-4-[[2-chloor-5-(trifluormethyl)fenyl]thio]-5-thiazoolbutanol, 2-[[(1*R*,3S)-3-amino-4-hydroxy-1-(5-thiazolyl)butyl]thio]-6-(trifluormethyl)-3-pyridinecarbonitril, 2-[[(1*R*,3S)-3-amino-4-hydroxy-1-(5-thiazolyl)butyl]thio]-5-chloorbenzonitril, *N*-[4-[2-(3-chloorbenzylamino)ethyl]fenyl]thiofeen-2-carboxamidine of guanidinoethyldisulfide,

- een acetylcholinesteraseremmer zoals donepezil,
- een antagonist van prostaglandine E_2 subtype 4 (EP4), zoals *N*-[({2-[4-(2-ethyl-4,6-dimethyl-1H-imidazo[4,5-*c*]pyridine-1-yl)fenyl]ethyl}amino)carbonyl]-4-methylbenzeensulfonamide of 4-[(1S)-1-({[5-chloor-2-(3-fluorfenoxy)-pyridine-3-yl]carbonyl}amino)ethyl]benzoëzuur,
- een antagonist van leukotrieen B4, zoals 1-(3-bifenyl-4-ylmethyl-4-hydroxychroman-7-yl)cyclopentaancarbonzuur (CP-105696), 5-[2-(2-carboxyethyl)-3-[6-(4-methoxyfenyl)-5E-hexenyl]oxyfenoxy]valeriaanzuur (ONO-4057) of DPC-11870,
- een 5-lipoxygenaseremmer, zoals zileuton, 6-[(3-fluor-5-[4-methoxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-4-yl])fenoxymethyl]-1-methyl-2-chinolon (ZD-2138) of 2,3,5-trimethyl-6-(3-pyridylmethyl)-1,4-benzochinon (CV-6504),
- een blokker van het natriumkanaal, zoals lidocaïne,
- een 5-HT3-antagonist, zoals ondansetron,

en de farmaceutisch aanvaardbare zouten en solvaten daarvan.

Voor zoverre het gewenst kan zijn om een combinatie van actieve verbindingen toe te dienen, bijvoorbeeld met als doel het behandelen van een bepaalde ziekte of aandoening, valt het binnen de beschermingsomvang van de onderhavige uitvinding dat twee of meer farmaceutische prepara-

ten, waarvan ten minste één een verbinding volgens de onderhavige uitvinding bevat, worden gecombineerd in de vorm van een kit die geschikt is voor gezamenlijke toediening van de preparaten.

De kit van de onderhavige uitvinding omvat dus twee of meer afzonderlijke farmaceutische preparaten, waarvan ten minste één een verbinding met de formule (I) volgens de onderhavige uitvinding bevat, en middelen voor het apart houden van de preparaten, zoals een houder, onderverdeelde fles of een onderverdeelde folieverpakking. Een voorbeeld van een dergelijke kit is de bekende doordrukverpakking die wordt gebruikt voor de verpakking van tabletten, capsules en dergelijke.

De kit van de onderhavige uitvinding is met name geschikt voor het toedienen van verschillende doseervormen, bijvoorbeeld orale en parenterale, voor het toedienen van de afzonderlijke preparaten met verschillende tussenpozen van de dosering of voor het titreren van de afzonderlijke preparaten tegen elkaar. Om het gemakkelijker te maken dat men zich aan het regime houdt, bevat de kit typisch aanwijzingen voor toediening en kan deze zijn voorzien van een zogenaamde geheugensteun.

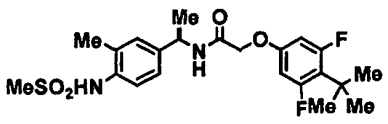
VOORBEELDEN

De onderhavige uitvinding wordt toegelicht in de volgende niet-beperkende voorbeelden, waarin, tenzij anderszins wordt aangeduid: alle bewerkingen werden uitgevoerd bij kamer- of omgevingstemperatuur, dat wil zeggen in het traject van 18°C tot 25°C; de afdamping van oplosmiddel werd uitgevoerd met een rotatieverdamper onder verminderde druk met een badtemperatuur tot 60°C; de reacties werden gevolgd met dunnelaagchromatografie (TLC) en de reactieduren slechts als toelichting zijn gegeven; de smeltpunten (sm.p.) ongecorrigeerd zijn opgegeven (polymorfie kan verschillende smeltpunten tot gevolg hebben); de structuur en zuiverheid van alle geïsoleerde verbindingen werden vastgesteld met ten minste één van de volgende technieken: TLC

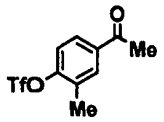
(voorbeklede TLC-platen met silicagel 60 F254 van Merck), massaspectrometrie, kernspinresonantiespectra (NMR), infrarood-absorptiespectra (IR) of microanalyse. De opbrengsten worden slechts als toelichting gegeven. Flashkolomchromatografie werd uitgevoerd met silicagel 60 van Merck (230-400 mesh ASTM) of aan silica gebonden aminogroepen van Biotage (35-75 µm, KP-NH) of silica van Biotage (32-63 µm, KP-Sil). De gegevens van lage resolutiemassaspectra (EI) werden verkregen met een Integrity-massaspectrometer (Waters). Ook werden de gegevens van lage-resolutiemassaspectra (ESI) verkregen met een ZMD-massaspectrometer (Micromass). De NMR-gegevens werden bepaald bij 270 MHz (JEOL JNM-LA 270-spectrometer) of 300 MHz (JEOL JNM-LA300-spectrometer) met gedeutereerde chloroform (99,8% D) of dimethylsulfoxide (99,9% D) als oplosmiddel, tenzij anderszins wordt aangegeven, ten opzichte van tetramethylsilaan (TMS) als inwendige standaard in delen per miljoen (ppm); de gebruikelijke afkortingen die worden gebruikt, zijn: s=singlet, d=doublet, t=triplet, k=kwartet, kwint=kwintet, m=multiplet, br.=breed, etc. De IR-spectra werden gemeten met een infraroodspectrometer van Shimazu (IR-470). De chemische symbolen hebben hun gebruikelijke betekenissen; k.p. (kookpunt), sm.p. (smeltpunt), l (liter(s)), ml (milliliter), g (gram), mg (milligram), mol (molen), mmol (millimolen), eq. (equivalent), kwant. (kwantitatieve opbrengst).

VOORBEELD 1

2-(4-*TERT*-BUTYL-3,5-DIFLUORFENOXY)-*N*-((1*R*)-1-{3-METHYL-4-[(METHYLSULFONYL)AMINO]FENYL}ETHYL)ACEETAMIDE

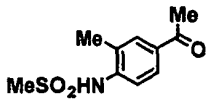


1(a): 4-ACETYL-2-METHYLFENYLTRIFLUORMETHAANSULFONAAT



Aan een geroerde oplossing van 1-(4-hydroxy-3-methylfenyl)ethanon (6,0 g, 40 mmol) in dichloormethaan (100 ml) werden achtereenvolgens trifluormethaansulfonzuuranhydride (8,7 ml, 52 mmol) en triethylamine (10 ml) toegevoegd. Het mengsel werd gedurende 16 uur geroerd bij kamertemperatuur. De reactie werd afgebroken met water en het mengsel geëxtraheerd met dichloormethaan. De organische laag werd gedroogd op natriumsulfaat en in vacuüm geconcentreerd. Het onzuivere materiaal werd gezuiverd door kolomchromatografie over silicagel, waarbij werd geëlueerd met dichloormethaan/ethylacetaat (5:1), hetgeen 9,6 g (85%) titelverbinding als een geelkleurige olie verschafte.
^{1}H-NMR (270 MHz, $CDCl_3$) δ 2,45 (3H, s), 2,62 (3H, s), 7,35 (1H, d, J=8,6 Hz), 7,86 (1H, dd, J=8,6, 2,5 Hz), 7,92 (1H, s).

1(b): N-(4-ACETYL-2-METHYLFENYL)METHAANSULFONAMIDE



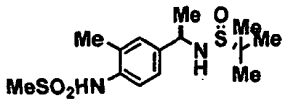
Een reageerbuis voor gebruik in een magnetronoven werd gevuld met tris(dibenzylideenaceton)dipalladium(0)-chloroform-adduct (205 mg, 0,20 mmol), 9,9-dimethyl-9H-xantheen-4,5-diyl)bis[difenylfosfine] (345 mg, 0,60 mmol), 4-acetyl-2-methylfenyltrifluormethaansulfonaat (1,41 g, 5,0 mmol), methaansulfonamide (570 mg, 6,0 mmol) en cesiumcarbonaat (1,63 g, 7,0 mmol). Het mengsel werd gedurende 10 minuten onder roeren onderworpen aan bestraling tot 120°C in de magnetronoven. Het werd gefiltreerd en het filtraat werd in vacuüm geconcentreerd. Het onzuivere ma-

teriaal werd gezuiverd door kolomchromatografie over silicagel, waarbij werd geëlueerd met hexaan/ethylacetaat (2:1), hetgeen 390 mg (34%) titelverbinding als een geelkleurige, vaste stof verschafte.

^{1}H-NMR (270 MHz, $CDCl_3$) δ 2,34 (3H, s), 2,59 (3H, s), 3,11 (3H, s), 6,47 (1H, br.s), 7,58 (1H, d, J=8,1 Hz), 7,84 (2H, m).

MS (ESI): m/z=288 $(M+H)^+$, 226 $(M-H)^-$.

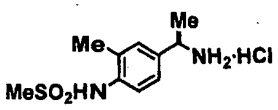
1(c): *N*-[4-((1*R*)-1-{[(*R*)-*TERT*-BUTYLSULFINYL]AMINO}ETHYL)-2-METHYLFENYL]METHAANSULFONAMIDE



Aan een oplossing van titaan(IV)ethoxide (1,32 g, 5,8 mmol) en *N*-(4-acetyl-2-methylfenyl)methaansulfonamide (800 mg, 3,5 mmol) in tetrahydrofuran (20 ml) werd (R)-(+)-2-methyl-2-propaansulfinamide (423 mg, 350 mmol) toegevoegd onder een stikstofatmosfeer en het mengsel werd gedurende 16 uur verhit tot 70°C. De reactie werd afgebroken met water en het ontstane witte neerslag werd afgefiltreerd. Het filtraat werd verdeeld tussen ethylacetaat en water. De organische laag werd gedroogd op natriumsulfaat en in vacuüm geconcentreerd. Het onzuivere materiaal werd gezuiverd door kolomchromatografie over silicagel, waarbij werd geëlueerd met hexaan/ethylacetaat (4:1). De verkregen gele olie werd opgelost in tetrahydrofuran (10 ml) en de oplossing werd toegevoegd aan natriumboorhydride (242 mg, 6,4 mmol) in tetrahydrofuran (10 ml) van -70°C. Het mengsel werd gedurende 5 uur geroerd bij -70°C en de reactie vervolgens afgebroken met methanol. Het reactiemengsel werd gedurende 1 uur geroerd bij kamertemperatuur en in vacuüm geconcentreerd, hetgeen 530 mg (45%) titelverbinding verschafte.

MS (ESI): m/z=333 $(M+H)^+$, 331 $(M-H)^-$.

1(d): *N*-{4-[(1*R*)-1-AMINOETHYL]-2-METHYLFENYL}METHAANSULFONAMIDE-HYDROCHLORIDE

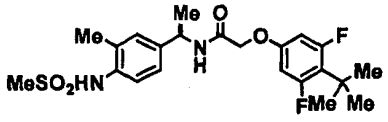


Aan *N*-[4-((1*R*)-1-{[(*R*)-*tert*-butylsulfinyl]amino}-ethyl)-2-methylfenyl]methaansulfonamide (530 mg, 1,60 mmol) werden HCl-methanol (2,0 M, 5,0 ml) en 1,4-dioxaan (5,0 ml) toegevoegd. De oplossing werd gedurende 30 minuten geroerd bij kamertemperatuur en vervolgens in vacuüm geconcentreerd. Diethylether werd toegevoegd om amine-hydrochloride neer te slaan. Het neerslag werd vervolgens afgefiltreerd en gewassen met diethylether (450 mg, kwant.), hetgeen de titelverbinding als een witte, vaste stof verschafte.

^{1}H-NMR (270 MHz, DMSO-d6) δ 1,45 (3H, m), 2,31 (3H, s), 2,98 (3H, s), 4,27 (1H, m), 7,31-7,38 (3H, m).

MS (ESI): m/z=227 $(M-H)^-$.

1(e): 2-(4-*TERT*-BUTYL-3,5-DIFLUORFENOXY)-*N*-((1*R*)-1-{3-METHYL-4-[(METHYLSULFONYL)AMINO]FENYL}ETHYL)ACEETAMIDE



Aan een oplossing van (4-*tert*-butyl-3,5-difluorfenoxy)azijnzuur (166 mg, 0,68 mmol) in tetrahydrofuran (THF) (3,0 ml) werd bij kamertemperatuur 2-chloor-1,3-dimethylimidazoliniumchloride (CDI) (110 mg, 0,68 mmol) toegevoegd en het mengsel werd gedurende 2 uur geroerd, waarna de toevoeging van triethylamine (0,5 ml) en *N*-{4-[(1*R*)-1-aminoethyl]-2-methylfenyl}methaansulfonamide-hydrochloride (180 mg, 0,68 mmol) volgde, waarna nog 10 uur werd geroerd. Het reactiemengsel werd verdeeld met water en dichloormethaan en de organische laag werd afgescheiden en

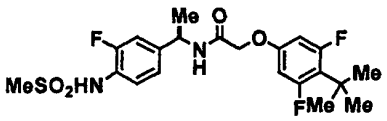
gedroogd op natriumsulfaat. Vervolgens gaven filtratie en afdamping onder verminderde druk het onzuivere residu dat werd gezuiverd door kolomchromatografie over silicagel, waarbij werd geëlueerd met dichloormethaan/methanol=5:1 tot 5:2, hetgeen 116 mg (38%) titelverbinding als een witte, vaste stof verschafte.

^{1}H-NMR (270 MHz, $CDCl_3$) δ 1,43 (9H, s), 1,53 (3H, d, J=6,6 Hz), 2,31 (3H, s), 3,02 (3H, s), 4,44 (2H, d, J=3,3 Hz), 5,16 (1H, m), 6,25 (1H, br.s), 6,41 (2H, d, J=12 Hz), 6,64 (1H, d, J=7,9 Hz), 7,16 (2H, m), 7,42 (1H, d, J=8,6 Hz).

MS (ESI): m/z=445 $(M+H)^+$, 443 $(M-H)^-$.

VOORBEELD 2

2-(4-*TERT*-BUTYL-3,5-DIFLUORFENOXY)-*N*-((1*R*)-1-{3-FLUOR-4-[(METHYLSULFONYL)AMINO]FENYL}ETHYL)ACEETAMIDE



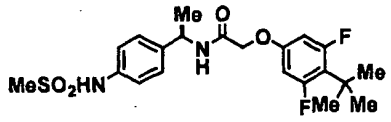
(4-*tert*-Butyl-3,5-difluorfenoxy)azijnzuur (166 mg, 0,68 mmol), 2-chloor-1,3-dimethylimidazoliniumchloride (CDI) (110 mg, 0,68 mmol), triethylamine (0,5 ml) en *N*-{4-[(1*R*)-1-aminoethyl]-2-fluorfenyl}methaansulfonamide-hydrochloride (183 mg, 0,68 mmol) werden gemengd door middel van dezelfde procedure als beschreven in voorbeeld 1 (e), hetgeen 115 mg (37%) titelverbinding als een witte, vaste stof gaf.

^{1}H-NMR (270 MHz, $CDCl_3$) δ 1,43 (9H, s), 1,53 (3H, d, J=6,6 Hz), 3,02 (3H, s), 4,45 (2H, d, J=2,9 Hz), 5,17 (1H, m), 6,41 (2H, d, J=12 Hz), 6,68 (2H, m), 7,09 (2H, t, J=8,1 Hz), 7,53 (1H, t, J=8,1 Hz).

MS (ESI): m/z=459 $(M+H)^+$, 457 $(M-H)^-$.

VOORBEELD 3

2-(4-*TERT*-BUTYL-3,5-DIFLUORFENOXY)-*N*-((1*R*)-1-{4-[(METHYLSULFONYL)AMINO]FENYL}ETHYL)ACEETAMIDE



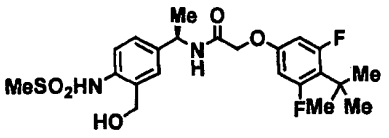
((4-*tert*-Butyl-3,5-difluorfenoxy)azijnzuur (147 mg, 0,60 mmol), 2-chloor-1,3-dimethylimidazoliniumchloride (CDI) (102 mg, 0,63 mmol), triethylamine (0,5 ml) en *N*-{4-[(1*R*)-1-aminoethyl]fenyl}methaansulfonamide-hydrochloride (150 mg, 0,60 mmol) werden gemengd door middel van dezelfde werkwijze als beschreven in voorbeeld 1(e), hetgeen 167 mg (63%) titelverbinding als een witte, vaste stof gaf.

^{1}H-NMR (270 MHz, $CDCl_3$) δ 1,43 (9H, s), 1,54 (3H, d, J=7,3 Hz), 3,01 (3H, s), 4,44 (2H, d, J=2,6 Hz), 5,19 (1H, m), 6,40 (2H, d, J=12 Hz), 6,65 (1H, m), 7,19 (2H, J=8,6 Hz), 7,31 (2H, d, J=8,6 Hz).

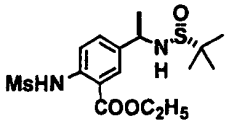
MS (ESI): m/z=441 $(M+H)^+$, 439 $(M-H)^-$.

VOORBEELD 4

2-(4-*TERT*-BUTYL-3,5-DIFLUORFENOXY)-*N*-((1*R*)-1-{3-(HYDROXYMETHYL)-4-[(METHYLSULFONYL)AMINO]FENYL}ETHYL)ACETOAMIDE



4(a): ETHYL-5-((1*R*)-1-{[(1*R*)-*TERT*-BUTYLSULFINYL]AMINO}-ETHYL)-2-[(METHYLSULFONYL)AMINO]BENZOAAT

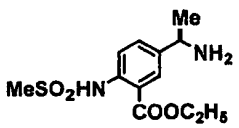


Aan een mengsel van methyl-5-acetyl-2-[(methylsulfonyl)amino]benzoaat (13,2 g, 49 mmol, PCT Internationale octrooiaanvrage WO 2005003084) in titaan(IV)ethoxide (100 ml) en tetrahydrofuran (THF) (100 ml) werd (R)-(+)-2-methylpropaan-2-sulfinamide (5,9 g, 49 mmol, Advanced Asymmetry) toegevoegd en het mengsel gedurende 16 uur geroerd bij 80°C. Men liet het mengsel afkoelen tot kamertemperatuur en vervolgens tot 0°C voordat het druppelsgewijs bij 0°C werd toegevoegd aan een oplossing van natriumboorhydride (7,4 g, 195 mmol). Het mengsel werd gedurende 3 uur geroerd bij 0°C en vervolgens liet men het opwarmen tot kamertemperatuur. De reactie werd afgebroken met methanol en het mengsel werd gedurende 30 minuten geroerd. Aan het mengsel werd water toegevoegd en het werd gedurende 10 minuten geroerd. De ontstane suspensie werd gefiltreerd door een laag Celite en de filterkoek gewassen met ethylacetaat. Het filtraat werd geconcentreerd onder verminderde druk, hetgeen het residu gaf dat werd opgebracht op een chromatografiekolom met silicagel. Er werd geëlueerd met een mengsel van dichloormethaan en ethylacetaat (1:1), hetgeen 4,3 g (23% opbrengst) titelverbinding als een enigszins gele, vaste stof verschafte.

^{1}H-NMR (270 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 1,24 (9H, s), 1,43 (3H, t, J=6,8 Hz), 1,53 (3H, d, J=6,6 Hz), 3,07 (3H, s), 3,39 (1H, br.s), 4,41 (2H, k, J=6,8 Hz), 4,55 (1H, m), 7,56 (1H, dd, J=8,6, 2,0 Hz), 7,74 (1H, d, J=9,2 Hz), 8,06 (1H, d, J=2,0 Hz), 10,49 (1H, br.s).

MS (ESI): m/z= 391 $[M+H]^+$, 389 $(M-H)^-$.

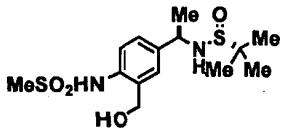
4(b): ETHYL-5-[(1R)-1-AMINOETHYL]-2-[(METHYLSULFONYL)AMINO]BENZOAAT



Aan een oplossing van ethyl-5-((1*R*)-{[(*R*)-*tert*-butylsulfinyl]amino}ethyl)-2-[(methylsulfonyl)amino]benzoaat (4,3 g, 11 mmol) in methanol (30 ml) werd een oplossing van waterstofchloride in methanol (30 ml) toegevoegd. De oplossing werd gedurende 30 minuten geroerd bij kamertemperatuur en vervolgens geconcentreerd onder verminderde druk. Het residu werd herkristalliseerd met methanol-diethylether. Het neerslag werd vervolgens afgefiltreerd, gewassen met diethylether en verzameld, hetgeen 3,1 g (87% opbrengst) titelverbinding als een witte, vaste stof verschafte.

^{1}H-NMR (270 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,34 (3H, t, J=7,3 Hz), 1,49 (3H, d, J=7,3 Hz), 1,49 (3H, d, J=7,3 Hz), 3,19 (3H, s), 4,36 (2H, k, J=7,3 Hz), 4,45 (1H, m), 7,61 (1H, d, J=8,6 Hz), 7,75 (1H, dd, J=8,6, 2,0 Hz), 8,09 (1H, d, J=2,0 Hz), 8,35 (2H, br.s), 10,14 (1H, br.s).

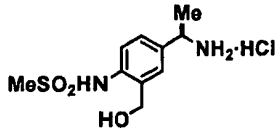
4(c): *N*-[4-((1*R*)-1-{[(*R*)-*TERT*-BUTYLSULFINYL]AMINO}ETHYL)-2-(HYDROXYMETHYL)FENYL]METHAANSULFONAMIDE



Aan een mengsel van lithiumaluminiumhydride (1,6 g, 43 mmol) in tetrahydrofuran (THF) (50 ml) werd een oplossing van ethyl-5-((1*R*)-1-{[(*R*)-*tert*-butylsulfinyl]amino}-ethyl)-2-[(methylsulfonyl)amino]benzoaat (4,2 g, 11 mmol) in tetrahydrofuran (THF) (100 ml) bij 0°C toegevoegd. Na gedurende 3 uur bij 0°C te zijn geroerd, werden kaliumfluoride en natriumsulfaatdecahydraat toegevoegd. Na gedurende 5 uur te zijn geroerd, werd het reactiemengsel gefiltreerd en het filtraat ingedampt onder verminderde druk, hetgeen 3,6 g (97% opbrengst) titelverbinding als een enigszins gele olie gaf.

MS (ESI): m/z=391 $[M+H]^+$, 389 $[M-H]^-$.

4(d): *N*-[4-[(1*R*)-1-AMINOETHYL]-2-(HYDROXYMETHYL)FENYL]METHAANSULFONAMIDE-HYDROCHLORIDE

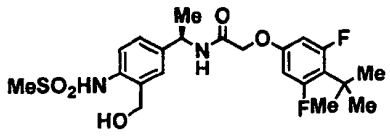


Aan een oplossing van *N*-[4-((1*R*)-1-{[(*R*)-*tert*-butylsulfinyl]amino}ethyl)-2-(hydroxymethyl)fenyl]methaansulfonamide (3,6 g, 10 mmol) in methanol (30 ml) werd een oplossing van waterstofchloride-methanol (30 ml) toegevoegd. De oplossing werd gedurende 30 minuten geroerd bij kamertemperatuur en vervolgens geconcentreerd onder verminderde druk. Het verkregen residu werd herkristalliseerd uit methanol-diethylether. Het neerslag werd vervolgens afgefiltreerd, gewassen met diethylether en verzameld, hetgeen 2,5 g (87% opbrengst) titelverbinding als een gele olie verschafte.

^{1}H-NMR (270 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,51 (3H, t, J=6,6 Hz), 3,01 (3H, s), 4,36 (1H, m), 4,63 (2H, s), 7,34 (1H, d, J=7,9 Hz), 7,45 (1H, dd, J=7,9, 2,0 Hz), 7,58 (1H, d, J=2,0 Hz), 8,56 (2H, br.s), 9,13 (1H, br.s).

MS (EMI): m/z=243 $(M-H)^-$.

4(e): 2-(4-*TERT*-BUTYL-3,5-DIFLUORFENOXY)-*N*-((1*R*)-1-{3-(HYDROXYMETHYL)-4-[(METHYLSULFONYL)AMINO]FENYL}ETHYL)ACEETAMIDE



Aan een oplossing van *N*-[4-[(1*R*)-1-aminoethyl]-2-(hydroxymethyl)fenyl]methaansulfonamide-hydrochloride (40 mg, 0,14 mmol) in *N*,*N*-dimethylformamide (DMF) (2 ml) werden (4-*tert*-butyl-3,5-difluorfenoxy)azijnzuur (34 mg, 0,14 mmol), *N*-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide (40

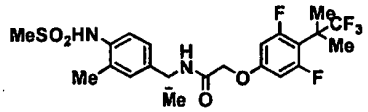
mg) en 4-dimethylaminopyridine (DMAP) (0,5 mg, 0,004 mmol) toegevoegd. De oplossing werd gedurende 16 uur geroerd bij kamertemperatuur en vervolgens verdeeld tussen ethylacetaat en water. De organische laag werd gedroogd op natriumsulfaat, gefiltreerd en ingedampt. Het verkregen residu werd gezuiverd door kolomchromatografie over silicagel, waarbij werd geëlueerd met methyleenchloride/ethylacetaat (1:1), hetgeen 2-(4-*tert*-butyl-3,5-difluorfenoxy)-*N*-((1*R*)-1-{3-(hydroxymethyl)-4-[(methylsulfonyl)amino]fenyl}ethyl)aceetamide (24 mg, 36%) gaf.

^{1}H-NMR (270 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,43 (9H, s), 1,52 (3H, d, J=7,3 Hz), 2,75 (1H, br.s), 3,03 (3H, s), 4,40 (2H, d, J=4,0 Hz), 4,71 (2H, br.s), 5,14 (1H, m), 6,40 (2H, d, J=12 Hz), 6,68 (1H, d, J=7,9 Hz), 7,17 (1H, d, J=2,6 Hz), 7,24 (1H, d, J=2,6 Hz), 7,50 (1H, d, J=8,6 Hz), 7,84 (1H, br.s).

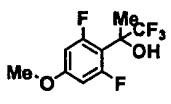
MS (ESI): m/z=469 $[M-H]^-$.

VOORBEELD 5

2-[3,5-DIFLUOR-4-(2,2,2-TRIFLUOR-1,1-DIMETHYLETHYL)FENOXY]-*N*-((1*R*)-1-{3-METHYL-4-[(METHYLSULFONYL)AMINO]FENYL}-ETHYL)ACEETAMIDE



5a) 2-(2,6-DIFLUOR-4-METHOXYFENYL)-1,1,1-TRIFLUORPROPAAN-2-OL



Aan een oplossing van 1,3-difluor-5-methoxybenzeen (7 g, 48,6 mmol) in tetrahydrofuran (100 ml) werd een 1,6 M oplossing van *n*-butyllithium in hexaan (30 ml, 48,6 mmol) gedurende 30 minuten druppelsgewijs toegevoegd bij -78°C.

Het mengsel werd gedurende 2 uur geroerd bij -78°C. 1,1,1-Trifluoraceton (6,5 g, 58,3 mmol) werd toegevoegd bij -78°C en het mengsel gedurende 2 uur geroerd bij -78°C, waarna gedurende nog 1 uur bij kamertemperatuur werd geroerd. Vervolgens werd het reactiemengsel verdund met water en het product geëxtraheerd met ethylacetaat. Vervolgens werd de organische laag gefiltreerd en drooggedampt. Het residu werd gezuiverd door kolomchromatografie over silicagel, waarbij werd geëlueerd met hexaan/ethylacetaat (10:1), hetgeen 9,7 g (78% opbrengst) titelverbinding als een kleurloze olie verschafte.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 270 MHz) δ ppm 1,83-1,85 (3H, m), 3,94 (3H, s), 6,17 (1H, s), 6,49-6,60 (2H, m)

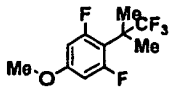
5b) 2-(1-CHLOOR-2,2,2-TRIFLUOR-1-METHYLETHYL)-1,3-DIFLUOR-5-METHOXYBENZEEN



Een oplossing van 2-(2,6-difluor-4-methoxyfenyl)-1,1,1-trifluorpropaan-2-ol (8,7 g, 34,1 mmol) en pyridine (26 mg, 0,34 mmol) in thionylchloride (25 ml) werd gedurende 3 uur geroerd bij 70°C. Vervolgens werd het reactiemengsel in vacuüm geconcentreerd en verdund met water. Het product werd geëxtraheerd met hexaan en de organische laag gedroogd op natriumsulfaat, gefiltreerd en geconcentreerd. hetgeen 8,84 g (94% opbrengst) titelverbinding als een kleurloze olie verschafte.

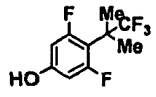
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 270 MHz) δ ppm 2,24-2,29 (3H, m), 3,81 (3H, s), 6,44-6,54 (2H, m).

5c) 1,3-DIFLUOR-5-METHOXY-2-(2,2,2-TRIFLUOR-1,1-DIMETHYLETHYL)BENZEEN



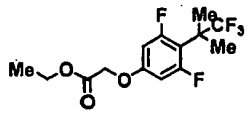
Aan een oplossing van 2-(1-chloor-2,2,2-trifluor-1-methylethyl)-1,3-difluor-5-methoxybenzeen (8,84 g, 32,2 mmol) in cyclohexaan (100 ml) werd een 1,0 M oplossing van trimethylaluminium in hexaan (129 ml, 129 mmol) toegevoegd bij kamertemperatuur en het mengsel gedurende 4 uur geroerd onder terugvloeiing. Vervolgens werd de reactie afgebroken met 2 *N* zoutzuur en het product geëxtraheerd met hexaan. Dit werd gedroogd op natriumsulfaat, gefiltreerd en ingedampt, hetgeen 7,9 g (97% opbrengst) titelverbinding als een kleurloze olie gaf.
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ ppm 1,71 (6H, s), 3,78 (3H, s), 6,39-6,49 (2H, m).

5d) 3,5-DIFLUOR-4-(2,2,2-TRIFLUOR-1,1-DIMETHYLETHYL)FENOL



Een mengsel van 1,3-difluor-5-methoxy-2-(2,2,2-trifluor-1,1-dimethylethyl)benzeen (7,93 g, 31,2 mmol) en een 1M oplossing van boortribromide in dichloormethaan (150 ml, 150 mmol) werd gedurende 16 uur geroerd bij kamertemperatuur. Vervolgens werd de reactie afgebroken met water, en het product geëxtraheerd met ethylacetaat en gedroogd op natriumsulfaat. Vervolgens verschaften filtratie, indamping, zuivering door kolomchromatografie over silicagel, waarbij werd geëlueerd met hexaan/ethylacetaat (10:1) 7,79 g (kwant.) titelverbinding als een bruine, vaste stof.
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 270 MHz) δ ppm 1,71 (6H, s), 5,27 (1H, brs), 6,36-6,50 (2H, m).

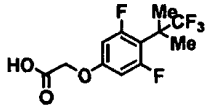
5e) ETHYL[3,5-DIFLUOR-4-(2,2,2-TRIFLUOR-1,1-DIMETHYL-ETHYL)FENOXY]ACETAAT



Een suspensie van 3,5-difluor-4-(2,2,2-trifluor-1,1-dimethylethyl)fenol (227 mg, 0,95 mmol), ethylbroomacetaat (174 mg, 1,0 mmol) en kaliumcarbonaat (261 mg, 1,9 mmol) in aceton (5 ml) werd gedurende 1 uur geroerd onder terugvloeiing. Vervolgens werd de reactie afgebroken met water en het product geëxtraheerd met ethylacetaat. De organische laag werd gedroogd op natriumsulfaat, gefiltreerd en ingedampt, hetgeen 267 mg (87% opbrengst) titelverbinding als een kleurloze olie verschafte.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 270 MHz) δ ppm 1,31 (3H, t, J=6,9 Hz), 1,70-1,73 (6H, m), 4,29 (2H, k, J=6,9 Hz), 4,58 (2H, s), 6,39-6,49 (2H, m).

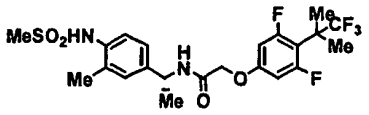
5f) [3,5-DIFLUOR-4-(2,2,2-TRIFLUOR-1,1-DIMETHYLETHYL)FENOXY]AZIJNZUUR



Aan oplossing van ethyl[3,5-difluor-4-(2,2,2-trifluor-1,1-dimethylethyl)fenoxy]acetaat (267 mg, 0,82 mmol) in tetrahydrofuran (1 ml) en methanol (1,5 ml) werd 2N natriumhydroxideoplossing in water (1 ml) toegevoegd en het mengsel gedurende 30 minuten geroerd bij 60°C. Nadat de reactie was verlopen, werd het basische mengsel aangezuurd met 2N zoutzuur, het product geëxtraheerd met ethylacetaat en gedroogd op natriumsulfaat. De organische laag werd gefiltreerd en geconcentreerd, hetgeen 242 mg (99% opbrengst) titelverbinding als een bruine, vaste stof gaf.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 270 MHz) δ ppm 1,69-1,72 (6H, m), 4,66 (2H, s), 6,42-6,50 (2H, m)
MS (ESI): m/z=297 $(M-H)^-$.

5g) 2-[3,5-DIFLUOR-4-(2,2,2-TRIFLUOR-1,1-DIMETHYLETHYL)FENOXY]-*N*-((1*R*)-1-{3-METHYL-4-[(METHYLSULFONYL)AMINO]FENYL}-ETHYL)ACEETAMIDE



Aan een oplossing van [3,5-difluor-4-(2,2,2-trifluor-1,1-dimethylethyl)fenoxy]azijnzuur (120 mg, 0,40 mmol), *N*-{4-[(1*R*)-1-aminoethyl]-2-methylfenyl}methaansulfonamide-hydrochloride (116 mg, 0,44 mmol) en triethylamine (121 mg, 1,2 mmol) in *N*,*N*-dimethylformamide (4 ml) werd 2-(1H-benzotriazool-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumhexafluor-fosfaat (HBTU) (182 mg, 0,48 mmol) toegevoegd en het mengsel werd gedurende 1 uur geroerd bij kamertemperatuur. Vervolgens werd de reactie afgebroken met verzadigde natriumbicarbonaatoplossing in water, het product geëxtraheerd met ethylacetaat/hexaan (3:1) en gedroogd op natriumsulfaat. Vervolgens werd de organische laag gefiltreerd en geconcentreerd. Het residu werd gezuiverd door kolomchromatografie over silicagel, waarbij werd geëlueerd met hexaan/ethylacetaat (1:1) en preparatieve HPLC, waarbij werd geëlueerd met acetonitril/0,05% mierenzuuroplossing in water (32:68 tot 68:32), hetgeen 102 mg (50% opbrengst) titelverbinding als een witte, vaste stof verschafte.
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ ppm 1,52 (3H, d, J=7,3 Hz), 1,70-1,74 (6H, m), 2,31 (3H, s), 3,03 (3H, s), 4,40-4,52 (2H, m), 5,14-5,22 (1H, m), 6,16 (1H, brs), 6,42-6,53 (2H, m), 6,58-6,60 (1H, m), 7,15-7,25 (2H, m), 7,42 (1H, d, J=8,8 Hz)
MS (ESI): m/z=509 $(M+H)^+$, 507 $(M-H)^-$.

Alle hierboven beschreven voorbeelden werden beproefd in de humaan VR1-antagonistassay en de hierboven beschreven HLM-testwerkwijze voor de halfwaardetijd.

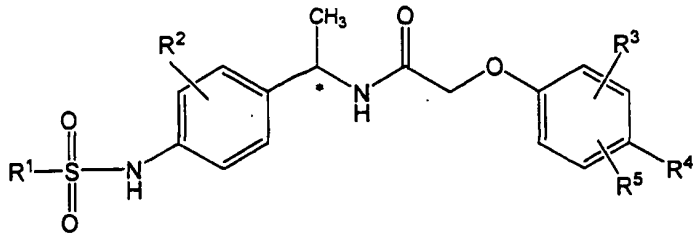
Tabel 1. Resultaten van humaan VR1-antagonistassay en halfwaardetijd in HLM

Voorbeeld	hVR1 IC_{50} (nM)	Halfwaardetijd in HLM (min)
1	3,13	31
2	31,29	12
3	34,39	48
4	8,70	5,8
5	7,55	13

- IC_{50}: De concentratie van de individuele verbinding die nodig is om de door capsaïcine veroorzaakte Ca^{2+}-instroom met 50% te verminderen.

CONCLUSIES

1. Verbinding met de formule (I):



(I)

waarin R^1 staat voor (C_1-C_6)alkyl,

R^2 staat voor waterstof, halogeen, hydroxy, (C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkoxy, hydroxy(C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkyl of halogeen(C_1-C_6)alkyl,

R^3 staat voor een halogeenatoom, (C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkoxy, hydroxy(C_1-C_6)alkoxy, (C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkoxy, halogeen(C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkylthio, (C_1-C_6)alkylsulfinyl, (C_1-C_6)alkylsulfonyl, [(C_1-C_6)alkyl]NH- of [(C_1-C_6)alkyl]$_2$N-,

R^4 staat voor een halogeenatoom, (C_1-C_6)alkyl, halogeen(C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkoxy, hydroxy(C_1-C_6)alkoxy, (C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkoxy, [(C_1-C_6)alkyl]NH- of [(C_1-C_6)alkyl]$_2$N-,

R^5 staat voor een halogeenatoom, (C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkoxy, hydroxy(C_1-C_6)alkoxy, (C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkoxy, halogeen(C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkylthio, (C_1-C_6)alkylsulfinyl, (C_1-C_6)alkylsulfonyl, [(C_1-C_6)alkyl]NH-, [(C_1-C_6)alkyl]$_2$N-, H_2N-(C_1-C_6)alkoxy, (C_1-C_6)alkyl-NH-(C_1-C_6)alkoxy, [(C_1-C_6)alkyl]$_2$N(C_1-C_6)alkoxy, H_2N-(C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkyl, (C_1-C_6)alkyl-NH-(C_1-C_6)al-

koxy-(C_1-C_6)alkyl of [(C_1-C_6)alkyl]$_2$N(C_1-C_6)alkoxy-(C_1-C_6)alkyl voorstelt en

* een chiraal centrum aanduidt,

of een farmaceutisch aanvaardbaar zout of solvaat daarvan.

2. Verbinding volgens conclusie 1, waarin R^1 staat voor methyl.

3. Verbinding volgens conclusie 1 of conclusie 2, waarin R^2 staat voor waterstof, hydroxy, hydroxymethyl, fluor, chloor of methoxy.

4. Verbinding volgens één van de conclusies 1-3, waarin R^3 staat voor halogeen of (C_1-C_3)alkoxy.

5. Verbinding volgens één van de conclusies 1-4, waarin R^3 staat voor fluor.

6. Verbinding volgens één van de conclusies 1-5, waarin R^4 staat voor (C_1-C_6)alkyl of halogeen(C_1-C_6)alkyl.

7. Verbinding volgens één van de conclusies 1-6, waarin R^4 staat voor *tert*-butyl of 2,2,2-trifluor-1,1-dimethylethyl.

8. Verbinding volgens één van de conclusie 1-7, waarin R^5 staat voor halogeen of (C_1-C_3)alkoxy.

9. Verbinding volgens één van de conclusies 1-8, waarin R^5 staat voor fluor.

10. Verbinding volgens één van de conclusies 1-9 gekozen uit:

2-(4-*tert*-butyl-3,5-difluorfenoxy)-*N*-(1-{3-methyl-4-[(methylsulfonyl)amino]fenyl}ethyl)aceetamide,

2-(4-*tert*-butyl-3,5-difluorfenoxy)-*N*-(1-{3-fluor-4-[(methylsulfonyl)amino]fenyl}ethyl)aceetamide,

2-(4-*tert*-butyl-3,5-difluorfenoxy)-*N*-(1-{4-[(methylsulfonyl)amino]fenyl}ethyl)aceetamide,

2-(4-*tert*-butyl-3,5-difluorfenoxy)-*N*-(1-{3-hydroxymethyl-4-[(methylsulfonyl)amino]fenyl}ethyl)aceetamide en

2-(4-(2,2,2-trifluor-1,1-dimethylethyl)-3,5-difluorfenoxy)-*N*-(1-{3-methyl-4-[(methylsulfonyl)amino]fenyl}-ethyl)aceetamide,

of een farmaceutisch aanvaardbaar zout of solvaat daarvan.

11. Verbinding volgens één van de conclusies 1-10, waarbij de verbindingen met de formule (I) de (R)-stereochemie hebben op de positie die wordt aangeduid met *.

12. Farmaceutisch preparaat dat een verbinding met de formule (I), of een farmaceutisch aanvaardbaar zout of solvaat daarvan, volgens één van de conclusies 1-11, tezamen met een farmaceutische aanvaardbare excipiënt omvat.

13. Verbinding met de formule (I), of een farmaceutisch aanvaardbaar zout of solvaat daarvan, volgens één van de conclusies 1-11, voor het gebruik als een geneesmiddel.

14. Gebruik van een verbinding met de formule (I), of een farmaceutisch aanvaardbaar zout, solvaat of preparaat daarvan, volgens één van de conclusies 1-12, voor de vervaardiging van een geneesmiddel voor de behandeling van een ziekte waarvoor een VR1-antagonist geïndiceerd is.

15. Gebruik volgens conclusie 14, waarbij de ziekte wordt gekozen uit acute cerebrale ischemie, pijn, chronische pijn, neuropathische pijn, pijn door ontsteking, post-herpetische neuralgie, neuropathieën, neuralgie, diabetische neuropathie, neuropathie in verband met HIV, zenuwletsel, reumatoïde artritititische pijn, osteoartritische pijn, brandwonden, pijn in de rug, viscerale pijn, pijn door kanker, kiespijn, hoofdpijn, migraine, carpale-tunnelsyndroom, fibromyalgie, neuritis, sciatica, bekkenovergevoeligheid, bekkenpijn, menstruatiepijn, ziekte van de blaas, zoals incontinentie, mictiestoornis, nierkolieken en cystitis, ontsteking, zoals brandwonden, reumatoïde artritis en osteoartritis, neurodegeneratieve ziekte, zoals beroerte, pijn na beroerte en multipele sclerose, pulmonale ziekte, zoals astma, hoesten, chronische obstructieve pulmonale ziekte (COPD) en bronchoconstrictie, gastro-intestinale ziekte, zoals gastro-oesophageale refluxziekte (Gastroesophageal Reflux Disease; GERD), dysfagie, ulcer, prikkelbare-darm-syndroom (Irritable Bowel

Syndrome; IBS), ontstekingsziekte van de darmen (Inflammatory Bowel Disease; IBD), colitis en ziekte van Crohn, ischemie, zoals cerebrovasculaire ischemie, emesis, zoals emesis die wordt veroorzaakt door chemotherapie tegen kanker, en obesitas.

16. Gebruik volgens conclusie 14 of conclusie 15, waarbij de ziekte pijn is.

17. Combinatie van een verbinding met de formule (I), volgens één van de conclusies 1-11, of een farmaceutisch aanvaardbaar zout of solvaat daarvan, en een ander farmacologisch actief middel.

*****

Octrooiaanvrage Nr: 1031335

RAPPORT BETREFFENDE HET ONDERZOEK NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK

Van belang zijnde literatuur

Categorie [1]	Vermelding van literatuur met aanduiding, voor zover nodig, van speciaal van belang zijnde tekstgedeelten of figuren.	Van belang voor conclusie(s) Nr.:	International Patent Classification (IPC)
A	WO 2005/003084 A (DIGITALBIOTECH) 13 januari 2005 * conclusie 1 * --- WO 02/16318 A (PACIFIC CORP) 28 februari 2002 * conclusie 1 * --- WO 2006/051378 A (PFIZER JAPAN INC) 18 mei 2006 * heeft een gelijke prioriteit als de aanvraag, maar ook een oudere * -----	1-18 1-18 1-18	C07C311/08 A61K31/18 A61P29/00
A			
L			
			Onderzochte gebieden van de techniek, gedefinieerd volgens IPC 8
			C07D A61K
			Computerbestanden
			EPODOC REGISTRY (STN) CAPLUS (STN) MARPAT (STN)

Indien gewijzigde conclusies zijn ingediend, heeft dit rapport betrekking op de conclusies ingediend op:

Omvang van het onderzoek: Volledig

Onderzochte conclusies: Alle

Niet (volledig) onderzochte conclusies met redenen: [2] Hoewel conclusie 17 een medische werkwijze lijkt te betreffen, welke volgens Artikel 7, lid 2, Rijksoctrooiwet 1995, niet worden beschouwd als uitvindingen die vatbaar zijn voor toepassing op het gebied van de nijverheid, is het onderzoek uitgevoerd en gebaseerd op de vermeende effecten van de verbinding/samenstelling

Datum waarop het onderzoek werd voltooid:	13 september 2006	Vooronderzoeker:	Dr. R.B. Boers

[1] Verklaring van de categorie-aanduiding: zie apart blad.

[2] Op grond van artikel 3:45 j° de artikelen 6:4 en 6:7 van de Algemene wet bestuursrecht, kan aanvrager tegen de niet-eenheidsbeslissing bezwaar maken bij het Bureau voor de Industriële Eigendom, binnen 6 weken na de bekendmaking van deze beslissing.

Categorie van de vermelde literatuur:

X: op zichzelf van bijzonder belang zijnde stand van de techniek
Y: in samenhang met andere geciteerde literatuur van bijzonder belang zijnde stand van de techniek
A: niet tot de categorie X of Y behorende van belang zijnde stand van de techniek
O: verwijzend naar niet op schrift gestelde stand van de techniek
P: literatuur gepubliceerd tussen voorrangs- en indieningsdatum
T: niet tijdig gepubliceerde literatuur over theorie of principe ten grondslag liggend aan de uitvinding
E: colliderende octrooiaanvrage
D: in de aanvrage genoemd
L: om andere redenen vermelde literatuur
&: lid van dezelfde octrooifamilie; corresponderende literatuur

AANHANGSEL BEHORENDE BIJ HET RAPPORT BETREFFENDE HET ONDERZOEK NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK, UITGEVOERD IN OCTROOIAANVRAGE NR. 1031335

Het aanhangsel bevat een opgave van elders gepubliceerde octrooiaanvragen of octrooien (zogenaamde leden van dezelfde octrooifamilie), die overeenkomen met octrooigeschriften genoemd in het rapport.
De opgave is samengesteld aan de hand van gegevens uit het computerbestand van het Europees Octrooibureau per **18 september 2006**

De juistheid en volledigheid van deze opgave wordt noch door het Europees Octrooibureau, noch door Octrooicentrum Nederland gegarandeerd; de gegevens worden verstrekt voor informatiedoeleinden.

In het rapport genoemd octrooi-geschrift	datum van publicatie	overeenkomend(e) geschrift(en)	datum van publicatie
WO2005003084 A	2005-01-13		
		AU2004253808 A	2005-01-13
WO0216318 A	2002-02-28		
		CA2417507 A	2002-02-28
		AU8022901 A	2002-03-04
		KR2002039226 A	2002-05-25
		EP1303483 A	2003-04-23
		CN1418191 A	2003-05-14
		JP2004506713T T	2004-03-04
		NZ523882 A	2004-11-26
		MXPA03001535 A	2004-12-13
WO2006051378 A	2006-05-18		
		NL1030382 A	2006-05-11

Algemene informatie over dit aanhangsel is gepubliceerd in de 'Official Journal' van het Europees Octrooibureau nr 12/82 blz 448 ev