

PATENTOVÝ SPIS

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2000-4129**
(22) Přihlášeno: **10.05.1999**
(30) Právo přednosti: **11.05.1998 DK 19980636**
01.07.1998 DK 199800875
(40) Zveřejněno: **13.06.2001**
(Věstník č. 6/2001)
(47) Uděleno: **19.11.2009**
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **30.12.2009**
(Věstník č. 52/2009)
(86) PCT číslo: **PCT/DK1999/000260**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 1999/058501**

(11) Číslo dokumentu:

301 276

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

C07D 209/08 (2006.01)
C07D 211/60 (2006.01)
C07D 211/62 (2006.01)
C07D 401/06 (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01)
A61K 31/4427 (2006.01)
A61K 31/445 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)
A61P 5/06 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:

WO 98/10653 A1; WO 95/13069 A1; WO 96/35713 A1; WO 96/38471 A1; GB 2 308 064 A; WO 96/32943 A1; WO 97/36873 A1; WO 98/16527 A1.

(73) Majitel patentu:

NOVO NORDISK A/S, Bagsvaerd, DK

(72) Původce:

Hansen Thomas Kruse, Herlev, DK
Ankersen Michael, Frederiksberg, DK

(74) Zástupce:

PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1, Praha 4,
14000

(54) Název vynálezu:

**Piperidinový derivát vykazující schopnost
uvolňování růstového hormonu**

(57) Anotace:

Piperidinový derivát vykazující schopnost uvolňovat růstový hormon u savců. Tyto látky jsou aktivní složkou farmaceutických přípravků pro léčení onemocnění vyplývajících z nedostatku růstového hormonu.

CZ 301276 B6

Piperidinový derivát vykazující schopnost uvolňování růstového hormonu

Oblast techniky

5

Vynález se vztahuje k novým sloučeninám, obzvláště 4,4-disubstituovaným a 3,3-disubstituovaným piperidinovým sloučeninám, přípravkům, které je obsahují, a jejich použití pro léčení zdravotních obtíží vyvolaných nedostatkem růstového hormonu.

10

Dosavadní stav techniky

Růstový hormon je hormon, který stimuluje růst všech tkání schopných růstu. Kromě toho je růstový hormon také znám tím, že má mnoho efektů na metabolické procesy, například stimulaci syntézy proteinů a mobilizace volných mastných kyselin a způsobuje přepínání v energetickém metabolismu z cukrů na metabolismus mastných kyselin. Nedostatek růstového hormonu může vyústit v mnohé vážné lékařské poruchy, jako je např. zakrslost.

Růstový hormon se uvolňuje z podvěsku mozkového. Uvolňování je pod přísnou kontrolou mnoha hormonů a neurotransmiterů, a to jak přímo, tak i nepřímo. Uvolňování růstového hormonu může být stimulováno hormonem uvolňujícím růstový hormon (GHRH) a inhibováno somatostatinem. V obou případech jsou hormony vylučovány z podvěsku mozkového, ale jejich působení je primárně mediováno prostřednictvím specifických receptorů umístěných v podvěsku mozkovém. Byly popsány i další sloučeniny, které stimulují uvolňování růstového hormonu z podvěsku mozkového. Například arginin, L-3,4-dihydroxyfenylalanin (L-Dopa), glukagon, vasopresin, PACAP (hypofýzní peptid aktivující adenylycyklázu), agonisté muskarinových receptorů a syntetický hexapeptid, endogenní růstový hormon uvolňující GHRP (peptid uvolňující růstový hormon) buď přímým působením na podvěsek mozkový, nebo ovlivněním uvolňování GHRH a/nebo somatostatinem z hypotalamu.

30

U poruch nebo u případů, kde je vyžadována snížená koncentrace růstového hormonu, činí proteinová podstata růstového hormonu nemožným jiný způsob podávání než parenterální podávání. Kromě toho, další přímo působící přírodní činidla stimulující produkci enzymů jako např. GHRH a PACAP jsou delší polypeptidy, u nichž je proto preferováno parenterální podávání.

35

Použití konkrétních sloučenin pro zvyšování koncentrace růstového hormonu u savců již bylo dříve navrženo např. v EP 18 072, EP 83 864, WO 89/07110, WO 89/01711, WO 89/10933, WO 88/9780, WO 83/02272, WO 91/18016, WO 92/01711, WO 93/04081, WO 95/17422, WO 95/17423, WO 95/14666, WO 94/19367, WO 95/34311, WO 96/02530, WO 96/15148, WO 96/13265, WO 96/22997, WO 96/35713, WO 96/38471, WO 96/32943, WO 97/00894, WO 97/06803, WO 97/09060, WO 97/07117, WO 97/11697, WO 97/12620, WO 97/23508, WO 97/24369 a WO 97/34604.

40

Přípravky obsahující sloučeniny uvolňující růstový hormon jsou důležité pro jejich schopnost uvolňovat růstový hormon stejně jako pro jejich biodostupnost. Je tedy předmětem tohoto vynálezu zajištění nových sloučenin se schopností uvolňovat růstový hormon. Kromě toho je předmětem tohoto vynálezu zajištění nových sloučenin uvolňujících růstový hormon (činidlo stimulující produkci růstového hormonu), které jsou specifické a/nebo selektivní a nemají žádné nebo jen minimální vedlejší efekty, jako jsou uvolňování LH (luteinizační hormon), FSH (hormon stimulující folikul), TSH (hormon stimulující štítnou žlázu), ACTH (adrenokortikotropní hormon), vasopresinu, oxytocinu, kortisolu a/nebo prolaktinu. Je také předmětem tohoto vynálezu zajištění sloučenin, které jsou dobře biodostupné orálním podáváním.

45

50

Podstata vynálezu

Souhrn vynálezu

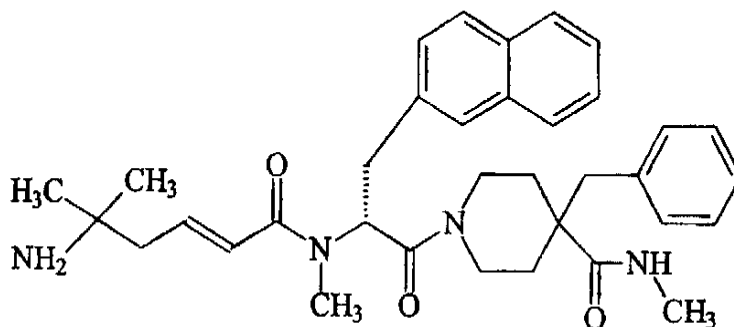
- 5 V souladu s tímto vynálezem jsou zajištěny nové sloučeniny, které působí přímo na buňky podvěsku mozkového za normálních experimentálních podmínek in vitro a tím uvolňují růstový hormon.

- 10 Tyto sloučeniny schopné uvolňovat růstový hormon mohou být použity v in vitro výzkumných technikách pro porozumění, mimo jiné, jak je regulována sekrece růstového hormonu na úrovni podvěsku mozkového.

Kromě toho mohou být nové sloučeniny uvolňující růstový hormon podle tohoto vynálezu podávány in vivo za účelem zvýšení uvolňování endogenního růstového hormonu.

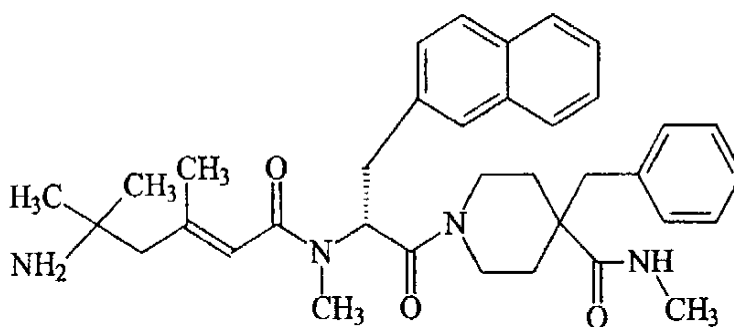
- 15 V širokém slova smyslu se tento vynález vztahuje k piperidinovým derivátům vybraným z:

methyamid 1-((2R)-2-[N-((2E)-5-amino-5-methylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(2-naftyl)propionyl)-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny

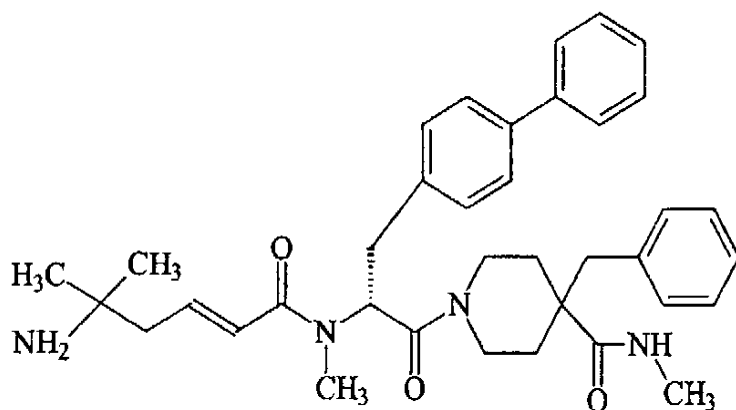


20

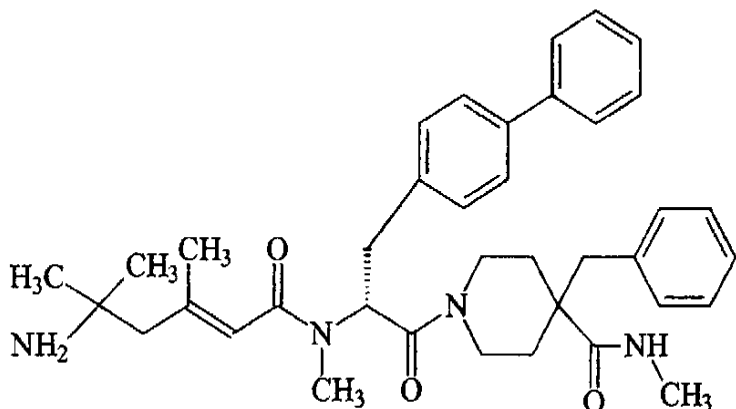
methyamid 1-((2R)-2-[N-((2E)-5-amino-3,5-dimethylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(2-naftyl)propionyl)-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



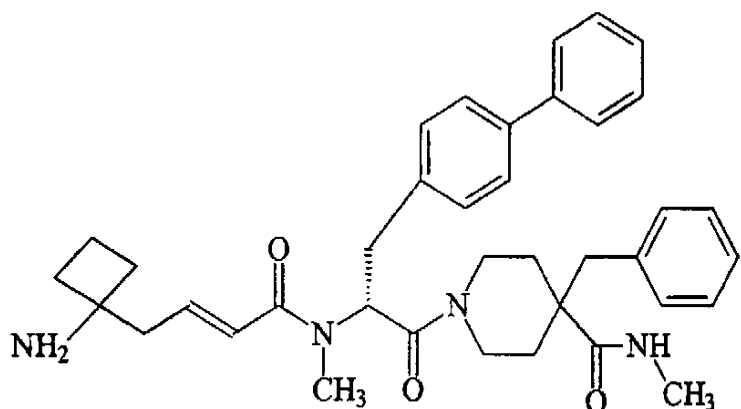
methylamid 1-[(2R)-2-[N-((2E)-5-amino-5-methylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(bifenyl-4-yl)propionyl]-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



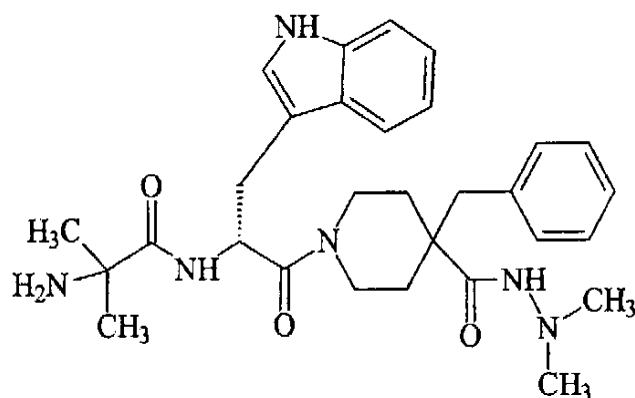
5 methylamid 1-[(2R)-2-[N-((2E)-5-amino-3,5-dimethylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(bifenyl-4-yl)propionyl]-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



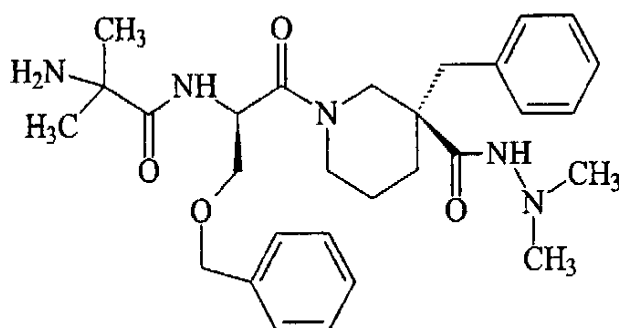
methylamid 1-[(2R)-2-[N-((2E)-4-(1-aminocyklobutyl)but-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(bifenyl-4-yl)propionyl]-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



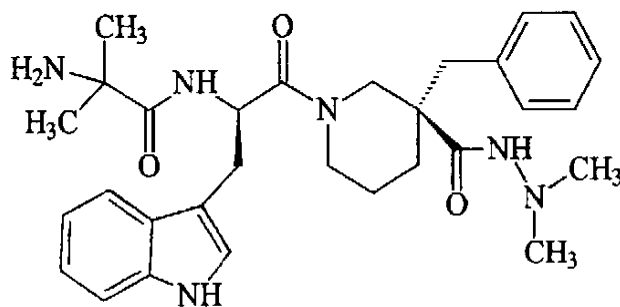
2-amino-N-[(1R)-2-[4-benzyl-4-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl]-2-methylpropionamid



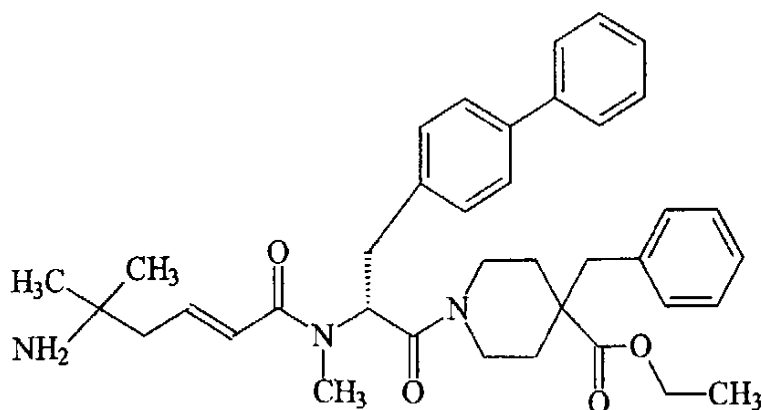
5 2-amino-N-[(1R)-2-[(3R)-3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-benzylloxymethyl-2-oxoethyl]-2-methylpropionamid



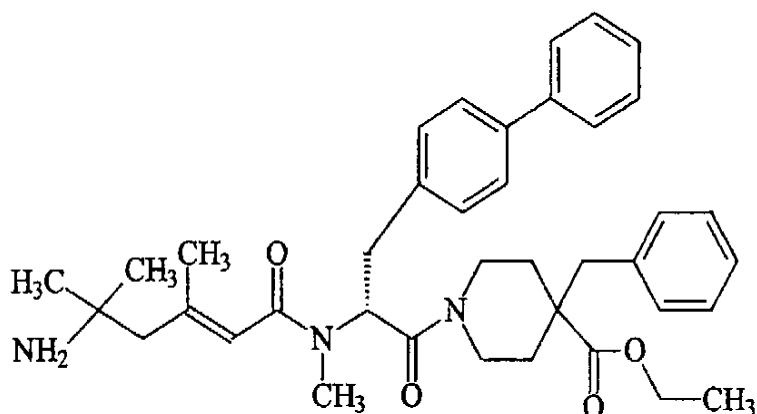
2-amino-N-[(1R)-2-[(3R)-3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl]-2-methylpropionamid



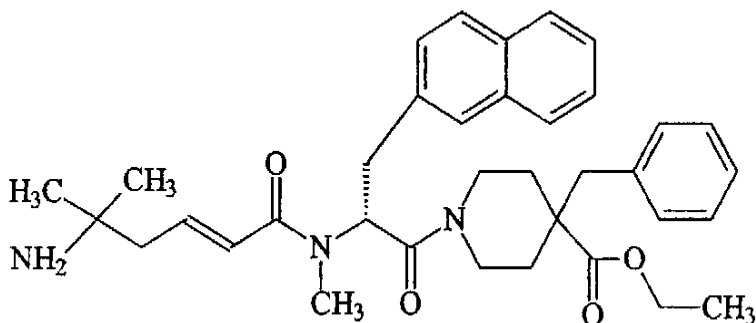
10 ethylester 1-[(2R)-2-[N-((2E)-5-amino-5-methylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(biphenyl-4-yl)propionyl]-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



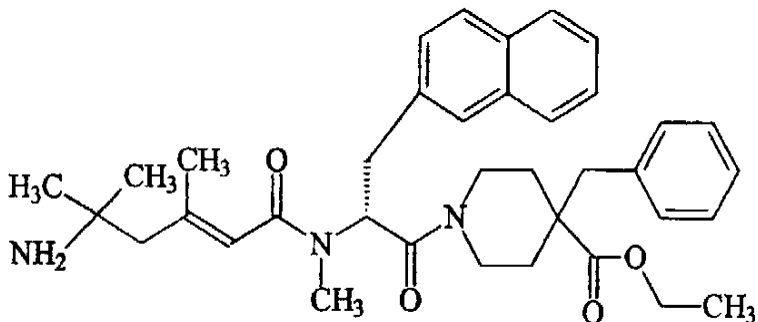
ethylester 1-[(2R)-2-[N-((2E)-5-amino-3,5-dimethylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(biphenyl-4-yl)propionyl]-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



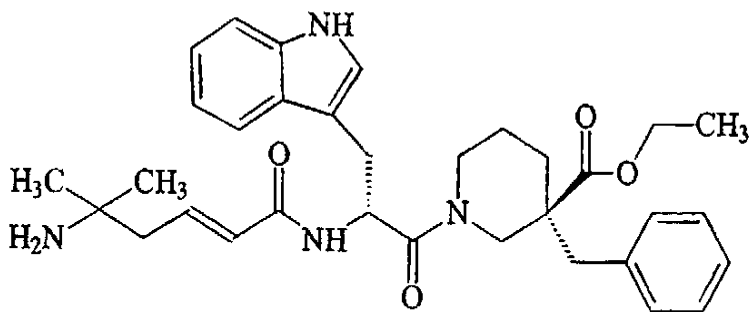
5 ethylester 1-[(2R)-2-[N-((2E)-5-amino-5-methylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(2-naftyl)propionyl]-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



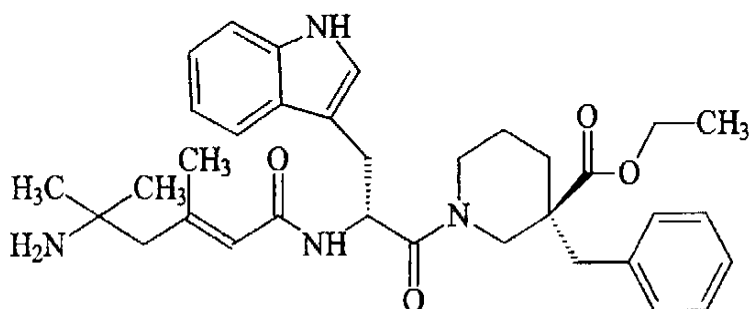
ethylester 1-[(2R)-2-[N-((2E)-5-amino-3,5-dimethylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(2-naftyl)propionyl]-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



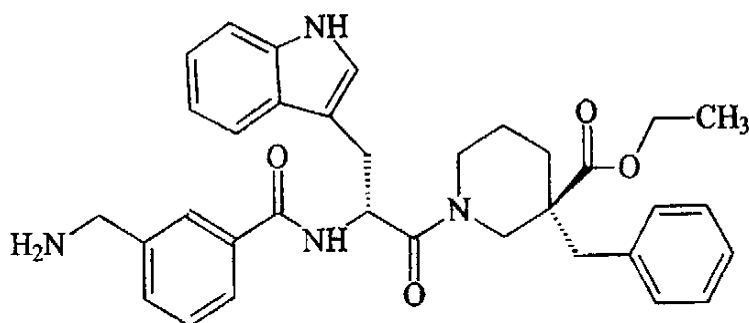
10 ethylester (3S)-1-[(2R)-2-((2E)-5-amino-5-methylhex-2-enoylamino)-3-(1H-indol-3-yl)propionyl]-3-benzylpiperidin-3-karboxylové kyseliny



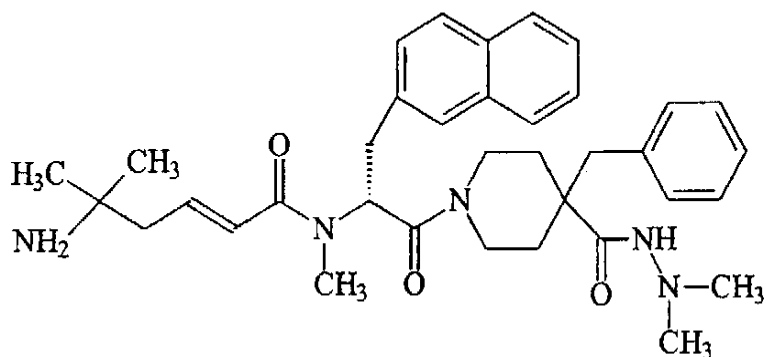
ethylester (3S)-1-[(2R)-2-((2E)-5-amino-3,5-dimethylhex-2-enoylamino)-3-(1H-indol-3-yl)propionyl]-3-benzylpiperidin-3-karboxylové kyseliny



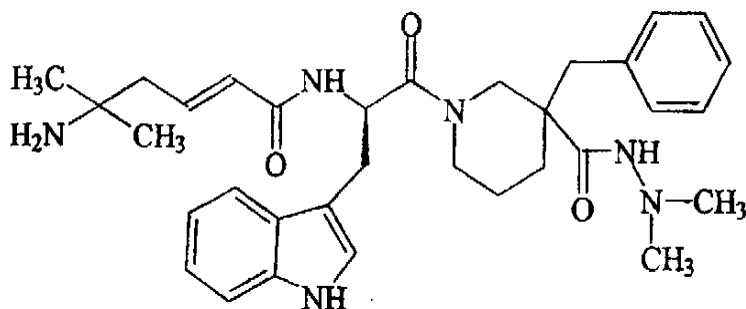
5 ethylester (3S)-1-[(2R)-2-(3-(aminomethyl)benzoylamino)-3-(1H-indol-3-yl)propionyl]-3-benzylpiperidin-3-karboxylové kyseliny



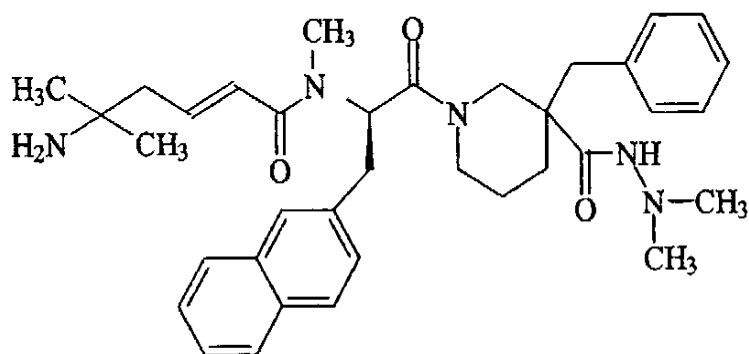
N-[(1R)-2-[4-benzyl-4-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((2-naftyl)methyl)-2-oxoethyl]-N-methylamid(2E)-5-amino-5-methylhex-2-enové kyseliny



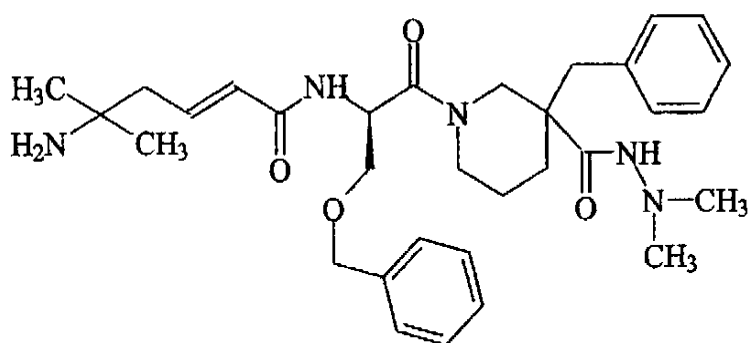
10 N-[(1R)-2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-(1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl]amid(2E)-5-amino-5-methylhex-2-enové kyseliny



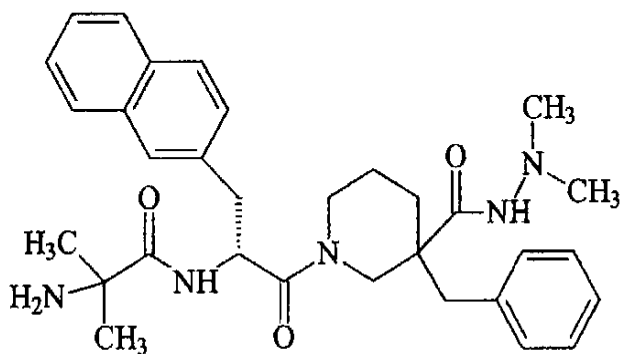
N-((1R)-2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((2-naftyl)methyl-2-oxoethyl)-N-methylamid(2E)-5-amino-5-methylhex-2-enové kyseliny



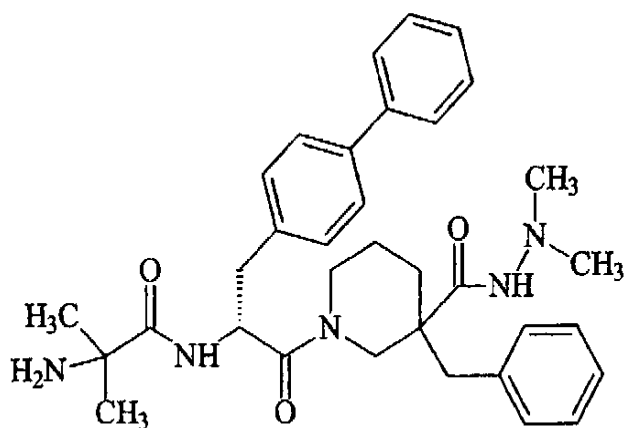
5 { (1R)-2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-(benzyloxy-methyl)-2-oxoethyl}amid(2E)-5-amino-5-methylhex-2-enové kyseliny



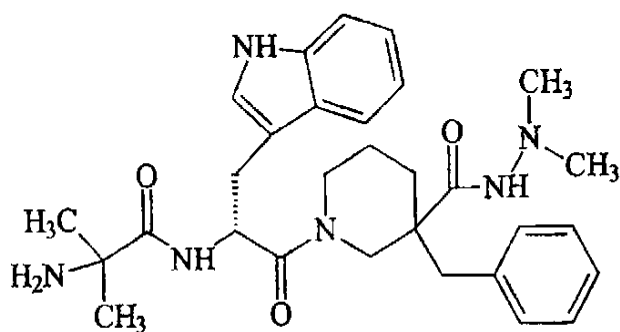
2-amino-N-{2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((2-naftyl)methyl)-2-oxoethyl]-2-methylpropionamid



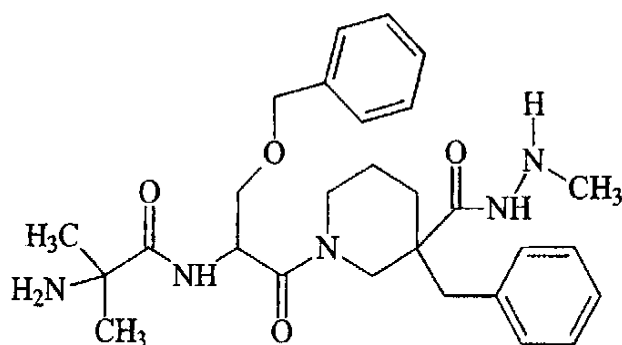
10 2-amino-N-((1R)-2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((bifenyl-4-yl)methyl)-2-oxoethyl)-2-methylpropionamid



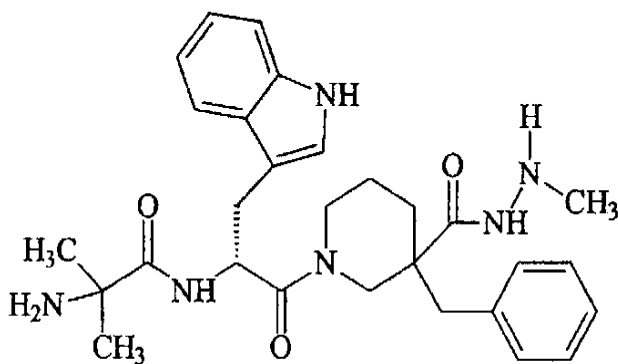
2-amino-N-((1R)-2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((1H-indol-3-yl)-methyl)-2-oxoethyl)-2-methylpropionamid



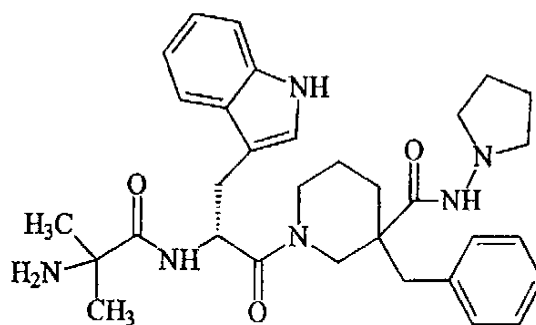
5 2-amino-N-{2-[3-benzyl-3-(N'-methylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-(benzyloxy-methyl)-2-oxoethyl}-2-methylpropionamid



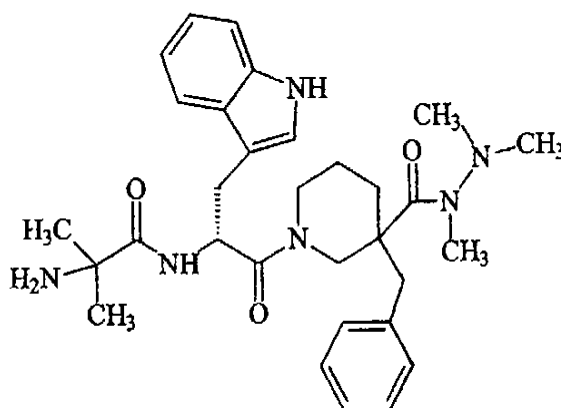
2-amino-N-((1R)-2-[3-benzyl-3-(N'-methylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl)-2-methylpropionamid



10 1-[(2R)-2-(2-amino-2-methylpropionylamino)-3-(1H-indol-3-yl)propionyl]-3-benzyl-piperidin-3-karboxylová kyselina, (pyrrolidin-1-yl)amid



2-amino-N-((1R)-2-[3-benzyl-3-(N,N',N'-trimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl)-2-methylpropionamid



a jejich farmakologicky akceptovatelné soli.

5

Sloučeniny podle tohoto vynálezu mohou mít jedno nebo více asymetrických center (chirální uhlíková centra) a jsou zamýšleny jako stereoizomery, proto jsou v rámci tohoto vynálezu zahrnuty separované stereoizomery, čisté nebo částečně čištěné stereoizomery nebo jejich racemické směsi.

10

Sloučeniny podle tohoto vynálezu mohou tvořit farmakologicky akceptovatelné soli vytvořené jako farmakologicky akceptovatelné adiční soli kyselin sloučenin, které zahrnují takové soli, které se připravují reakcí sloučenin s anorganickou nebo organickou kyselinou, jako je chlorovodík, bromovodík, kyselina sírová, kyselina octová, kyselina fosforečná, kyselina mléčná, kyselina maleinová, kyselina mandlová, kyselina fthalová, kyselina citronová, kyselina glutarová, kyselina glukonová, kyselina methansulfonová, kyselina salicylová, kyselina jantarová, kyselina vinná, kyselina toluensulfonová, kyselina trifluoroctová, kyselina sulfamová nebo kyselina fumarová a/nebo voda.

15

20

Sloučenina podle vynálezu může být podávána ve formě farmakologicky akceptovatelné adiční soli s kyselinou nebo, kde je to vhodné, jako sůl alkalického kovu nebo kovu alkalických zemin nebo alkylamonná sůl. Má se za to, že takovéto solné formy vykazují stejný stupeň aktivity jako volné báze.

25

V dalším aspektu se tento vynález vztahuje k farmakologickým přípravkům zahrnujícím jako aktivní složku sloučeninu podle vynálezu nebo její farmakologicky akceptovatelnou sůl společně s farmakologicky akceptovatelným nosičem nebo ředidlem.

30

Farmaceutické přípravky obsahující sloučeninu podle tohoto vynálezu mohou být připraveny pomocí konvenčních metod, např. popsaných v Remington's Pharmaceutical Sciences, 1985 nebo v Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19. Edition (1995). Přípravky mohou být v konvenčních formách, např. ve formě kapslí, tablet, aerosolů, roztoků, suspenzí nebo místních přípravků.

35

Použitý farmaceutický nosič nebo ředidlo mohou být konvenční tuhé látky nebo kapalné nosiče. Příklady tuhých nosičů jsou laktosa, terra alba, sacharosa, cyklodextrin, talek, želatina, agar, pektin, akácie, stearat horečnatý, kyselina stearová nebo nižší alkylethery celulózy. Příklady kapalných nosičů zahrnují sirup, arašídový olej, olivový olej, fosfolipidy, mastné kyseliny, aminy mastných kyselin, polyoxyethylen nebo voda.

40

Podobně, nosič nebo ředidlo může zahrnovat libovolný materiál s postupným uvolňováním známý v oboru, jako jsou glycerin monostearát nebo glycerin distearát samotný nebo ve směsi s voskem.

Je-li použit tuhý nosič pro orální podávání, přípravek může být tabletován, umístěn v tuhé želatinové kapsli v prášku nebo peletách nebo může být ve formě pastilek nebo bonbónků. Množství tuhého nosiče se bude široce lišit, bude ovšem obvykle od 25 mg do asi 1 g. Je-li použit kapalný nosič, mohou být přípravky ve formě sirupu, emulze, měkké želatinové kapsle nebo sterilní kapaliny pro injekci, jako jsou vodné nebo nevodné kapalné suspenze nebo roztoky.

Typická tableta může být připravena konvenční tabletovací technikou a může obsahovat:

10 Jádrem:

Aktivní sloučenina (jako volná báze nebo její sůl)	100 mg
Koloidní oxid křemičitý (Aerosil)	1,5 mg
Celulóza, mikrokrytalická (Avicel)	70 mg
15 Modifikovaná celulózová guma (Ac-Di-Sol)	7,5 mg
Stearát horečnatý	

Povlak:

20 HPMC (hydroxypropylmethylcelulóza) přibl.	9 mg
*Mywacett 9-40 T přibl.	0,9 mg

*Acylovaný monoglycerid použitý jako plastifikátor pro povlakový film.

25 Pro nasální podávání mohou přípravky obsahovat sloučeninu podle vynálezu rozpuštěnou nebo suspendovanou v kapalném nosiči, obzvláště ve vodném nosiči, pro aerosolové aplikace. Nosič může obsahovat aditiva, jako jsou činidla usnadňující rozpouštění, např. propylenglykol, surfaktanty, zesilovače absorpce, jako jsou lecithin (fosfatidylcholin) nebo cyklodextrin, nebo preserva-tiva jako parabeny.

30

Obecně, sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou podávány ve formě jednotkové dávky obsahující od 50 do 200 mg aktivní sloučeniny společně s farmaceuticky akceptovatelným nosičem.

35 Dávkování sloučenin podle tohoto vynálezu je vhodně od 0,01 do 500 mg za den, např. od asi 5 mg do asi 50 mg, asi 10 mg na dávku, je-li podávána pacientům (člověku) jako lék.

V dalším aspektu se tento vynález vztahuje k farmaceutickým přípravkům v jednotkové dávkové formě, zahrnující jako aktivní složku od asi 10 do 200 mg sloučeniny podle vynálezu nebo její farmaceuticky akceptovatelné soli.

40

Bylo ukázáno, že sloučeniny podle vynálezu vykazují schopnost vylučovat endogenní růstový hormon in vivo. Sloučeniny mohou být tedy použity pro léčení podmínek vyžadujících zvýšení koncentrace růstového hormonu v plazmě, jako je nedostatek růstového hormonu u lidí nebo u přestárých pacientů nebo u dobytka.

45

V jednom aspektu se tedy tento vynález vztahuje k farmaceutickému přípravku pro stimulaci uvolňování růstového hormonu z podvěsku mozkového, přičemž přípravek zahrnuje jako aktivní složku sloučeninu podle vynálezu nebo její farmaceuticky akceptovatelnou sůl společně s farma-ceuticky akceptovatelným nosičem nebo ředidlem.

50

Ještě v dalším aspektu se tento vynález vztahuje k použití sloučeniny podle vynálezu nebo farma-ceutického přípravku pro přípravu léčiv pro stimulaci uvolňování růstového hormonu z podvěsku mozkového.

Odborníkům v oboru je známo, že použití růstového hormonu u lidí se může lišit a může být různorodé v závislosti na okolnostech. Tak, sloučeniny podle vynálezu mohou být podávány za účelem stimulace uvolňování růstového hormonu z podvěsku mozkového a měly by mít podobný efekt jako použití růstového hormonu samotného. Sloučeniny podle vynálezu jsou užitečné pro stimulaci vylučování růstového hormonu u starých pacientů, pro prevenci katabolických vedlejších účinků glukokortikoidů, prevenci a/nebo léčení osteoporosy, léčení chronického únavového syndromu (CFS), léčení akutního únavového syndromu a ztráta svalů po výběrové chirurgii, stimulaci imunitního systému, urychlení léčení poranění, urychlení nápravy fraktury kostí, urychlení fraktury kostí, např. distrakce osteogeneze, léčení atrofie po zlomeninách, léčení růstové retardace, léčení růstové retardace vyplývající z nefunkčních ledvin nebo ledvinové nedostatečnosti, léčení kardiomyopatie, léčení chronického onemocnění jater, léčení trombocytopenie, léčení Crohnovy nemoci, léčení syndromu krátkého střeva, léčení chronické obstruktivní plicní nemoci (COPD), léčení komplikací po transplantacích, léčení fyziologického nízkého vzrůstu zahrnující dětský nedostatek růstového hormonu a nízký vzrůst spojený s chronickou nemocí, léčení obezity a růstové retardace spojené s obezitou, léčení anorexie, léčení růstové retardace spojené s Prader-Willi syndromem a Turnerovým syndromem; zvyšování rychlosti růstu u pacientů majících částečně syndrom nesensitivity, což vede k urychlení rychlosti vyléčení a ke zkrácení hospitalizace u pacientů; léčení retardace intrauterinní, skeletální dysplasie, hyperkortikolismus a Cushingův syndrom; zavedení pulzujícího uvolňování hormonu, náhrada růstového hormonu u stresovaných pacientů, léčení osteochondrodysplasie, Noonanův syndrom, schizofrenie, deprese, Alzheimerovy nemoci, odložené léčení při poranění a psychosociální deprivace, léčení pulmonární dysfunkce, léčení nesprávné srdeční funkce, léčení nebo prevence infarktu myokardu, snížení krevního tlaku, ochrana proti ventrikulární dysfunkci nebo prevenci reperfuze, léčení dospělých při chronické dialýze, zmírnění katabolické odezvy po velkých chirurgických zákrocích, snížení kachexie a ztráty proteinů díky chronické nemoci, jako je rakovina nebo AIDS; léčení hyperinsulinemie včetně nesidioblastosy, léčení indukce ovulace, ke stimulaci hypofýzního rozvoje a pro prevenci ochabování thymických bází, léčení pacientů se sníženým stupněm thyminové funkce, léčení sarkopenie, léčení ochabnutí vyplývajících z AIDS, upravení svalového tonusu, tloušťku svalové pohyblivosti, metabolická homeostáze, renální homeostáze, stimulaci osteoblastů, remodelování kostí a růst chrupavek, regulace příjmu potravin, stimulace imunitního systému v souvislosti se zvířaty, léčení poruch při stárnutí doprovázejících zvířat, povzbuzení růstu u domácího zvířectva a stimulace růstu vlny u ovcí, léčení metabolického syndromu (syndrom X), léčení insulinové resistance, včetně NIDDM (diabetes mellitus nezávislý na inzulínu), u savců, to jest u lidí, zlepšení kvality spánku, korekce relativního hypsomatotropismu při stárnutí vzhledem k vysokému zvýšení REM rychlých pohybů očí) spánku a snížení REM latence a léčení hypothermie. Léčení je také zamýšleno tak, aby obsahovalo profylaktické léčení.

Pro výše uvedené indikace se budou dávky lišit v závislosti na použité sloučenině podle vynálezu, na způsobu podávání a na požadované terapii. Ovšem, obecně se budou denní dávky podávané pacientům nebo zvířatům za účelem uvolnění endogenního růstového hormonu pohybovat mezi 0,0001 a 100 mg/kg hmotnosti těla. Kromě toho, sloučeniny podle vynálezu nemají žádné nebo jen malé vedlejší efekty, jsou-li podávány ve výše uvedených dávkách, přičemž těmito efekty jsou např. uvolňování LH, FSH, TSH, ACTH, vasopresinu, oxytocinu, kortisolu a/nebo prolaktinu. Obvykle dávkové formy vhodné pro podávání orální, nasální, pulmonální nebo transdermální zahrnují od 0,0001 mg do asi 100 mg, s výhodou od 0,001 do 50 mg sloučeniny podle vynálezu smíchané s farmaceuticky akceptovatelným nosičem nebo ředidlem.

Farmaceutický přípravek podle tohoto vynálezu může také případně obsahovat sloučeninu podle vynálezu kombinovanou s jednou nebo více sloučeninami vykazujícími jinou aktivitu, např. antibiotika nebo jiný farmakologicky aktivní materiál.

Způsob podávání může být libovolný způsob, který účinně transponuje aktivní sloučeninu na vhodné nebo požadované místo, tedy orální, nasální, pulmonární, transdermální nebo parenterální, přičemž orální cesta je preferována.

- 5 Kromě farmaceutického využití mohou být sloučeniny podle vynálezu užitečné jako in vitro prostředky pro výzkum regulace uvolňování růstového hormonu.

Sloučeniny podle vynálezu mohou být také užitečné jako in vivo prostředky pro vyhodnocování schopnosti uvolňovat růstový hormon z hypofýzy. Například, vzorky séra odebrané před a po aplikaci těchto sloučenin pacientům mohou být testovány na koncentraci růstového hormonu. Srovnání růstového hormonu v každém vzorku séra by přímo určilo schopnost pacientovy hypofýzy uvolňovat růstový hormon.

15 Sloučeniny podle vynálezu mohou být podávány komerčně důležitým zvířatům za účelem zvýšení rychlosti růstu a zvýšení produkce mléka.

Další využití sloučenin podle vynálezu schopných povzbudit vylučování růstového hormonu spočívá v kombinaci s dalšími podobnými látkami, jako je GHRP (2 nebo 6), GHRH a jeho analogů, růstového hormonu a jeho analogů nebo somatomedinů včetně IGF-1 a IGF-2.

20

Farmakologické metody

Sloučeniny podle vynálezu mohou být vyhodnoceny in vitro na jejich účinnost a schopnost uvolňovat růstový hormon v primární kultuře krysí hypofýzy, přičemž toto stanovení může být provedeno podle následujícího popisu.

25

Izolace buněk krysí hypofýzy je modifikací postupu O. Sartor et al., Endocrinology 116, 1985, str. 952-957. Samci albínů krys Sprague-Dawley (250 +/- 25 g) byli získáni od Mollegaard, Lilie Skensved, Dánsko. Krysy byly pěstovány v klecích po skupinách (čtyři zvířata na klec) a umístěny do místnosti s 12 hod denním cyklem. Teplota místnosti se pohybovala od 19 do 24 °C a vzdušná vlhkost od 30 do 60 %.

30

Krysy byly usmrceny a byla vybrána hypofýza. Byly odstraněny neurointermediární laloky a zbývající tkáň byla ihned umístěna do ledem chlazeného ledového pufru (Geyovo médium) (Gibco 041-04030) doplněném s 0,25% D-glukózou, 2% neesenciálními aminokyselinami, 1% albuminem kravského séra (BSA) (Sigma A-4503). Tkáň byla nakrájena na malé kousky a převedena do izolačního pufru doplněném s 3,8 mg/ml trypsinu (Worthington #3707 TRL-3) a 330 mg/ml DNasou (Sigma D-4527). Tato směs byla inkubována při 70 otáčkách za minutu po dobu 35 minut při teplotě 37 °C v atmosféře kyslíku a oxidu uhličitého v poměru 95:5. Tkáň byla poté třikrát promyta výše uvedeným pufrem. S využitím standardní Pasterovy pipety byla poté tkáň nasáta na jednotlivé buňky. Po dispergaci byly buňky zfiltrány přes nylonový filtr (160 nm) za účelem odstranění nestrávených buněk. Suspenze buněk byla třikrát promyta s izolačním pufrem doplněným s inhibitem trypsinu (0,75 mg/ml, Worthington #2829) a konečně znovu suspendována v kultivačním médiu, DMEM (Gibco 041-01965) doplněný s 25 mM HEPES (Sigma H-3375), 4mM glutaminu (Gibco 043-05030H), 0,75% hydrogenuhličitanu sodného (Sigma S-8875), 0,1% neesenciálních aminokyselin, 2,5% séra telecího plodu (FCS, Gibco 011-06290), 3 % koňského séra (Gibco 034-06050), 10% čerstvého krysího séra, 1 nM T₃ (Sigma T-2752) a 40 mg/l dexamethasonu (Sigma D-4902) pH 7,3, s hustotou 2x10⁵ buněk/ml. Buňky byly přeneseny do mikrotitračních destiček (Nunc, Dánsko), 200 ml/jamku, a kultivovány po 3 dny při teplotě 37 °C a 8 % CO₂.

50

Testování sloučenin

Po kultivaci byly buňky promyty dvakrát se stimulačním pufrem (Hanksův vyvážený solný roztok (Gibco 041-04020) doplněný s 1% BSA (Sigma A-4503), 0,25% D-glukózou (Sigma G-

55

5250) a 25 mM HEPES (Sigma H-3375) pH 7,3) a preinkubovány po dobu 1 h při 37 °C. Pufr byl zaměněn za 90 ml stimulačního pufru (37 °C), bylo přidáno 10 ml roztoku testované látky a na deskách bylo inkubováno 15 min při 37 °C a 5% CO₂. Médium bylo dekantováno a analyzováno na obsah GH v rGH SPA testovacím systému.

5

Všechny sloučeniny byly testovány v dávkách pohybujících se od 10 pM do 100 mM. Závislost na dávce byla zkonstruována s využitím Hillovy rovnice (Obr. P, Biosoft). Účinnost (maximální uvolněný GH, E_{max}) byla vyjádřena v % E_{max} GHPR-6. Účinnost (EC₅₀) byla určena jako koncentrace, při níž dochází k polovině maximální stimulace uvolňování GH.

10

Sloučeniny podle vynálezu mohou být vyhodnoceny na jejich metabolickou stabilitu s využitím níže popsané procedury:

15

Sloučeniny se rozpustí při koncentraci 1 mg/ml ve vodě. 25 ml tohoto roztoku je přidáno do 175 ml odpovídajícího enzymového roztoku (vedoucího k poměru enzym/substrát (w/w) přibližně 1:5). Roztok se ponechá přes noc při 37 °C. 10 ml různých degradačních roztoků je analyzováno oproti odpovídajícímu nulovému vzorku s využitím injekční elektrospray hmotové spektroskopie (ESMS) s monitorováním vybraného molekulárního iontu. Jestliže signál poklesl o více než 20 % ve srovnání s nulovým vzorkem, je zbývající roztok analyzován pomocí HPLC a hmotové spektroskopie za účelem přesné identifikace rozsahu a místa degradace.

20

Několik standardních peptidů (ACTH 4–10, Angiotensin 1–14 a Glukagon) bylo zahrnuto do testů stability za účelem ověření schopnosti různých roztoků degradovat peptidy.

25

Standardní peptidy (angiotensin 1–14, ACTH 4–10 a glukagon) byly získány od firmy Sigma (MO, USA).

30

Enzymy (trypsin, chymotrypsin, elastáza aminopeptidáza M a karboxypeptidáza Y a B) byly získány od firmy Boehringer Mannheim GmbH (Mannheim, Německo).

Pankreatická enzymová směs: trypsin, chymotrypsin a elastáza ve 100 ml hydrogenuhličitanu amonného pH 8,0 (všechny koncentrace 0,025 mg/ml).

35

Karboxypeptidázová směs: karboxypeptidáza Y a B v 50 ml octanu amonného pH 4,5 (všechny koncentrace 0,025 mg/ml).

Roztok aminopeptidázy M: aminopeptidáza M (0,025 mg/ml) ve 100 mM hydrogenuhličitanu sodného při pH 8,0.

40

Hmotnostní spektrometrická analýza byla prováděna s využitím dvou různých spektrometrů. Sciex API III LC-MS s trojitým kvadrupolem (Sciex Instruments, Thornhill, Ontario) vybavený s elektrosprejem a přístroj Bio-Ion 20 time-of-flight Plasma Desorption (Bio-Ion Nordic AB, Uppsala, Švédsko).

45

Kvantifikace sloučenin (před a po degradaci) byla prováděna na přístroji API III s využitím single ion monitoringu molekulárního iontu s flow injektáží analytu. Tok kapaliny (MeOH (methyl alkohol) : voda 1:1) 100 ml/min byla kontrolována pomocí ABI 140B HPLC jednotky (Perkin-Elmer Applied Biosystems Divisions, Foster City, CA). Parametry přístroje byly nastaveny na provozní podmínky a SIM monitoring byl prováděn s využitím nejintenzivnějšího molekulárního iontu (ve většině případů odpovídá dvojnásobně nabitému molekulárnímu iontu).

50

Identifikace degradačních produktů kromě toho zahrnovala použití hmotnostní spektrometrie s plazmovou desorcí (PDMS) s aplikací vzorku na terčík potažený nitrocelulózou a se standardním nastavením přístroje. Přesnost takto určených hmot je obecně lepší než 0,1 %.

55

Separace a izolace degradačních produktů byla provedena s využitím HY-TACH C-18 reversní fáze 4,6 x 105 mm HPLC kolony (Hewlett-Packard Company, Palo Alto, CA) se standardním separačním gradientem acetonitril:TFA. Použitý HPLC systém byl HP1090M (Hewlett-Packard Company, Palo Alto, CA).

Peptidový derivát	MW/SIM ion (AMU)	Karboxypeptidázová směs	Pankreatická enzymová směs
Standardy			
5 ACTH 4-10	1124,5/562,8	+	-
Glukagon	3483/871,8	-	-
Insulin (B23-29)	859,1/430,6		
Angiotensin 1-14	1760,1/881,0	-	-
GHRP-2	817,4/409,6	-	-
GHRP-6	872,6/437,4	-	-

+: Stabilní (méně než 20% snížení SIM signálu po 24 h v degradačním roztoku)

–: Nestabilní (více než 20% snížení SIM signálu po 24 h v degradačním roztoku)

10

Příklady provedení vynálezu

15 Přípravy sloučenin podle vynálezu jsou dále ilustrovány pomocí příkladů, které však nejsou zamýšleny jako limitující pro tento vynález.

20 Struktury sloučenin jsou potvrzeny pomocí buď HPLC, NMR (Bruker 400 MHz) nebo LC-MS. NMR posuny (δ) jsou udány v parts per milion (ppm) a jsou uvedeny pouze vybrané píky. Mp označuje teploty tání a jsou udány v °C. Sloupcová chromatografie byla prováděna s využitím techniky popsané v W. C. Still et al., J. Org. Chem., 1978, 43, 2923–2925 na silikagelu Merck silica gel 60 (Art 9385). Sloučeniny použité jako výchozí materiály jsou buď známé, nebo mohou být snadno připraveny metodami známými v oboru. Roztok methanol/amoniak je 10% roztok amoniaku v methanolu.

25 HPLC analýzy:

Metoda A1.

30 Analýza na reverzní fázi byla provedena s využitím UV detekce při 214, 254, 276 a 301 nm na koloně 218TP5 4,6 mm x 250 mm 5m C-18 silikagelu (The Separations Group, Hesperia), která byla eluována při 1 ml za minutu při 42 °C. Kolona byla ekvilibrována s 5% acetonitrilem v pufru obsahujícím 0,1 M síranu amonného, který byl adjustován na pH 2,5 se 4M kyselinou sírovou a po nastříknutí byl vzorek eluován gradientem 5% až 60% acetonitrilu ve stejném pufru během 50 min.

35

Metoda B1.

40 Analýza na reverzní fázi byla provedena s využitím UV detekce při 214, 254, 276 a 301 nm na koloně 218TP5 4,6 mm x 250 mm 5m C-18 silikagelu (The Separations Group, Hesperia), která byla eluována při 1 ml za minutu při 42 °C. Kolona byla ekvilibrována s 5% (acetonitril + 0,1%

TFA) ve vodném roztoku TFA ve vodě (0,1 %). Po nastříknutí byl vzorek eluován gradientem 5% až 60% (acetonitril + 0,1% TFA) ve stejném pufru během 50 min.

LC-MS analýza:

LC-MS analýza byla prováděna na PE Sciex API 100 LC/MS Systém s využitím kolony Waters® 3 mm x 150 mm 3,5 m C-18 a s pozitivním ionsprejem s rychlostí toku 20 ml/min. Kolona byla eluována s lineárním gradientem 5 až 90% acetonitril, 85 až 0% voda a 10% trifluoroctové kyseliny (0,1%)/voda během 15 min při rychlosti toku 1 ml/min.

Zkratky:

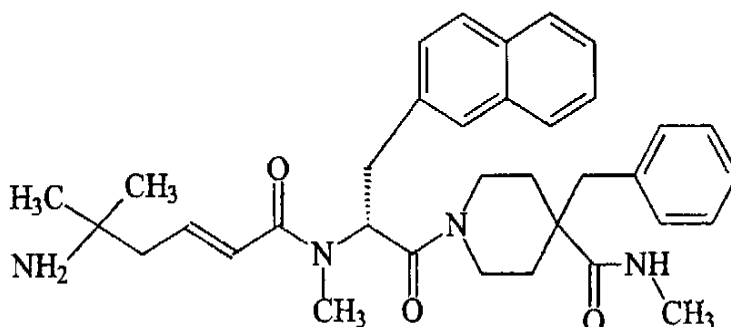
TLC:	tenko vrstva chromatografie
DMSO:	dimethylsulfoxid
min:	minuty
h:	hodiny
Boc:	terc-butoxykarbonyl
DMF:	dimethylformamid
THF:	tetrahydrofuran
EDAC:	N-ethyl-N'-dimethylaminopropylkarbodiimid hydrochlorid
HOAt:	1-hydroxy-7-azabenzonitriazol
DIEA:	diisopropylethylamin
TFA:	trifluoroctová kyselina

Stavební kameny:

N-methylované aminokyseliny použité v následujících příkladech byly připraveny podle Can. J. Chem. 1977, 55, 906.

Příklad 1

methyamid 1-((2R)-2-[N-((2E)-5-amino-5-methylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(2-naftyl)propionyl)-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



Krok A

N-terc-butoxykarbonyl-4-benzylpiperidin-4-karboxylová kyselina

Ethylester N-terc-butoxykarbonyl-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny (připravený podle Gilligan et al., J. Med. Chem. 1994, 364-370 s využitím benzylbromidu jako alkylačního činidla) (11,0 g, 32 mmol) byl refluxován 7 hodin ve směsi ethanol (190 ml) a vodný roztok hydroxidu

sodného (18%, 190 ml). Objem směsi byl zredukován na jednu třetinu ve vakuu a pH bylo adjustováno na 3 pomocí hydrogensíranu sodného. Pak byla ke směsi přidána voda (300 ml) a směs byla extrahována s ethylacetátem (2 x 250 ml). Spojené organické fáze byly odpařeny za vzniku 8,6 g N-terc-butoxykarbonyl-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny.

¹H NMR: δ (CDCl₃) 1,45 (s, 9H), 1,5 (m(br), 2H), 2,08 (m(br), 2H), 2,88 (m(br), 2H), 2,89 (s, 2H), 3,95 (m(br), 2H), 7,09–7,30 (5 arom. H).

Krok B

terc-butylester 4-benzyl-4-methylkarbamoylpiperidin-1-karboxylové kyseliny

N-terc-butoxykarbonyl-4-benzylpiperidin-4-karboxylová kyselina (3,0 g, 9,0 mmol) byla rozpuštěna v dichlormethanu (25 ml) a EDAC (1,8 g, 9,0 mmol) a byl přidán HOAt (1,3 g, 9,0 mmol). Směs byla míchána 15 min, pak byl přidán methylamin (33% v ethanolu, 2,3 ml, 18 mmol) a DIEA (1,6 ml, 9,0 mmol) a směs byla míchána přes noc. Pak bylo přidáno 100 ml dichlormethanu a směs byla promyta s nasyceným roztokem vodného hydrogenuhličitanu sodného (50 ml) a vodným roztokem hydrogensíranu sodného (10%, 50 ml), sušena nad MgSO₄ a odpařena ve vakuu. Zbytek byl chromatografován na 90 g silikagelu s využitím směsi vodný amoniak/ethanol/dichlormethan (1:7:92) jako eluentu za vzniku 2,8 g terc-butylesteru 4-benzyl-4-methylkarbamoylpiperidin-1-karboxylové kyseliny.

¹H NMR: δ (CDCl₃) 1,44 (s, 9H), 1,55 (m(br), 2H), 1,98 (m(br), 2H), 2,70 (d, 3H), 2,98 (m(br), 2H), 2,89 (s, 2H), 3,87 (m(br), 2H), 5,15 (q(br), 1H), 7,01–7,32 (5 arom. H).

Krok C

Methylamid 4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny

Terc-butylester 4-benzyl-4-methylkarbamoylpiperidin-1-karboxylové kyseliny (2,8 g) byl rozpuštěn ve směsi TFA a dichlormethanu a směs byla míchána 40 min. Rozpouštědlo bylo poté odstraněno ve vakuu a zbytek byl rozpuštěn ve vodě (30 ml) a pH bylo adjustováno na 13 pomocí 1N vodného roztoku hydroxidu sodného. Vodná fáze byla extrahována s dichlormethanem (3 x 75 ml) a spojené organické fáze byly sušeny nad MgSO₄ a odpařeny ve vakuu za vzniku 1,50 g methylamidu 4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny.

¹H NMR: δ (CDCl₃) 1,80 (td, 2H), 2,14 (d(br), 2H), 2,70 (d, 3H), 2,81 (s, 2H), 2,85 (dt, 2H), 3,21 (dt, 2H), 5,25 (t, 1H), 7,00–7,35 (5 arom. H).

methylamid 4-benzyl-1-((2R)-2-methylamino)-3-(2-naftyl)propionyl)piperidin-4-karboxylové kyseliny

(2R)-2-terc-butyloxykarbonylamino-N-methyl-3-(2-naftyl)propionová kyselina (709 mg, 2,15 mmol), HOAt (293 mg, 2,25 mmol) a EDAC (412 mg, 2,25 mmol) bylo rozpuštěno v 5 ml dichlormethanu a mícháno 15 min. Pak byl přidán methylamid 4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny (500 mg, 2,25 mmol) a DIEA (0,35 ml) a směs byla míchána přes noc. Pak bylo přidáno 30 ml dichlormethanu a směs byla promyta nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (20 ml) a vodným roztokem hydrogensíranu sodného (10%, 20 ml), sušena nad MgSO₄ a odpařena ve vakuu. Zbytek byl chromatografován na silikagelu (40 g) s využitím ethylacetátu jako eluentu za vzniku 810 mg methylamid 4-benzyl-1-((2R)-2-(N-methyl-terc-butyloxykarbonylamino)-3-(2-naftyl)propionyl)piperidin-4-karboxylové kyseliny, který byl rozpuštěn ve směsi TFA/dichlormethan (8+8 ml) a míchán 40 minut při laboratorní teplotě. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a zbytek byl neutralizován s nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a extrahován s ethylacetátem (50 ml). Organická fáze byla sušena nad MgSO₄ a odpařena za

vzniku 729 mg methylamidu 4-benzyl-1-((2R)-2-methylamino)-3-(2-naftyl)propionyl)piperidin-4-karboxylové kyseliny.

Krok E

5 Methylamid 4-benzyl-1-((2R)-2-methylamino)-3-(2-naftyl)propionyl)piperidin-4-karboxylové kyseliny (360 mg, 0,82 mmol) byl kaplován s (2E)-5-(terc-butoxykarbonylamino)-5-methyl-2-hexenovou kyselinou s využitím stejné kaplovací procedury, jaká byla použita v kroku D. Odstranění N-koncové Boc skupiny bylo provedeno stejně jako v kroku D, ale při
10 -10 °C. Surový produkt byl čištěn na RP-18-Seppak® (5 g, Waters) s využitím gradientu od 0,1% TFA ve voda/acetonitril 100/0 do 0,1% TFA ve voda/acetonitril 60/40 za vzniku 306 mg titulní sloučeniny ve formě trifluoracetátu.

¹H NMR: δ (MeOH) (vybrané píky pro hlavní rotamer) 1,30 (s, 3H), 1,31 (a, 3H), 2,10 (AB-syst., 2H), 2,55 (s, 3H), 5,81 (m, 1H).
15

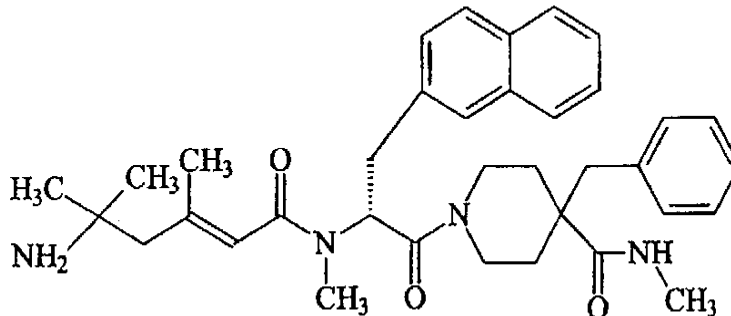
HPLC: r_t = 31,88 min (A1)

r_t = 33,50 min (B1)

20 ESMS: m/z : 569,4 (M+H)⁺

Příklad 2

25 methylamid 1-((2R)-2-[N-((2E)-5-amino-3,5-dimethylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(2-naftyl)propionyl}-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



Tato sloučenina byla připravena stejně jako v příkladu 1 s využitím (2E)-5-(terc-butoxykarbonylamino)-3,5-dimethyl-2-hexenové kyseliny namísto (2E)-5-(terc-butoxykarbonylamino)-5-methyl-2-hexenové kyseliny v kroku E.
30

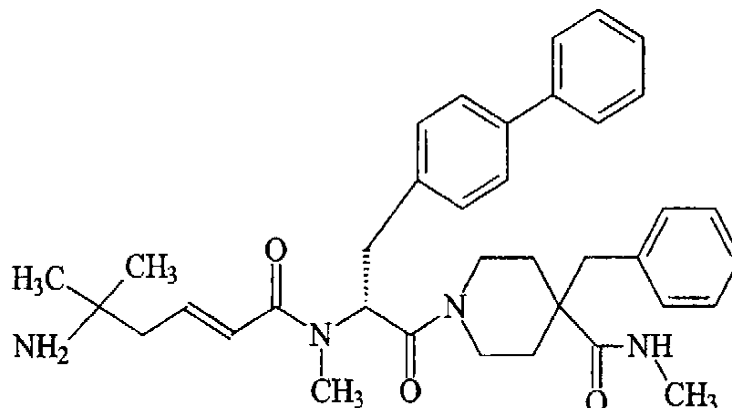
HPLC: r_t = 33,70 min (A1)

r_t = 34,22 min (B1)

35 ESMS: m/z : 583,4 (M+H)⁺

Příklad 3

methylamid 1-{{(2R)-2-[N-((2E)-5-amino-5-methylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(bifeny-4-yl)propionyl}-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



Tato sloučenina byla připravena stejně jako v příkladu 1 s využitím (2R)-2-terc-butoxykarbonyl-amino-N-methyl-3-(4-bifenylyl)propionové kyseliny namísto (2R)-2-terc-butoxykarbonylamino-N-methyl-3-(2-naftyl)propionové kyseliny v kroku D.

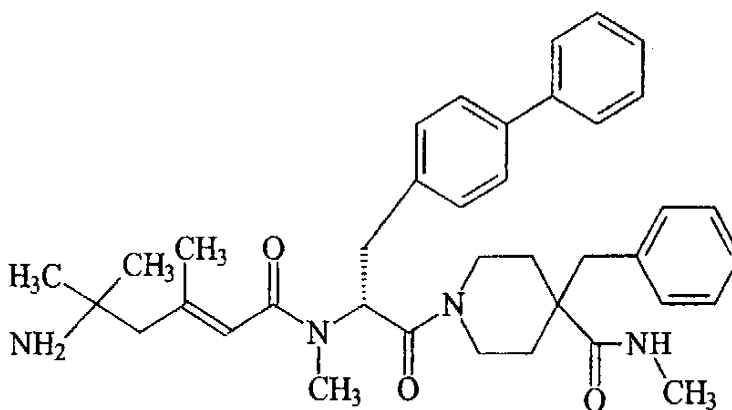
HPLC: $r_t = 34,53$ min (A1)

$r_t = 36,15$ min (B1)

ESMS: m/z : 595,4 ($M+H$)⁺

Příklad 4

methylamid 1-{{(2R)-2-[N-((2E)-5-amino-3,5-dimethylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(bifeny-4-yl)propionyl}-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



Tato sloučenina byla připravena stejně jako v příkladu 1 s využitím (2R)-2-terc-butoxykarbonyl-amino-N-methyl-3-(4-bifenylyl)propionové kyseliny namísto (2R)-2-terc-butoxykarbonylamino-N-methyl-3-(2-naftyl)propionové kyseliny v kroku D a s využitím (2E)-5-(terc-butoxykarbonyl-amino)-3,5-dimethyl-2-hexenové kyseliny namísto (2E)-5-(terc-butoxykarbonylamino)-5-methyl-2-hexenové kyseliny v kroku E.

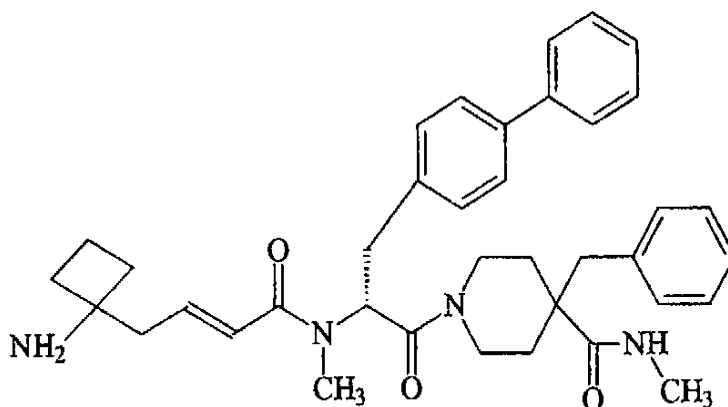
HPLC: $r_t = 35,15$ min (A1)

$r_t = 36,83$ min (B1)

ESMS: m/z : 609,4 ($M+H$)⁺

Příklad 5

5 methylamid 1-{{(2R)-2-[N-((2E)-4-(1-aminocyklobutyl)but-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(bifeny-4-yl)propionyl}-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



Tato sloučenina byla připravena stejně jako v příkladu 1 s využitím (2R)-2-terc-butoxykarbonyl-amino-N-methyl-3-(4-bifenylyl)propionové kyseliny namísto (2R)-2-terc-butoxykarbonylamino-N-methyl-3-(2-naftyl)propionové kyseliny v kroku D a s využitím (2E)-4-(1-(terc)(butoxykarbonylamino)cyclobutyl)but-2-enové kyseliny namísto (2E)-5-(terc-butoxykarbonylamino)-5-methyl-2-hexenové kyseliny v kroku E.

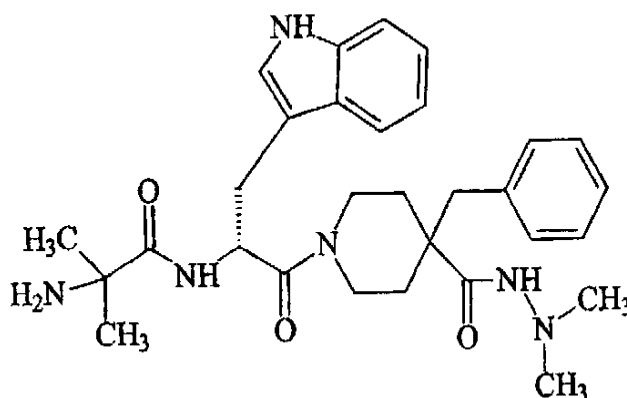
HPLC: $r_t = 35,15$ min (A1)

$r_t = 36,83$ min (B1)

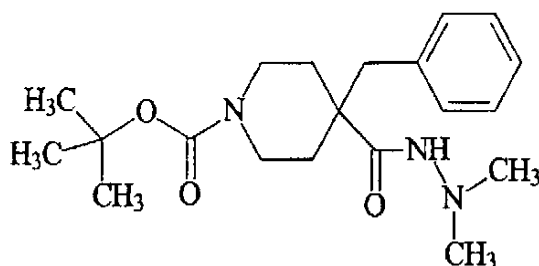
ESMS: m/z : 607,4 (M+H)⁺

Příklad 6

20 2-amino-N-[(1R)-2-[4-benzyl-4-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl]-2-methylpropionamid



Terc-butylester 4-benzyl-4-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-karboxylové kyseliny

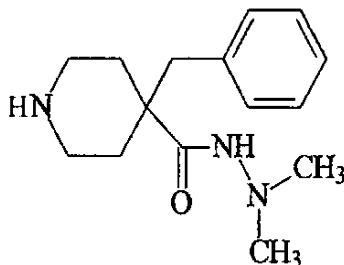


K roztoku 1-terc-butylesteru 4-benzylpiperidin-1,4-dikarboxylové kyseliny (0,75 g, 2,35 mmol) (připravené podle Gilligan et al., J. Med. Chem., 1994, 364–370) v dichlormethanu (10 ml) byl přidán 1-hydroxy-7-azabenzotriazol (0,32 mg, 2,35 mmol) a 1-ethyl-3-(3-dimethylamino-propyl)karbodiimid hydrochlorid (0,45 g, 2,35 mmol) a směs byla míchána 30 min. Poté byl přidán N',N'-dimethylhydrazid (0,27 ml, 3,53 mmol) a diisopropylethylamin (0,52 ml, 3,06 mmol) a směs byla míchána 2 dny. Dichlormethan (100 ml) byl přidán k reakční směsi a směs byla promyta nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (20 ml), vodou (20 ml), sušena nad MgSO₄, zfiltrována a zkoncentrována ve vakuu. Získaný olej byl chromatografován na silikagelu (40 g) s využitím směsi heptan/ethylacetát (1:2) za vzniku 0,76 g terc-butylesteru 4-benzyl-4-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-karboxylové kyseliny ve formě bezbarvého oleje.

HPLC: $R_f = 9,66$ min (H8)

LC-MS: $R_f = 9,29$ min, $m/z = 362,0$ ($m+1$)

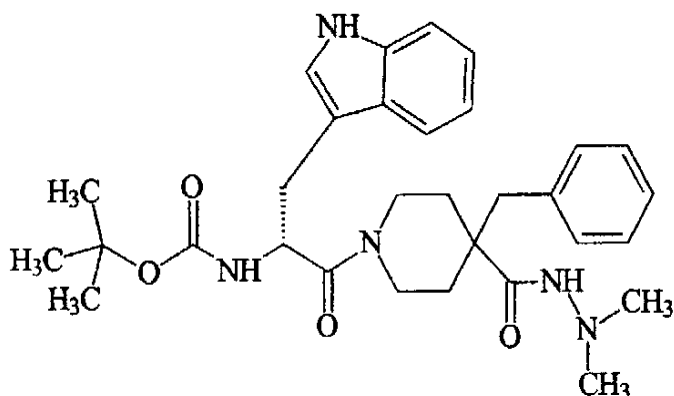
N',N'-dimethylhydrazid 4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



K roztoku terc-butylesteru 4-benzyl-4-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-karboxylové kyseliny (0,76 g, 2,02 mmol) v dichlormethanu (2 ml) byla při 0 °C přidána trifluoroctová kyselina (5 ml) a směs byla míchána 60 min. Směs byla rozložena s ethanol (20 ml), zkoncentrována ve vakuu a zpracována a třikrát s dichlormethanem za vzniku N',N'-dimethylhydrazidu 4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny v kvantitativním výtěžku.

LC-MS: $R_f = 5,64$ min, $m/z = 262,0$ ($m+1$)

Terc-butylester 2-(4-benzyl-4-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl)-1-(1H-indol-3-ylmethyl)-2-oxoethyl karbamové kyseliny

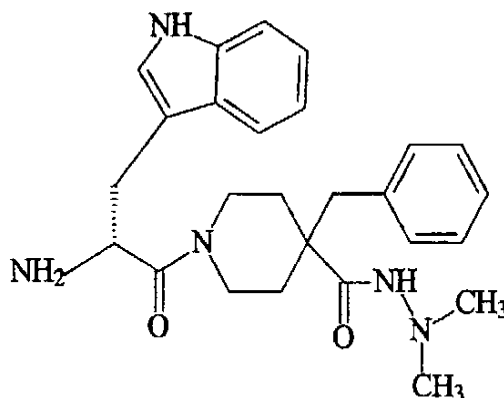


- 5 K roztoku 2-terc-butoxykarbonylamino-3-(1H-indol-3-yl)propionové kyseliny (0,37 g, 1,2 mmol) v 15 ml dichlormethanu a 5 ml dimethylformamidu byl přidán 1-hydroxy-7-azabenzotriazol (0,16 mg, 1,20 mmol) a 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimid hydrochlorid (0,23 g, 1,20 mmol) a směs byla míchána 30 min. Pak byl přidán N',N'-dimethylhydrazid 4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny (0,26 g, 1,0 mmol) a diisopropylethylamin (0,69 ml, 4,0 mmol) a směs byla míchána přes noc. Ke směsi byl poté přidán dichlormethan (100 ml) a směs byla promyta nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (20 ml), vodou (20 ml), sušena nad MgSO₄, zfiltrována a zkoncentrována ve vakuu. Získaný olej byl chromatografován na silikagelu (40 g) se směsí dichlormethan/(10% amoniak v methanolu) (9:1) za vzniku 0,43 g terc-butylesteru (2-(4-benzyl-4-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl)-1-(1H-indol-3-ylmethyl)-2-oxoethyl) karbamové kyseliny ve formě bezbarvého oleje.

HPLC: R_f = 10,45 min (H8)

LC-MS: R_f = 9,92 min, m/z = 548,2 ($m+1$)

- 20 N',N'-dimethylhydrazid (2-amino-3-(1H-indol-3-yl)propionyl)-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny

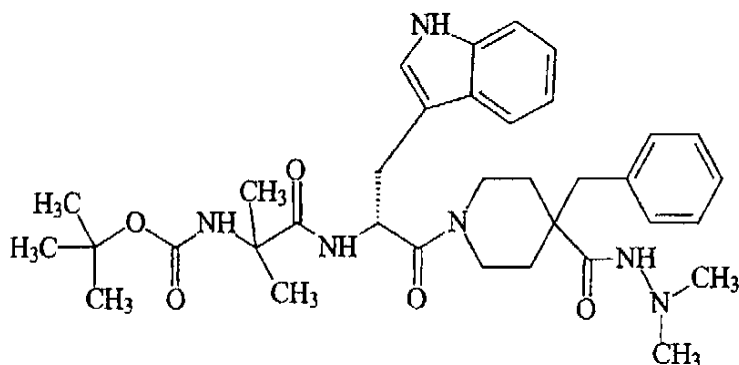


- 25 K roztoku terc-butylesteru (2-(4-benzyl-4-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl)-1-(1H-indol-3-ylmethyl)-2-oxoethyl) karbamové kyseliny (0,40 g, 0,73 mmol) ve 3 ml dichlormethanu byla při 0 °C přidána trifluoroctová kyselina (3 ml) a směs byla míchána 30 min. Směs byla rozložena s 20 ml ethanolu, zkoncentrována ve vakuu a třikrát zpracována s dichlormethanem za vzniku 0,63 g N',N'-dimethylhydrazidu 1-(2-amino-3-(1H-indol-3-yl)propionyl)-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny ve formě bezbarvého oleje.

- 30 HPLC: R_f = 7,52 min (H8)

LC-MS: R_f = 7,61 min, m/z = 448,4 ($m+1$)

Terc-butylester (1-(2-(4-benzyl-4-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl)-1-(1H-indol-3-ylmethyl)-2-oxoethylkarbamoyl)-1-methylethyl)karbamové kyseliny



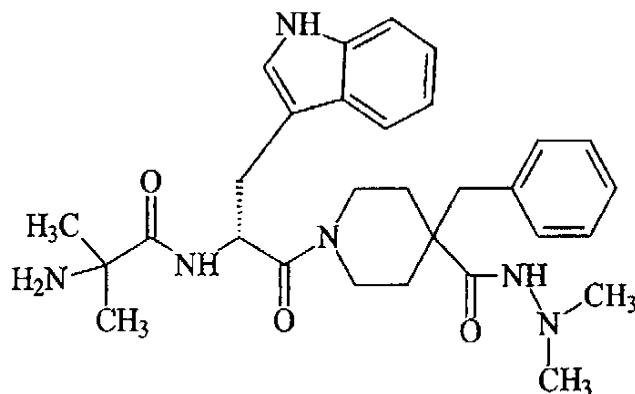
- 5 K roztoku 2-terc-butoxykarbonylamino-2-methylpropionové kyseliny (0,18 g, 0,88 mmol) v 10 ml dichlormethanu byl přidán 1-hydroxy-7-azabenzotriazol (0,12 mg, 0,88 mmol) a 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimid hydrochlorid (0,12 g, 0,88 mmol) a směs byla míchána 30 min. Pak byl přidán N',N'-dimethylhydrazid (2-amino-3-(1H-indol-3-yl)propion-
10 yl)-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny (0,46 g, 0,73 mmol) a diisopylethylamin (0,50 ml, 2,92 mmol) a směs byla míchána přes noc. Pak byl ke směsi přidán dichlormethan (100 ml) a směs byla promyta nasyceným vodným roztokem hydrogenuličitanu sodného (20 ml), vodou (20 ml), sušena nad MgSO₄, zfiltrována a zkoncentrována ve vakuu. Získaný olej byl chro-
15 matografován na silikagelu (40 g) se směsí dichlormethan/(10% amoniak v methanolu) (9:1) za vzniku 0,31 g terc-butylesteru (1-(2-(4-benzyl-4-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl)-1-(1H-indol-3-ylmethyl)-2-oxoethylkarbamoyl)-1-methylethyl)karbamové kyseliny ve formě bezbarvého oleje.

HPLC: R_f = 10,25 min (H8)

LC-MS: R_f = 9,66 min, m/z = 633,2 (m+1)

20

2-amino-N-[(1R)-2-[4-benzyl-4-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl]-2-methylpropionamid



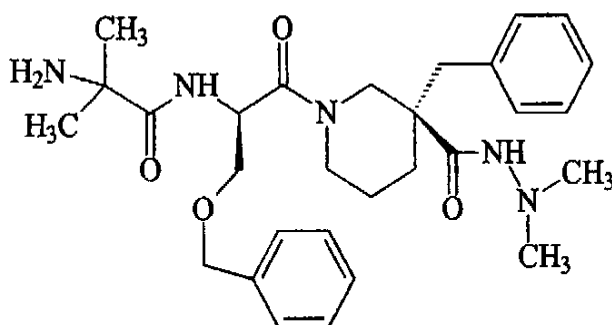
- 25 K roztoku terc-butylesteru (1-(2-(4-benzyl-4-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl)-1-(1H-indol-3-ylmethyl)-2-oxoethylkarbamoyl)-1-methylethyl)karbamové kyseliny (0,29 g, 0,46 mmol) ve 3 ml dichlormethanu byla při 0 °C přidána trifluoroctová kyselina (3 ml) a směs byla míchána 30 min. Směs byla rozložena s 20 ml ethanolu, zkoncentrována ve vakuu a zpracována třikrát s dichlormethanem za vzniku 0,25 g 2-amino-N-[(1R)-2-[4-benzyl-4-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl]-
30 2-methylpropionamidu ve formě amorfního prášku.

HPLC: $R_f = 24,56$ min (A1), $R_f = 24,95$ min (B1), $R_f = 7,73$ min (H8),
 LC-MS: $R_f = 7,74$ min, $m/z = 533,4$ ($m+1$)

Příklad 7

5

2-amino-N-{(1R)-2-[(3R)-3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-benzyloxymethyl-2-oxoethyl}-2-methylpropionamid



Tato sloučenina byla připravena s využitím procedury analogické s tou z příkladu 6.

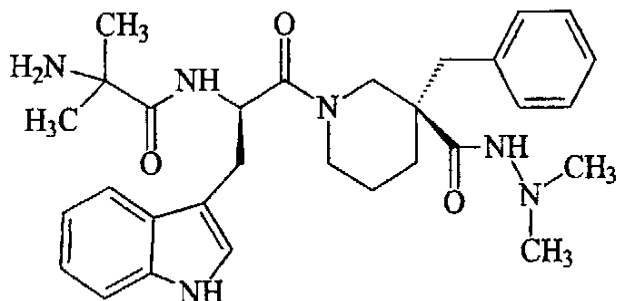
10

ESMS: m/z : 524,4 ($M+H$)⁺

Příklad 8

15

2-amino-N-{(1R)-2-[(3R)-3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl}-2-methylpropionamid



Tato sloučenina byla připravena s využitím procedury analogické s tou z příkladu 6.

20

ESMS: m/z : 533,4 ($M+H$)⁺

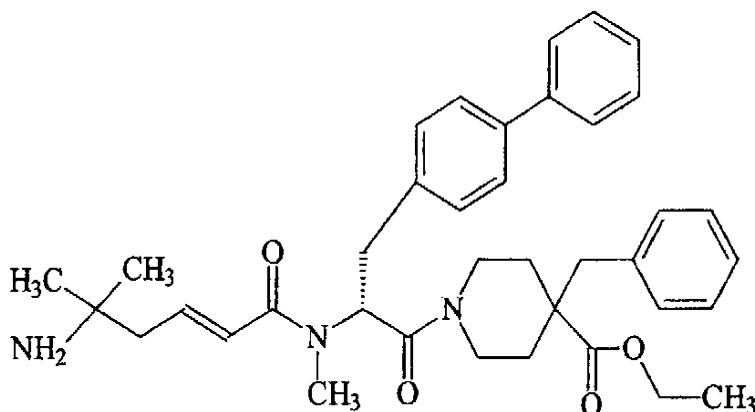
HPLC: $r_t = 27,60$ min (A1)

HPLC: $r_t = 26,84$ min (B1)

25

Příklad 9

ethylester 1-((2R)-2-[N-((2E)-5-amino-5-methylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(bifenyl-4-yl)propionyl}-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



5

LC-MS: $R_t = 12,11$ min, m/z : 610,4 (M+H)

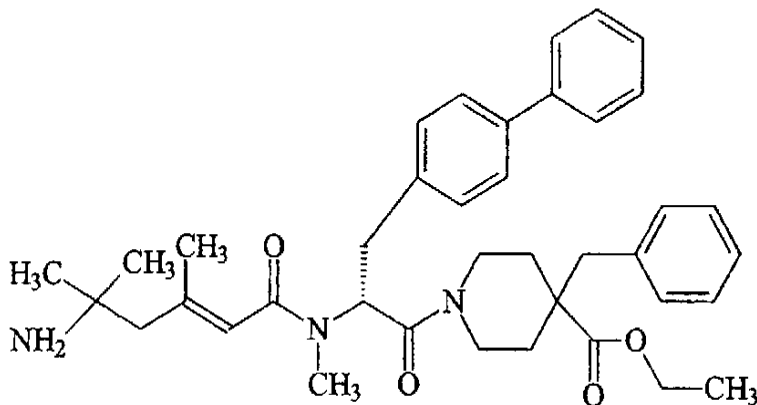
HPLC: $r_t = 42,075$ min (A1)

HPLC: $r_t = 44,383$ min (B1)

10

Příklad 10

ethylester 1-((2R)-2-[N-((2E)-5-amino-3,5-dimethylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(bifenyl-4-yl)propionyl}-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



15

LC-MS: $R_t = 12,36$ min, m/z : 624,4 (M+H)

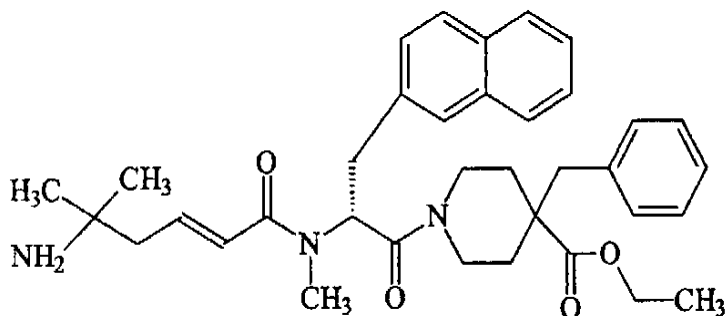
HPLC: $r_t = 42,785$ min (A1)

HPLC: $r_t = 45,148$ min (B1)

20

Příklad 11

ethylester 1-{{(2R)-2-[N-((2E)-5-amino-5-methylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(2-naftyl)propionyl}-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



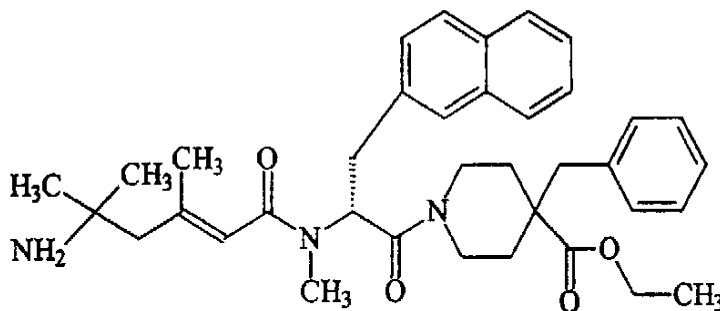
LC-MS: $R_t = 11,92$ min, m/z : 584,4 (M+H)

HPLC: $r_t = 39,893$ min (A1)

HPLC: $r_t = 42,046$ min (B1)

Příklad 12

ethylester 1-{{(2R)-2-[N-((2E)-5-amino-3,5-dimethylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(2-naftyl)propionyl}-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny



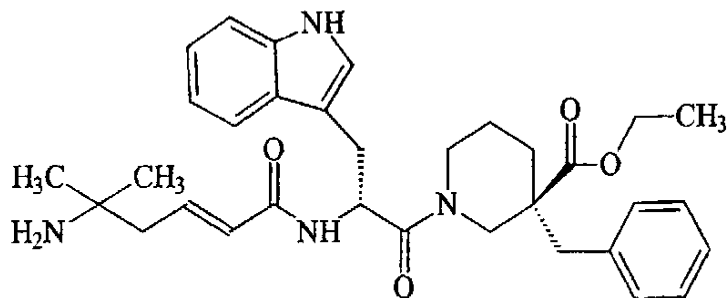
LC-MS: $R_t = 12,21$ min, m/z : 598,2 (M+H)

HPLC: $r_t = 40,541$ min (A1)

HPLC: $r_t = 42,780$ min (B1)

Příklad 13

ethylester (3S)-1-[(2R)-2-((2E)-5-amino-5-methylhex-2-enoylamino)-3-(1H-indol-3-yl)propionyl]-3-benzylpiperidin-3-karboxylové kyseliny



LC-MS: $R_t = 10,07$ min, m/z : 559,4 (M+H)

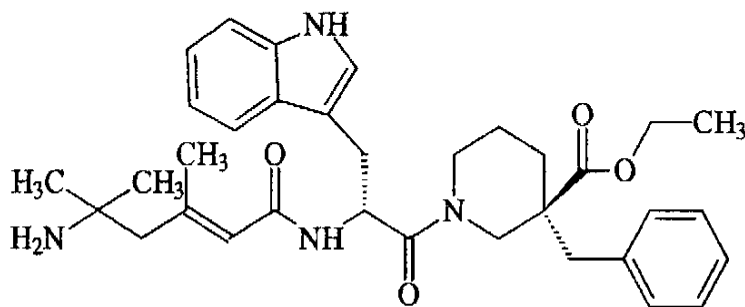
HPLC: $r_t = 35,585$ min (A1)

HPLC: $r_t = 37,441$ min (B1)

5

Příklad 14

10 ethylester (3S)-1-[(2R)-2-((2E)-5-amino-3,5-dimethylhex-2-enoylamino)-3-(1H-indol-3-yl)propionyl]-3-benzylpiperidin-3-karboxylové kyseliny



LC-MS: $R_t = 10,42$ min, m/z : 573,2 (M+H)

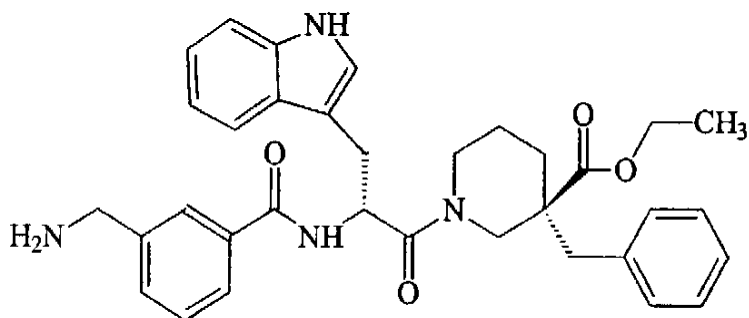
HPLC: $r_t = 36,680$ min (A1)

HPLC: $r_t = 38,561$ min (B1)

15

Příklad 15

20 ethylester (3S)-1-[(2R)-2-(3-(aminomethyl)benzoylamino)-3-(1H-indol-3-yl)propionyl]-3-benzylpiperidin-3-karboxylové kyseliny



LC-MS: $R_t = 10,24$ min, m/z : 567,4 (M+H)

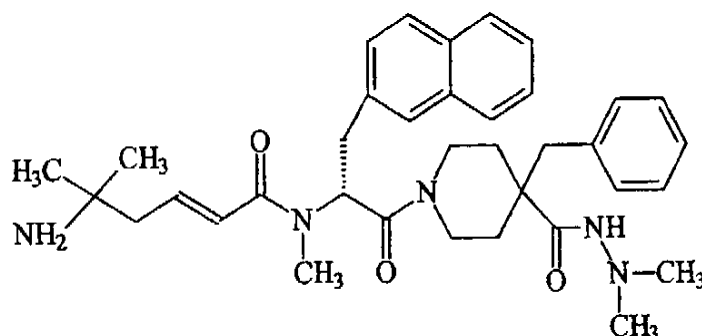
HPLC: $r_t = 36,118$ min (A1)

HPLC: $r_t = 38,052$ min (B1)

25

Příklad 16

N-[(1R)-2-[4-benzyl-4-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((2-naftyl)-methyl-2-oxoethyl)-N-methylamid(2E)-5-amino-5-methylhex-2-enové kyseliny



5

LC-MS: $R_t = 8,82$ min, m/z : 598,4 (M+H)

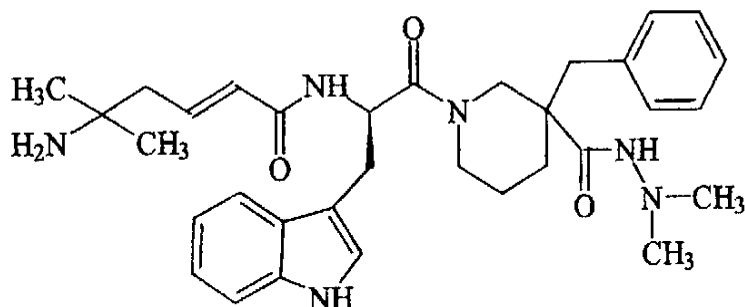
HPLC: $r_t = 30,858$ min (A1)

HPLC: $r_t = 31,198$ min (B1)

10

Příklad 17

N-[(1R)-2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-(1H-indol-3-yl)methyl-2-oxoethyl]amid(2E)-5-amino-5-methylhex-2-enové kyseliny



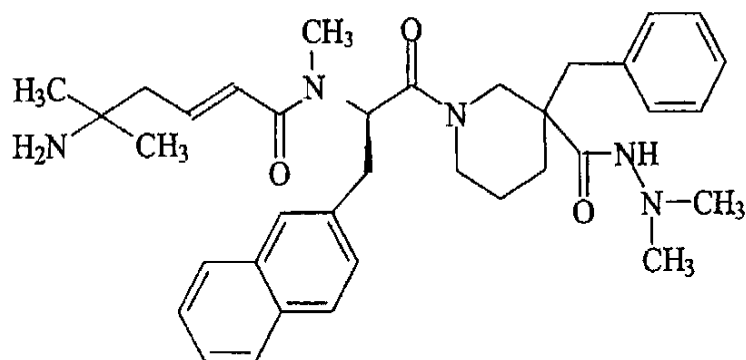
15

ESMS: m/z : 573,2 (M+H)⁺

Příklad 18

20

N-[(1R)-2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((2-naftyl)-methyl-2-oxoethyl)-N-methylamid(2E)-5-amino-5-methylhex-2-enové kyseliny

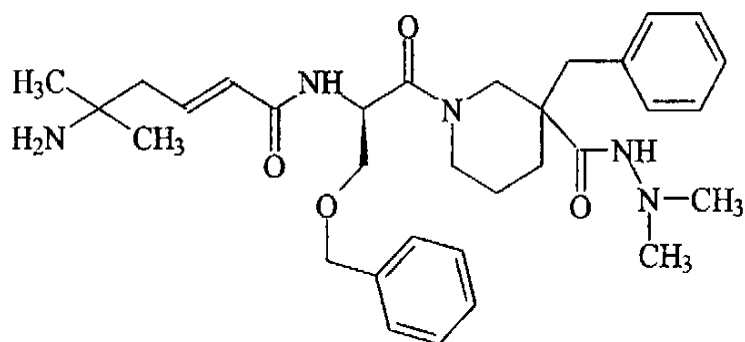


ESMS: m/z : 598,4 (M+H)⁺

25

Příklad 19

- 5 { (1R)-2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-(benzyloxy-methyl)-2-oxoethyl}amid(2E)-5-amino-5-methylhex-2-enové kyseliny



LC-MS: $R_t = 8,77$ min, m/z : 564,2 (M+H)

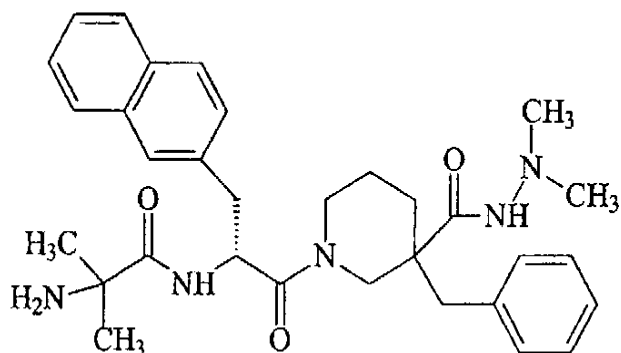
HPLC: $r_t = 29,829$ min (A1)

HPLC: $r_t = 29,250$ min (B1)

10

Příklad 20

- 15 2-amino-N-{2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((2-naftyl)methyl)-2-oxoethyl}-2-methylpropionamid



LC-MS: $R_t = 4,77$ min, m/z : 544,4 (M+H)

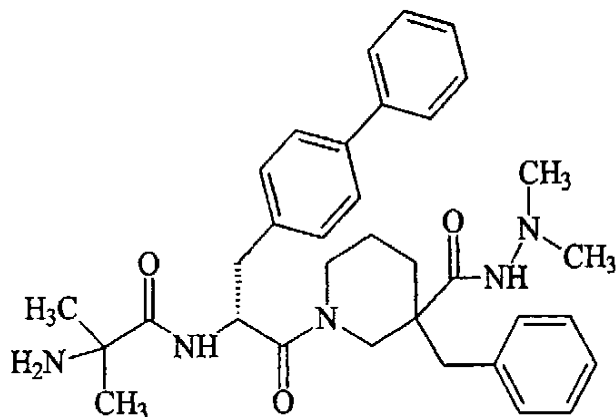
HPLC: $r_t = 30,900/31,586$ min (A1)

HPLC: $r_t = 30,188/30,727$ min (B1)

20

Příklad 21

2-amino-N-((1R)-2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((bifenyl-4-yl)methyl)-2-oxoethyl)-2-methylpropionamid



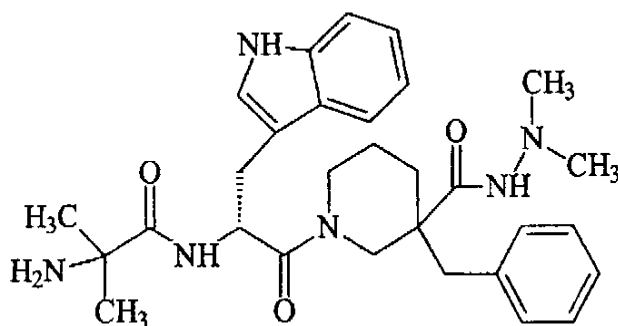
LC-MS: $R_t = 4,98$ min, $m/z: 570,4$ (M+H)

HPLC: $R_t = 33,839/34,313$ min (A1)

HPLC: $R_t = 33,297/33,640$ min (B1)

Příklad 22

2-amino-N-((1R)-2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl)-2-methylpropionamid



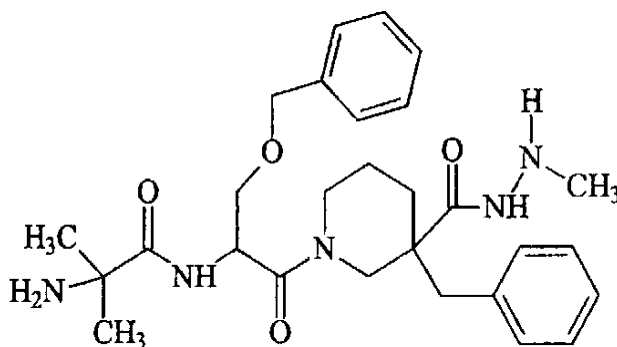
LC-MS: $R_t = 4,32$ min, $m/z: 533,4$ (M+H)

HPLC: $R_t = 25,946/27,231$ min (A1)

HPLC: $R_t = 25,822/26,685$ min (B1)

Příklad 23

2-amino-N-{2-[3-benzyl-3-(N'-methylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-(benzyloxy-methyl)-2-oxoethyl}-2-methylpropionamid



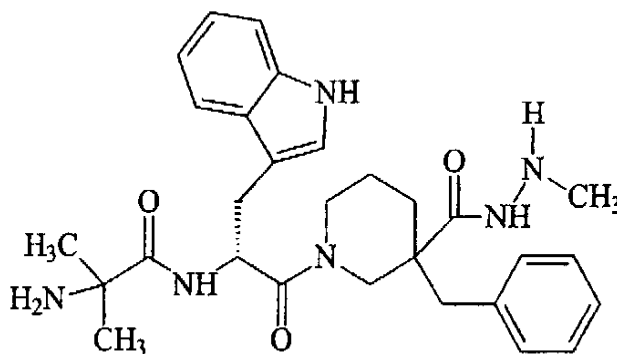
LC-MS: $R_t = 4,33/4,75$ min, m/z : 510,4 (M+H)

HPLC: $R_t = 30,737/30,945$ min (A1)

HPLC: $R_t = 26,809/27,307$ min (B1)

Příklad 24

2-amino-N-((1R)-2-[3-benzyl-3-(N'-methylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl)-2-methylpropionamid



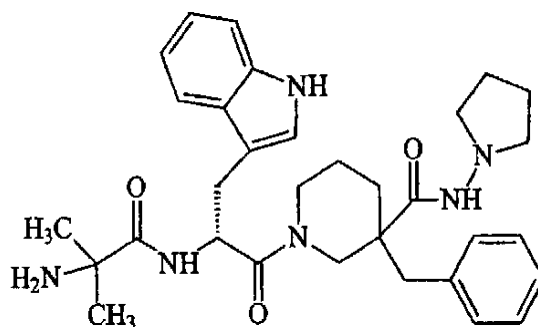
LC-MS: $R_t = 4,25/5,27$ min, m/z : 519,4 (M+H)

HPLC: $R_t = 24,994$ min (A1)

HPLC: $R_t = 25,742$ min (B1)

Příklad 25

1-[(2R)-2-(2-amino-2-methylpropionylamino)-3-(1H-indol-3-yl)propionyl]-3-benzylpiperidin-3-karboxylová kyselina (pyrrolidin-1-yl)amid



5

Směs diastereoizomerů

Diastereoizomer 1:

10 LC-MS: $R_t = 4,40$ min, m/z : 559,4 (M+H)

HPLC: $R_t = 26,04$ min (A1)

HPLC: $R_t = 25,79$ min (B1)

Diastereoizomer 2:

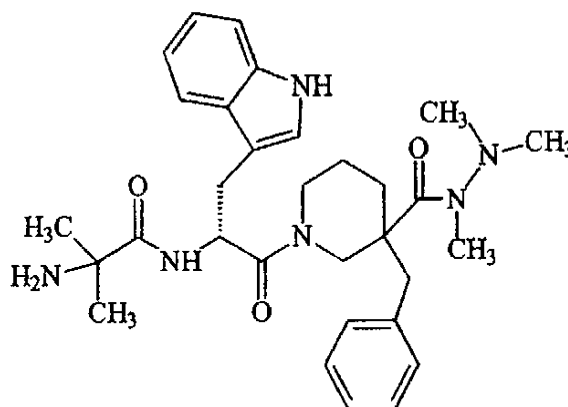
15

HPLC: $R_t = 27,38$ min (A1)

Příklad 26

20

2-amino-N-[(1R)-2-[3-benzyl-3-(N,N',N'-trimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl]-2-methylpropionamid



Směs diastereoizomerů

25

Diastereoizomer I:

LC-MS: $R_t = 5,07$ min, m/z : 547,4 (M+H)

HPLC: $R_t = 32,16$ min (A1)

30

Diastereoizomer II:

LC-MS: $R_t = 5,24$ min, m/z : 547,4 (M+H)

5 HPLC: $R_t = 33,60$ min (A1)

Sloučeniny v příkladech 9 až 26 byly připraveny s využitím procedury analogické s těmi popsanými v příkladech 1 až 6.

10

Průmyslová využitelnost

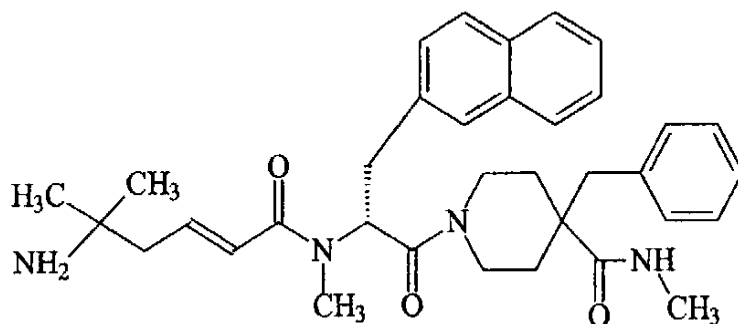
Sloučeniny podle vynálezu vykazují schopnost stimulovat uvolňování růstového hormonu a jsou tedy užitečné pro výrobu farmaceutických přípravků vhodných pro léčení poruch a onemocnění vyplývajících z nedostatku růstového hormonu.

20

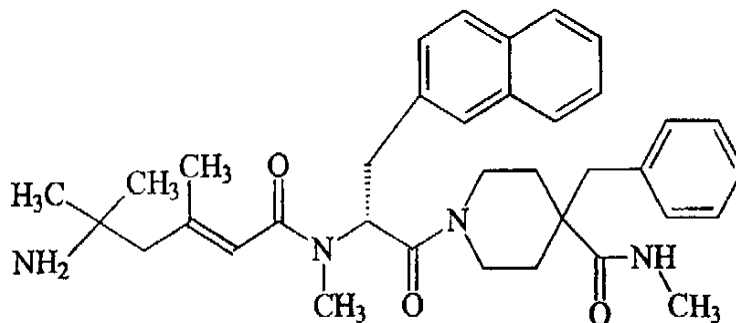
PATENTOVÉ NÁROKY

1. Piperidinový derivát vybraný ze skupiny obsahující

25 methylamid 1-((2R)-2-[N-((2E)-5-amino-5-methylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(2-naftyl)propionyl)-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny vzorce

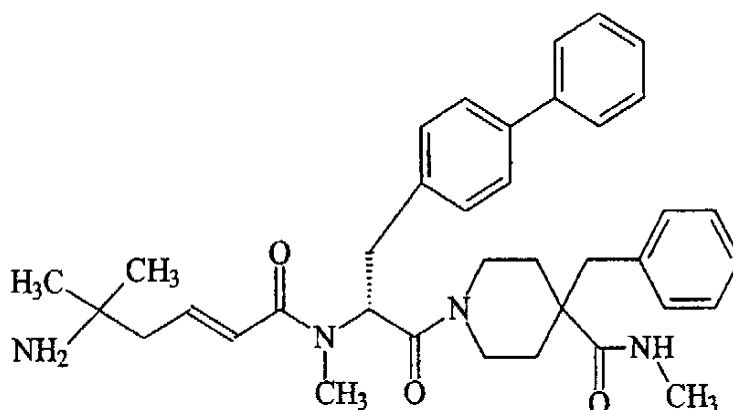


methylamid 1-((2R)-2-[N-((2E)-5-amino-3,5-dimethylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(2-naftyl)propionyl)-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny vzorce

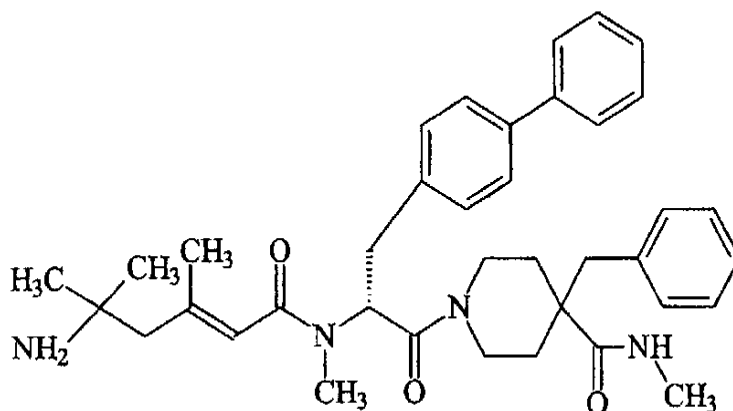


30

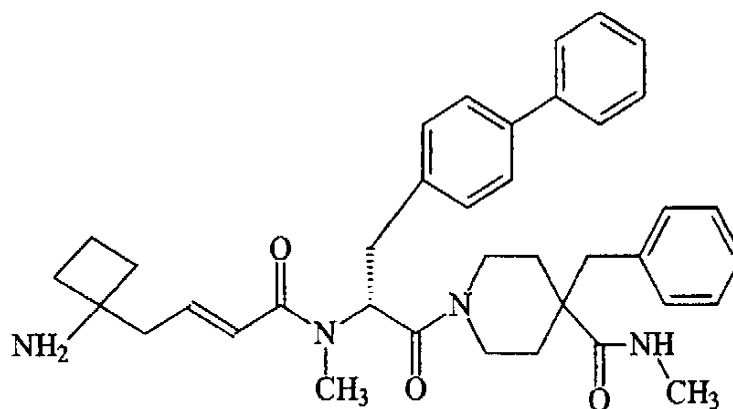
methylamid 1-[(2R)-2-[N-((2E)-5-amino-5-methylhex-2-enyl)-N-methylamino]-3-(bifeny-4-yl)propionyl]-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny vzorce



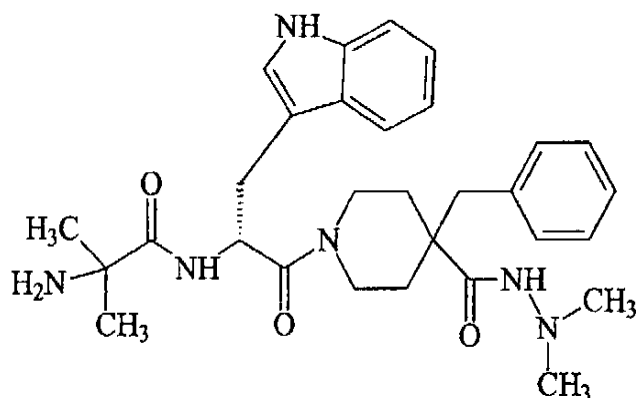
5 methylamid 1-[(2R)-2-[N-((2E)-5-amino-3,5-dimethylhex-2-enyl)-N-methylamino]-3-(bifeny-4-yl)propionyl]-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny vzorce



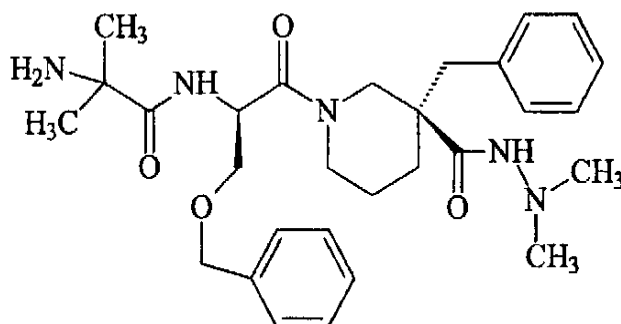
methylamid 1-[(2R)-2-[N-((2E)-4-(1-aminocyklobutyl)but-2-enyl)-N-methylamino]-3-(bifeny-4-yl)propionyl]-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny vzorce



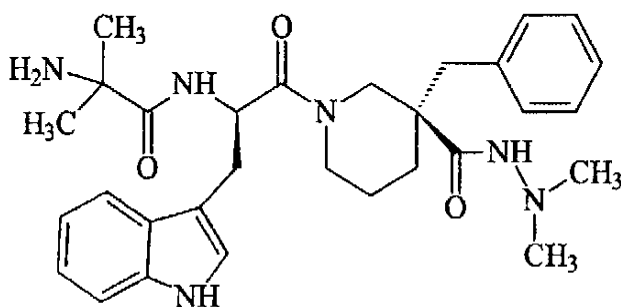
2-amino-N-[(1R)-2-[4-benzyl-4-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl]-2-methylpropionamid vzorce



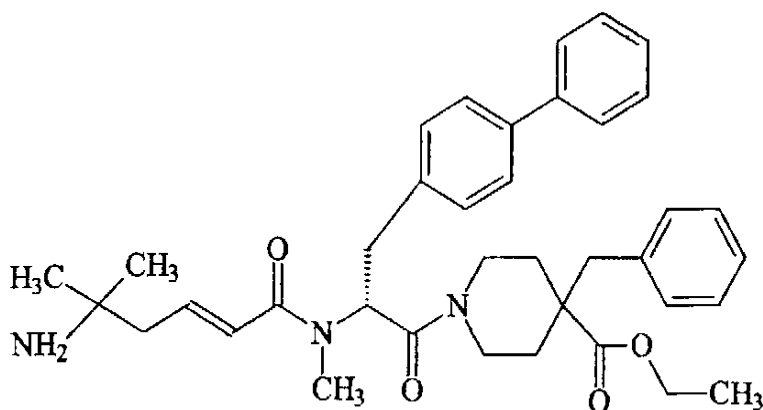
5 2-amino-N-[(1R)-2-[(3R)-3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-benzyloxymethyl-2-oxoethyl]-2-methylpropionamid vzorce



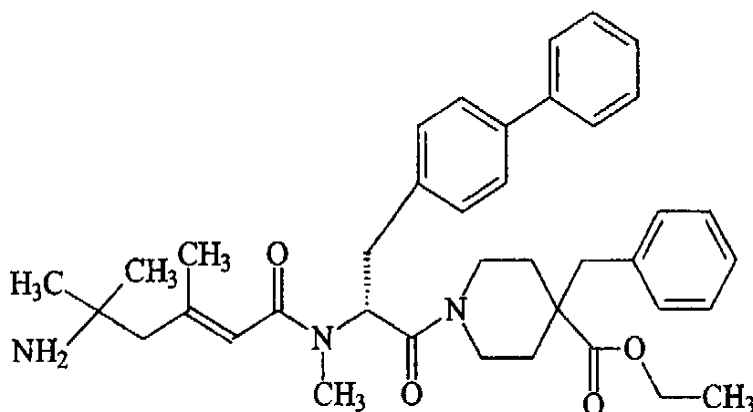
2-amino-N-[(1R)-2-[(3R)-3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl]-2-methylpropionamid vzorce



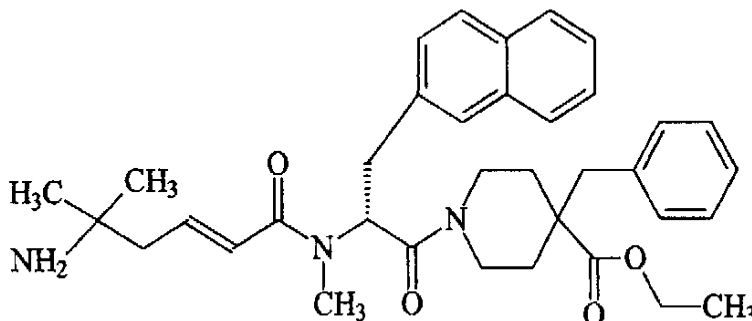
10 ethylester 1-[(2R)-2-[N-((2E)-5-amino-5-methylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(bifeny-4-yl)propionyl]-4-benzylpiperidin-4-koxylové kyseliny vzorce



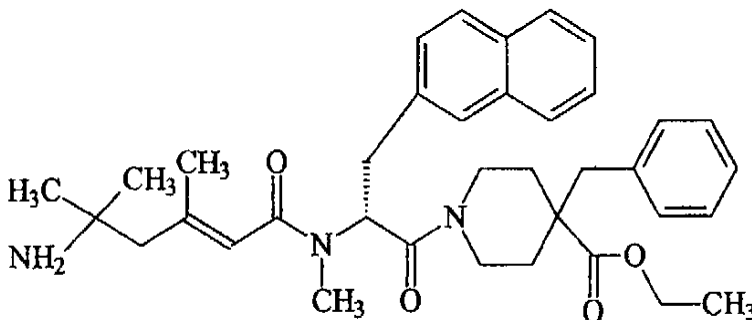
ethylester 1-((2R)-2-[N-((2E)-5-amino-3,5-dimethylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(biphenyl-4-yl)propionyl)-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny vzorce



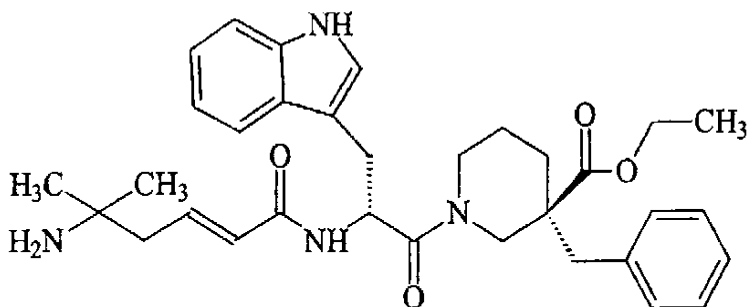
5 ethylester 1-((2R)-2-[N-((2E)-5-amino-5-methylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(2-naftyl)propionyl)-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny vzorce



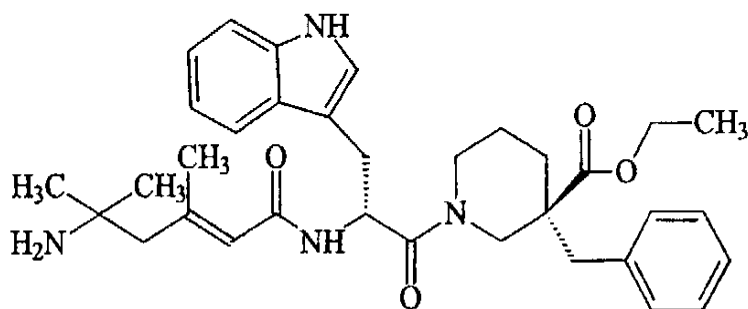
ethylester 1-((2R)-2-[N-((2E)-5-amino-3,5-dimethylhex-2-enoyl)-N-methylamino]-3-(2-naftyl)propionyl)-4-benzylpiperidin-4-karboxylové kyseliny vzorce



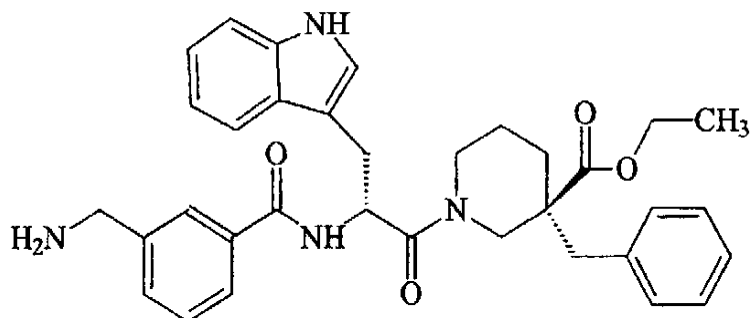
10 ethylester (3S)-1-[(2R)-2-((2E)-5-amino-5-methylhex-2-enoylamino)-3-(1H-indol-3-yl)propionyl]-3-benzylpiperidin-3-karboxylové kyseliny vzorce



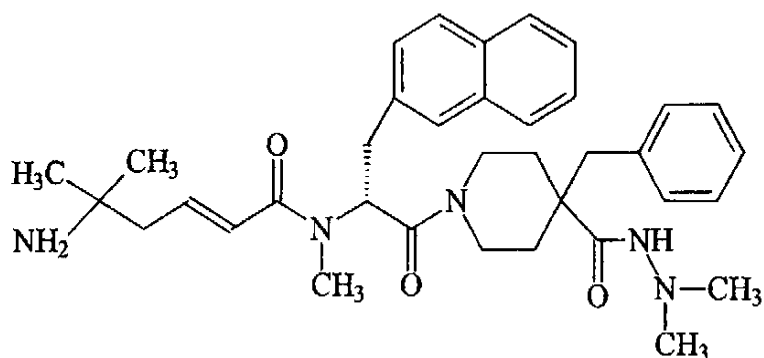
ethylester (3S)-1-[(2R)-2-((2E)-5-amino-3,5-dimethylhex-2-enoylamino)-3-(1H-indol-3-yl)propionyl]-3-benzylpiperidin-3-karboxylové kyseliny vzorce



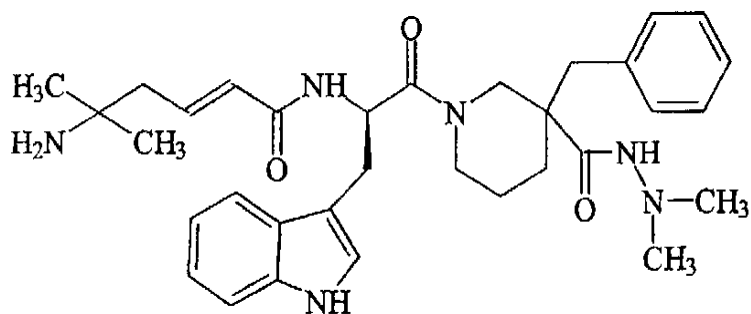
- 5 ethylester (3S)-1-[(2R)-2-(3-(aminomethyl)benzoylamino)-3-(1H-indol-3-yl)propionyl]-3-benzylpiperidin-3-karboxylové kyseliny vzorce



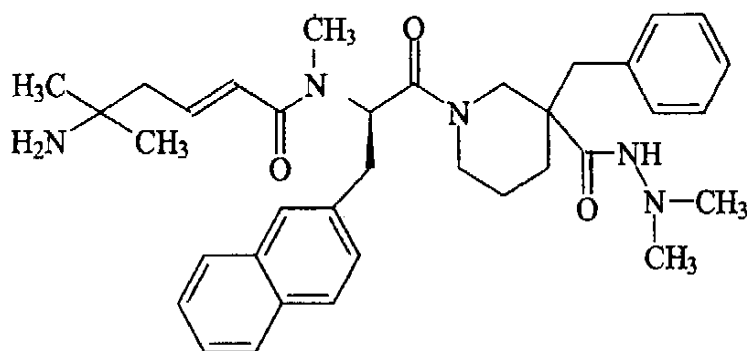
N-[(1R)-2-[4-benzyl-4-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((2-naftyl)methyl)-2-oxoethyl]-N-methylamid(2E)-5-amino-5-methylhex-2-enové kyseliny vzorce



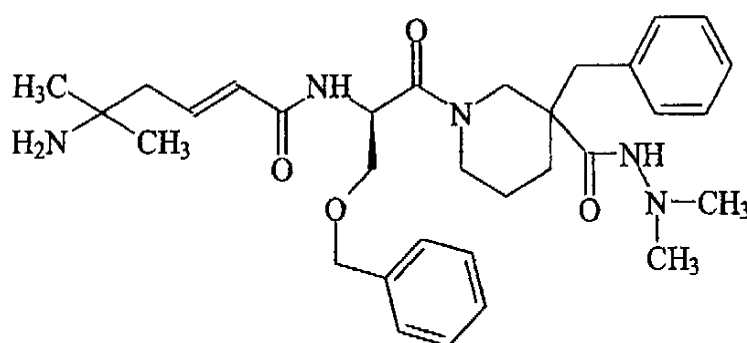
- 10 N-[(1R)-2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-(1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl]amid(2E)-5-amino-5-methylhex-2-enové kyseliny vzorce



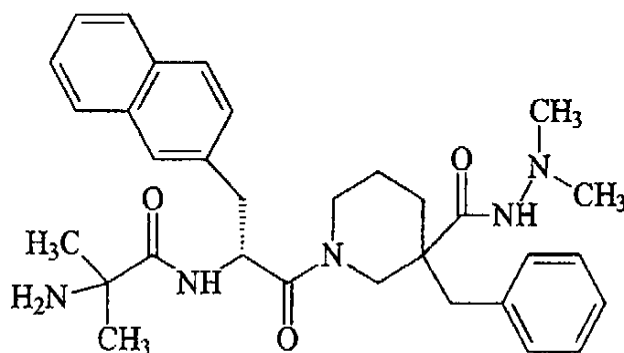
N-((1R)-2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((2-naftyl)-methyl-2-oxoethyl)-N-methylamid(2E)-5-amino-5-methylhex-2-enové kyseliny vzorce



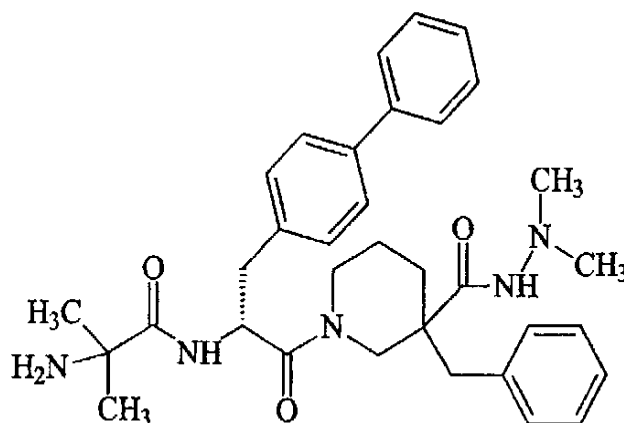
5 {((1R)-2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-(benzyloxy-methyl)-2-oxoethyl)amid(2E)-5-amino-5-methylhex-2-enové kyseliny vzorce



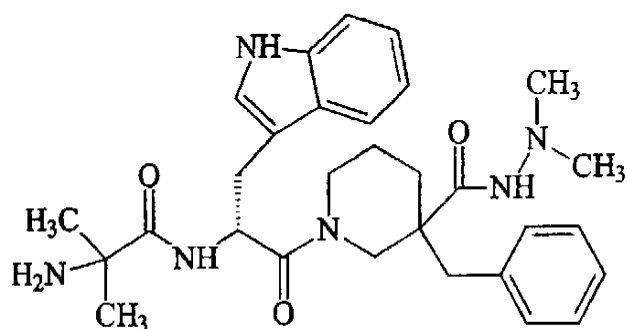
2-amino-N-{2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((2-naftyl)-methyl)-2-oxoethyl]-2-methylpropionamid vzorce



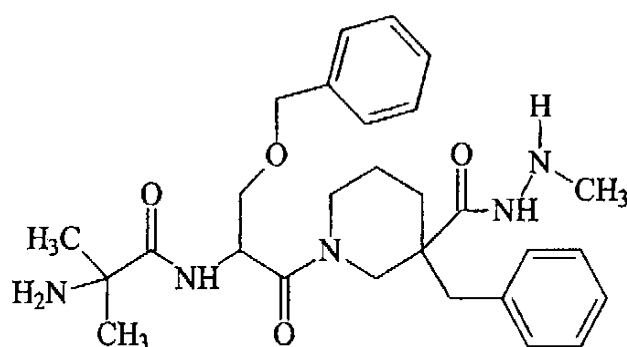
10 2-amino-N-((1R)-2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((bifenyl-4-yl)methyl)-2-oxoethyl)-2-methylpropionamid vzorce



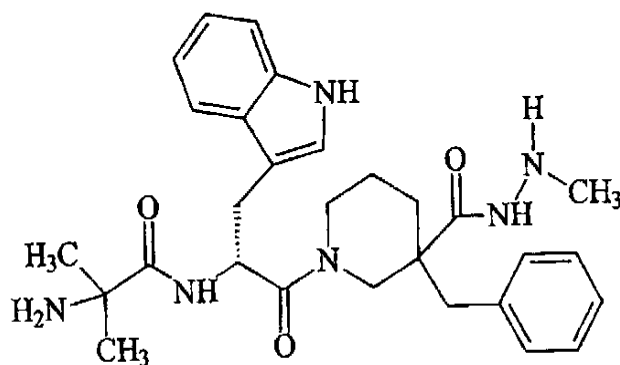
2-amino-N-((1R)-2-[3-benzyl-3-(N',N'-dimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl)-2-methylpropionamid vzorce



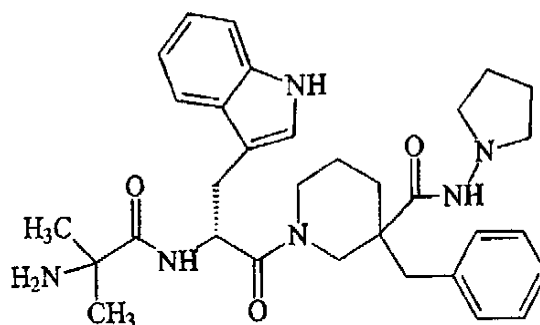
5 2-amino-N-{2-[3-benzyl-3-(N'-methylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-(benzyloxy-methyl)-2-oxoethyl}-2-methylpropionamid vzorce



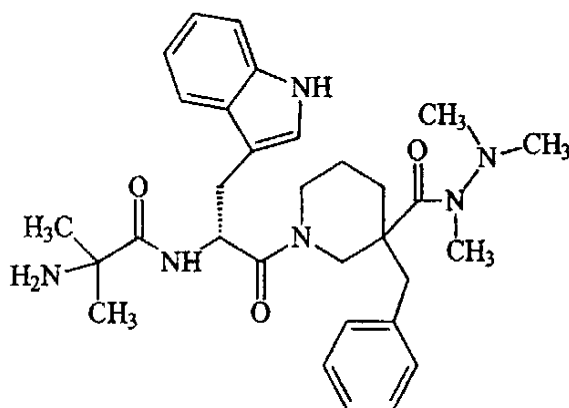
2-amino-N-((1R)-2-[3-benzyl-3-(N'-methylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl)-2-methylpropionamid vzorce



10 1-[(2R)-2-(2-amino-2-methylpropionylamino)-3-(1H-indol-3-yl)propionyl]-3-benzyl-piperidin-3-karboxylová kyselina (pyrrolidin-1-yl)amid vzorce



2-amino-N-{(1R)-2-[3-benzyl-3-(N,N',N'-trimethylhydrazinokarbonyl)piperidin-1-yl]-1-((1H-indol-3-yl)methyl)-2-oxoethyl}-2-methylpropionamid vzorce



a jejich farmaceuticky akceptovatelné soli.

5

2. Farmaceutický přípravek, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že obsahuje jako aktivní složku piperidinové deriváty podle nároku 1 společně s farmaceuticky akceptovatelným nosičem nebo ředidlem.

10

3. Použití piperidinového derivátu podle nároku 1 pro přípravu léčiva.

4. Použití farmaceutického přípravku podle nároku 2 pro přípravu léčiva.

15

5. Použití podle nároků 3 a 4, kde léčivo je léčivo pro stimulaci uvolňování růstového hormonu z podvěsku mozkového u savců.

20

Konec dokumentu
