



(12) PATENT

(19) NO

(11) 339973

(13) B1

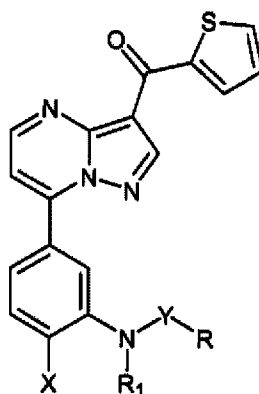
NORGE

(51) Int Cl.
C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20080393	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2006.06.15 PCT/EP2006/063243
(22)	Inng.dag	2008.01.21	(85)	Videreføringsdag	2008.01.21
(24)	Løpedag	2006.06.15	(30)	Prioritet	2005.06.21, EP, 05105478 2005.06.21, US, 60/692,866
(41)	Alm.tilgj	2008.03.10			
(45)	Meddelt	2017.02.27			
(73)	Innehaver	Ferrer Internacional SA, Gran Vía Carlos III, 94, ES-08028 BARCELONA, Spania			
(72)	Oppfinner	Luis Anglada, C Bruc, 111, ES-08009 BARCELONA, Spania Albert Palomer, C Almeria, 23, ES-08014 BARCELONA, Spania Antonio Guglietta, C Magdalena Corcoll, 16, ES-08750 MOLINS DE REI (BARCELONA), Spania			
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge			
(54)	Benevnelse	Halogenerte pyrazolo [1,5-a] pyrimidiner, fremgangsmåter, anvendelse som GABA-A reseptorer, ligand, sammensetninger og intermediater			
(56)	Anførte publikasjoner	US 6399621 B1 WO 2005014597 A US 4521422 A			
(57)	Sammendrag				

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer nye halogenerte pyrazolo[1,5-a]pyrimidiner med generell formel (I), og farmasøytisk akseptable salter derav. Forbindelser med formel (I) er anvendelige for behandling eller hindring av angst, epilepsi og søvnforstyrrelser som inkluderer insomni, og for å inducere sedasjon-hypnose, anestesi, søvn og muskelrelaksasjon. Oppfinnelsen tilveiebringer også syntesefremgangsmåter for fremstilling av nevnte forbindelser og visse intermediater, så vel som intermediatene i seg selv.



Foreliggende oppfinnelse angår midler med affinitet for GABA_A reseptor, spesifikt halogenerte pyrazolo[1,5-a]pyrimidiner, og mer særlig [7-(3-amino-4-halofenyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl]-tiofen-2-yl-metanonacyl og sulfonylforbindelser.

5 GABA_A reseptor (γ -aminosmørsyre_A) er et pentamert protein som danner en membranionekanal. GABA_A reseptor er implisert i regulering av sedasjon, angst, muskeltonus, epileptogene aktivitet og hukommelsesfunksjoner. Disse virkningene er på grunn av definerte underenheter til GABA_A reseptor, særlig α_1 - og α_2 -underenhetene.

10 Sedasjon moduleres av α_1 -underenheten. Zolpidem er kjennetegnet ved en høy affinitet for α_1 -reseptorene og dens sedative og hypnotiske virkning medieres av disse reseptorene *in vivo*. Tilsvarende blir den hypnotiske virkningen til zaleplon også mediert av α_1 -reseptorene.

Den anksiolytiske virkningen til diazepam medieres ved forsterkning av GABAergisk
15 transmisjon i en populasjon av neuroner som uttrykker α_2 -reseptorene. Dette indikerer at α_2 -reseptorene er svært spesifikke mål for behandling av angst.

Muskelrelaksasjon ved diazepam blir først og fremst mediert av α_2 -reseptorer, siden disse reseptorene fremviser en høy spesifikk ekspresjon i ryggraden. Antikonvulsanteffekten til
20 diazepam er delvis på grunn av α_1 -reseptorer. Med diazepam, en hukommelsesvekkende forbindelse, blir anterograde amnesi mediert av α_1 -reseptorer.

GABA_A reseptor og dens α_1 - og α_2 -underenheter har omfattende blitt gjennomgått av H. Möhler et al. (J. Pharmacol. Exp. Ther., 300, 2-8, 2002); H. Möhler et al. (Curr. Opin. Pharmacol., 1,
25 22-25, 2001); U. Rudolph et al. (Nature, 401, 796-800, 1999); og D.J. Nutt et al. (Br. J. Psychiatry, 179, 390-396, 2001).

Diazepam og andre klassiske benzodiazepinet blir omfattende anvendt som anksiolytiske midler, hypnotiske midler, antikonvulsanter og muskelrelaksanter. Bivirkninger inkluderer
30 anterograd amnesi, reduksjon i motorisk aktivitet og potensiering av etanoleffekter.

I denne sammenheng er forbindelsene ifølge oppfinnelsen ligander av α_1 - og α_2 -GABA_A reseptor for deres kliniske anvendelse ved søvnforstyrrelser, foretrukket insomni, angst og epilepsi.

Insomni er en svært forekommende sykdom. Den berører kronisk 10% av populasjonen og 30% når forbigående insomni også tas med. Insomni beskrives som problemer med å falle i søvn eller holde seg i søvn og er assosiert med hangover-effekter neste dag slik som tretthet, mangel på energi, lav konsentrasjon og irritabilitet. Den sosiale og helsemessige virkningen av denne tilstanden er viktig og resulterer i klare sosioøkonomiske problemer.

Farmakologisk behandling i forhold til insomni inkluderte først barbituratetr og kloralhydrat, men disse legemidlene fremviser et antall kjente bivirkninger, for eksempel overdosetoksisitet, metabolitisk induksjon og økt avhengighet og toleranse. I tillegg berører de søvnarkitekturen ved å redusere for alt varigheten og antall REM søvnstadier. Senere betydde benzodiazepiner et viktig terapeutisk fremskritt på grunn av deres lave toksisitet, men de viste fremdeles alvorlige problemer med avhengighet, muskelrelaksasjon, amnesi og tilbakefallen insomni etterfølgende avslutning av medisineren.

Den siste kjente terapeutiske tilnærmingen har vært introduksjon av ikke-benzodiazepin hypnotiske midler, slik som pyrrolo[3,4-b]pyraziner (zopiklon), imidazo[1,2-a] pyridiner (zolpidem) og til slutt pyrazolo[1,5-a] pyrimidiner (zaleplon). Senere har to nye pyrazolo[1,5-a] pyrimidiner, indiplon og ocinaplone, kommet under utvikling, hvor sistnevnte har snarere anksiolytisk virkning. Alle disse forbindelsene viser en rask søvninduksjon og har færre hangover-effekter neste dag, lavere potensiale for misbruk og lavere risiko for tilbakevendende insomni enn benzodiazepiner. Virkningsmekanismen til disse forbindelsene er den alosteriske aktiveringen av GABA_A reseptor gjennom dens binding til benzodiazepinbindingssete (C. F. P. George, The Lancet, 358, 1623-1626, 2001). Mens benzodiazepiner er ikke-spesifikke ligander ved GABA_A reseptorbindingssete, viser zolpidem og zaleplon en større selektivitet for α_1 -underenheten. Til tross for dette påvirker disse legemidlene fremdeles søvnarkitekturen og kan indusere avhengighet ved langtidsbehandlinger.

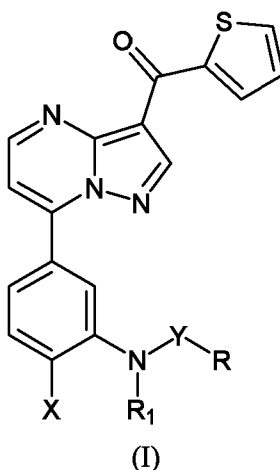
Foreliggende oppfinnelse er strukturelt relatert til, men patenterbart adskilt fra, forbindelsen N-{3-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-acetamid, indiplon, som er beskrevet i US 6399621, og forbindelsene N-{3-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-metansulfonamid og N-{3-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-prop-2-ynyl-metansulfonamid, som er beskrevet i WO 2005014597, eksempel 3 og 16 respektivt, på grunn av deres forbedrede egenskaper slik det vises i detaljbeskrivelsen ifølge oppfinnelsen. Tilsvarende forbindelser med indiplon har blitt beskrevet tidligere i US 4521422.

Forskning etter nye aktive forbindelser ved håndtering av insomni bemøter et underliggende helsebehov, på grunn av at selv nylig introduserte hypnotiske midler fremdeles berører arkitekturen og kan indusere avhengighet ved langtidsbehandlinger.

- 5 Det er derfor ønskelig å fokusere på utvikling av nye hypnotiske midler med lavere risiko for bivirkninger.

Således angår foreliggende oppfinnelse nye halogenerte pyrazolo[1,5-a] pyrimidiner som er aktive versus $GABA_A$ og, særlig, versus dens α_1 - og α_2 -underenheter. Som en konsekvens av dette er foreliggende oppfinnelse anvendelig ved behandling og hindring av alle de sykdommene som er mediert av $GABA_A$ reseptor α_1 - og α_2 -underenheter. Ikke-begrensede eksempler på slike sykdommer er søvnforstyrrelser, foretrukket insomni, angst og epilepsi. Ikke-begrensede eksempler på de relevante indikasjonene for forbindelsene ifølge oppfinnelsen er alle de sykdommene eller tilstandene, slike som insomni eller anestesi, hvori en induksjon av søvn, en induksjon av sedasjon eller en induksjon av muskelrelaksasjon er nødvendig.

Foreliggende oppfinnelse beskriver en ny klasse forbindelser representert ved formel (I):



20

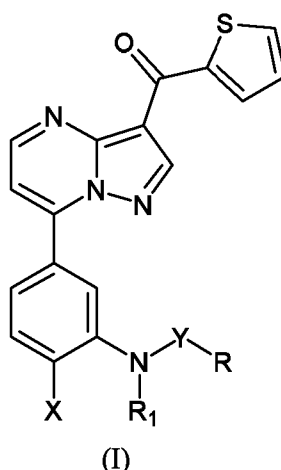
og farmasøytisk akseptable salter derav, hvori R, R₁, X og Y er som definert nedenfor, som er ligander av $GABA_A$ reseptor.

25

Det er annet formål med foreliggende oppfinnelse å tilveiebringe nye fremgangsmåter for behandling eller hindring av angst, epilepsi og søvnforstyrrelser som inkluderer insomni, og for å indusere sedasjon-hypnose, anestesi, søvn og muskelrelaksasjon ved administrering av en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt

salt derav. Syntesefremgangsmåter for fremstilling av nevnte forbindelser og visse intermediater er også innenfor omfanget av oppfinnelsen. Relevante intermediater i seg selv utgjør også et annet formål med oppfinnelsen.

- 5 Foreliggende oppfinnelse angår nye [7-(3-amino-4-halofenyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl]-tiofen-2-yl-metanonacyl og sulfonylforbindelser med formel (I):



10

hvor

R representerer et alkyl(C_1-C_6);

R_1 er valgt fra gruppen som består av alkyl(C_1-C_6) og alkynyl(C_1-C_6);

- 15 X representerer et halogenatom; og

Y er valgt fra gruppen som består av $-CO-$ og $-SO_2-$;

og et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

20

Foretrukket R er metyl; R_1 er valgt fra metyl og prop-2-ynyl; og X er valgt fra fluor og klor.

25

Begrepet "farmasøytisk akseptabelt salt" slik det anvendes heri omfatter et hvilket som helst salt dannet fra organiske og uorganiske syrer, slik som hydrobromsyre, saltsyre, fosforsyre, salpetersyre, svovelsyre, eddiksyre, adipinsyre, aspartansyre, benzensulfonsyre, benzosyre, sitronsyre, etansulfonsyre, maursyre, fumarsyre, glutamarsyre, melkesyre, maleinsyre, eplesyre, malonsyre, mandelsyre, metansulfonsyre, 1,5-naftalendisulfonsyre, oksalsyre, pivalinsyre, propionsyre, p-toluensulfonsyre, ravsyre, vinsyre og lignende.

Foreliggende oppfinnelse innbefatter forbindelsene:

N-{2-fluor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-acetamid;

5 N-{2-klor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-acetamid;

N-{2-fluor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-metansulfonamid:

N-{2-klor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-metansulfonamid: and

10 N-{2-fluor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-prop-2-ynyl-metansulfonamid.

En annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen er å tilveiebringe en fremgangsmåte for fremstilling av forbindelsene med formel (I) og deres farmasøytisk akseptable salter.

15

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan anvendes for behandling eller hindring av sykdommer assosiert med GABA_A reseptormodulering hos et pattedyr som innbefatter administrering til nevnte pattedyr som trenger en effektiv mengde av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav. Mer spesifikt innbefatter

20 sykdommer assosiert med GABA_A reseptormodulering sykdommer assosiert med α_1 -GABA_A reseptormodulering og/eller α_2 -GABA_A reseptormodulering. En ikke-begrensende liste av slike sykdommer innbefatter angst, epilepsi, søvnforstyrrelser, som inkluderer insomni, og lignende.

25 En annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen er å tilveiebringe anvendelse av en forbindelse med formel (I) for behandling eller hindring av angst hos et pattedyr som trenger det som innbefatter administrering til nevnte pattedyr en effektiv mengde av nevnte forbindelse eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

30 En annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen er å tilveiebringe anvendelse av en forbindelse med formel (I) for behandling eller hindring av epilepsi hos et pattedyr som trenger det som innbefatter administrering til nevnte pattedyr en effektiv mengde av nevnte forbindelse eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

35 En annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen er å tilveiebringe anvendelse av en forbindelse med formel (I) for behandling eller hindring av søvnforstyrrelser hos et

pattedyr som trenger det som innbefatter administrering til nevnte pattedyr en effektiv mengde av nevnte forbindelse eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

En annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen er å tilveiebringe anvendelse av en
 5 forbindelse med formel (I) for behandling eller hindring av insomni hos et pattedyr som
 trenger det som innbefatter administrering til nevnte pattedyr en effektiv mengde av
 nevnte forbindelse eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

En annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen er å tilveiebringe anvendelse av en
 10 forbindelse med formel (I) for å indusere sedasjon-hypnose hos et pattedyr som trenger
 det som innbefatter administrering til nevnte pattedyr en effektiv mengde av nevnte
 forbindelse eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

En annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen er å tilveiebringe anvendelse av en
 15 forbindelse med formel (I) for å indusere anestesi hos et pattedyr som trenger det som
 innbefatter administrering til nevnte pattedyr en effektiv mengde av nevnte forbindelse
 eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

En annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen er å tilveiebringe anvendelse av en
 20 forbindelse med formel (I) for modulering av den nødvendige tiden for å indusere søvn
 og dens varighet hos et pattedyr som trenger det som innbefatter administrering til
 nevnte pattedyr en effektiv mengde av nevnte forbindelse eller et farmasøytisk
 akseptabelt salt derav.

En annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen er å tilveiebringe anvendelse av en
 25 forbindelse med formel (I) for å indusere muskelrelaksasjon hos et pattedyr som trenger
 det som innbefatter administrering til nevnte pattedyr en effektiv mengde av nevnte
 forbindelse eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

Foreliggende oppfinnelse angår også en fremgangsmåte for behandling eller hindring av
 et pattedyr som lider av sykdommer assosiert med GABA_A reseptormodulering hos et
 pattedyr, som innbefatter administrering til nevnte pattedyr som trenger det en
 terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk
 akseptabelt salt derav, sammen med farmasøytisk akseptable fortynningsmidler eller
 35 bærere. Mer spesifikt innbefatter sykdommer assosiert med GABA_A reseptormodulering
 sykdommer assosiert med α_1 -GABA_A reseptormodulering og/eller α_2 -GABA_A reseptor-

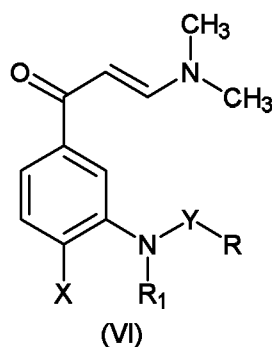
modulering. En ikke-begrensende liste av slike sykdommer innbefatter angst, epilepsi, søvnforstyrrelser, som inkluderer insomni og lignende.

Slik det anvendes heri skal begrepet "pattedyr" referere til pattedyr klassen av høyere
5 virveldyr. Begrepet "pattedyr" inkluderer, men er ikke begrenset til, et menneske.

En annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen er å tilveiebringe en farmasøytisk sammensetning som inneholder en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav i assosiasjon med terapeutisk inerte bærere.

10

En annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen er å tilveiebringe en fremgangsmåte for fremstilling av intermediatforbindelser med formel (VI):



15

hvor R , R_1 , X og Y er som definert ovenfor.

De spesifikke intermediatforbindelsene (VI), nemlig:

20

N-[5-(3-dimetylamino-akryloyl)-2-fluor-fenyl]-N-metyl-acetamid;
N-[2-klor-5-(3-dimetylamino-akryloyl)-fenyl]-N-metyl-acetamid;
N-[5-(3-dimetylamino-akryloyl)-2-fluor-fenyl]-N-metyl-metansulfonamid;
N-[2-klor-5-(3-dimetylamino-akryloyl)-fenyl]-N-metyl-metansulfonamid: og
25 N-[5-(3-dimetylamino-akryloyl)-2-fluor-fenyl]-N-prop-2-ynyl-metansulfonamid utgjør
en annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen.

30

Forbindelsene inkluderer de som er egnet for oral, rektal og parenteral (som inkluderer subkutan, intramuskulær og intravenøs) administrasjon, selv om den mest egnede ruten vil avhenge av typen og alvorlighet av sykdommen som behandles. Den mest foretrukne

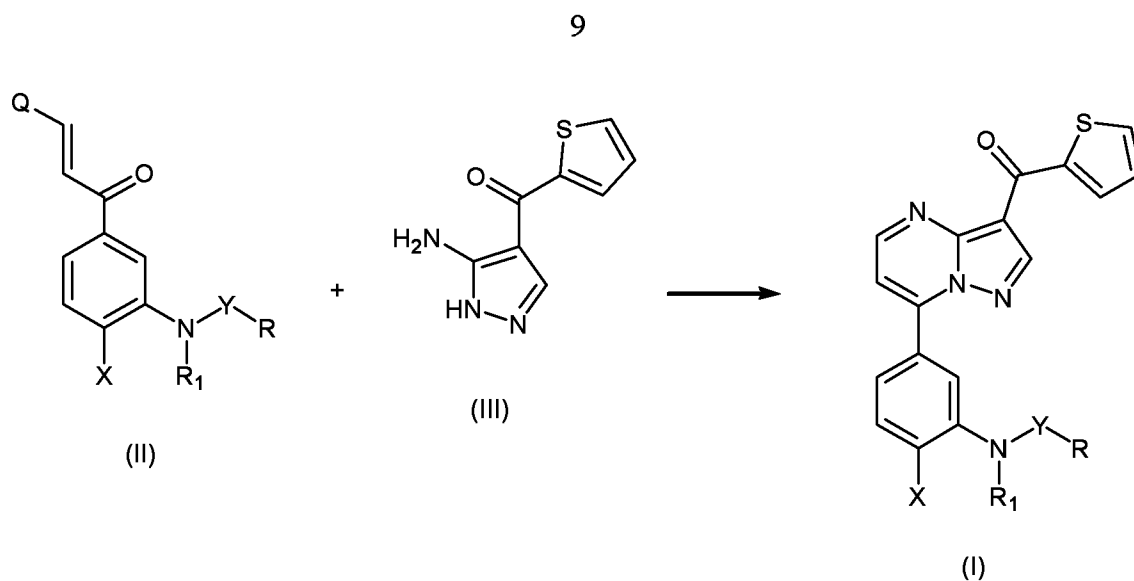
ruten ifølge oppfinnelsen er den orale ruten. Sammensetningene kan hensiktsmessig presenteres i enhetsdoseringsform, fremstilt ved en hvilken som helst av fremgangsmåtene som er kjente innen farmasi.

- 5 Den aktive forbindelsen kan kombineres med en farmasøytisk bærer i henhold til vanlige farmasøytiske sammenblandingsteknikker. Bæreren kan ha et bredt spekter av former som avhenger av formen av preparatet ønsket for administrasjon, for eksempel oral eller parenteral (som inkluderer intravenøse injeksjoner eller infusjoner). Ved fremstilling av sammensetningene for orale doseringsformer kan et hvilket som helst
- 10 vanlig farmasøytisk media anvendes. Vanlige farmasøytisk media inkluderer for eksempel, vann, glykoler, oljer, alkoholer, smaksstoffer, konserveringsstoffer, farvestoffer og lignende i tilfelle orale flytende preparater (slik som for eksempel suspensjoner, løsninger, emulsjoner og eliksirer); aerosoler; eller bærere slik som stivelse, sukker, mikrokrystallinsk cellulose, fortynningsmidler, granuleringsmidler,
- 15 smøremidler, bindemidler, desintegreringsmidler og lignende, i tilfelle orale faste preparater (slik som for eksempel pulvere, kapsler og tabletter) hvor orale faste preparater er foretrukket i forhold til orale flytende preparater.

- På grunn av deres enkle administrasjon representerer tabletter og kapsler den mest
- 20 fordelaktige orale doseringsenhetsformen, i hvilket tilfelle faste farmasøytiske bærere anvendes. Hvis ønskelig kan tablettene belegges med standard vandige eller ikke-vandige teknikker.

- Et egnet doseringsområde for anvendelse fra ca. 0,01 mg til ca. 100,00 mg total daglig
- 25 dose, gitt som en engang daglig administrasjon eller i oppdelte doser hvis påkrevet.

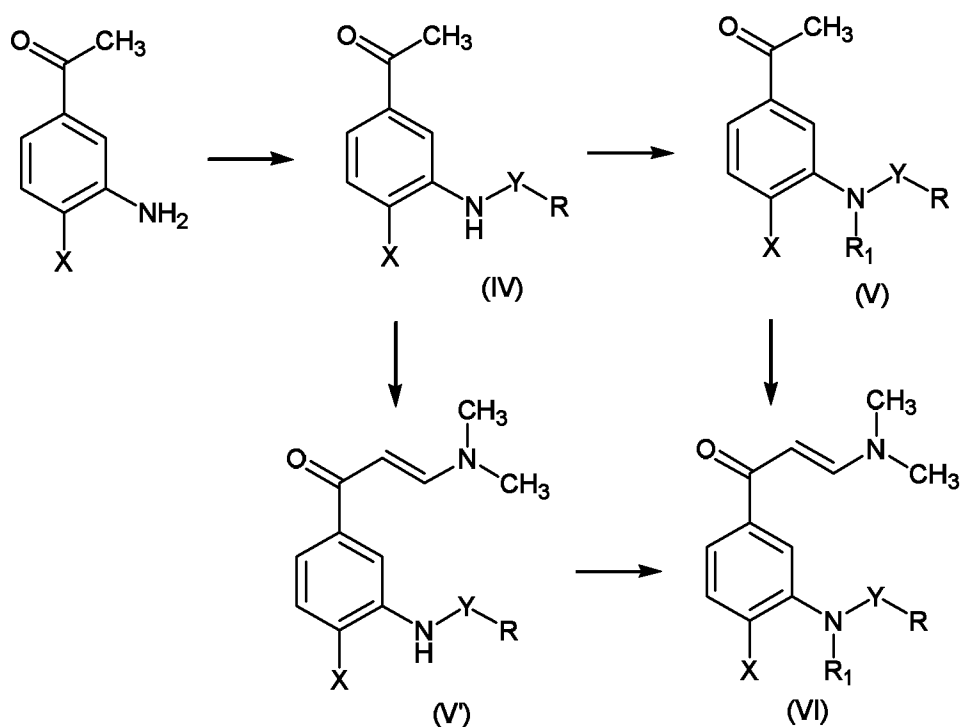
Forbindelsene med generell formel (I) kan fremstilles i henhold til reaksjonen vist i skjema 1.



Skjema 1

- I intermediatene med formel (II), er R, R₁, X og Y som definert i (I) og Q er en passende utgående gruppe valgt fra gruppen som består av N(dialkyl(C₁-C₆)), alkyltio(C₁-C₆) og alkoksy(C₁-C₆). Foretrukket er Q valgt fra gruppen som består av dimetylamino, metyltio og metoksy. Behandling av de resulterende forbindelsene i form av fri base med en syre gir det korresponderende saltet derav.
- Reaksjonen mellom aminopyrazol (III) og passende substituert 1-aryl-2-propen-1-on (II) utføres i et inert polart protisk eller aprotisk løsemiddel slik som iseddiksyre, etanol, metanol, dimetylformamid eller dimetylsulfoksid ved en temperatur varierende fra 50° til 130°C. Etter at det har gått flere timer (reaksjonstid), blir løsemidlet fjernet og residuet som oppnås fordeles mellom en vandig løsning av natriumbikarbonat og diklormetan. Det urene resulterende produktet fra fordampning av det organiske sjiktet til tørrhet kan renses ved en av følgende fremgangsmåter: (a) silikagelkromatografi ved anvendelse av etylacetat eller diklormetan /metanol som eluent; eller (b) krystallisering i et passende løsemiddel (etylacetat, etanol, metanol, etc.).
- Intermediatet med formel (II) når Q er dimetylamino [intermediat (VI)] kan oppnås ved å følge reaksjonssekvensen vist i skjema 2.

10



Skjema 2

5 hvori R, R₁, X og Y er som beskrevet ovenfor.

Intermediatene med formel (IV) når Y er en sulfonfylgruppe [intermediatene (IV')] fremstilles i henhold til fremgangsmåten beskrevet av R. H. Uloth et al (J. Med. Chem. 9, 88-96, 1966).

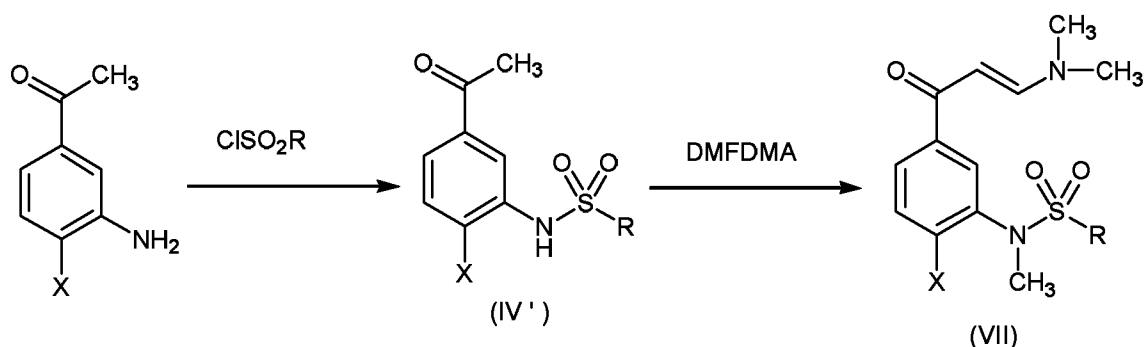
10

Alkylering av intermediatene (IV) som fører til intermediatene med formel (V) utføres via dannelse av et anion og etterfølgende reaksjon med et alkylhalid.

15 Enaminoforbindelsene med formel (V') og (VI) fremstilles ved omsetning av de korresponderende acetofenonene (IV) og (V) respektivt med N,N-dimetylformamid-dimetylacetal (DMFDMA) eller Brederick's reagens (*tert*-butoksybis(dimetylamino)-metan).

20 Intermediatene med formel (II), når Q er dimetylamino, Y er sulfonfyl og R₁ er metyl [intermediater (VII)], kan alternativt fremstilles i henhold til skjema 3.

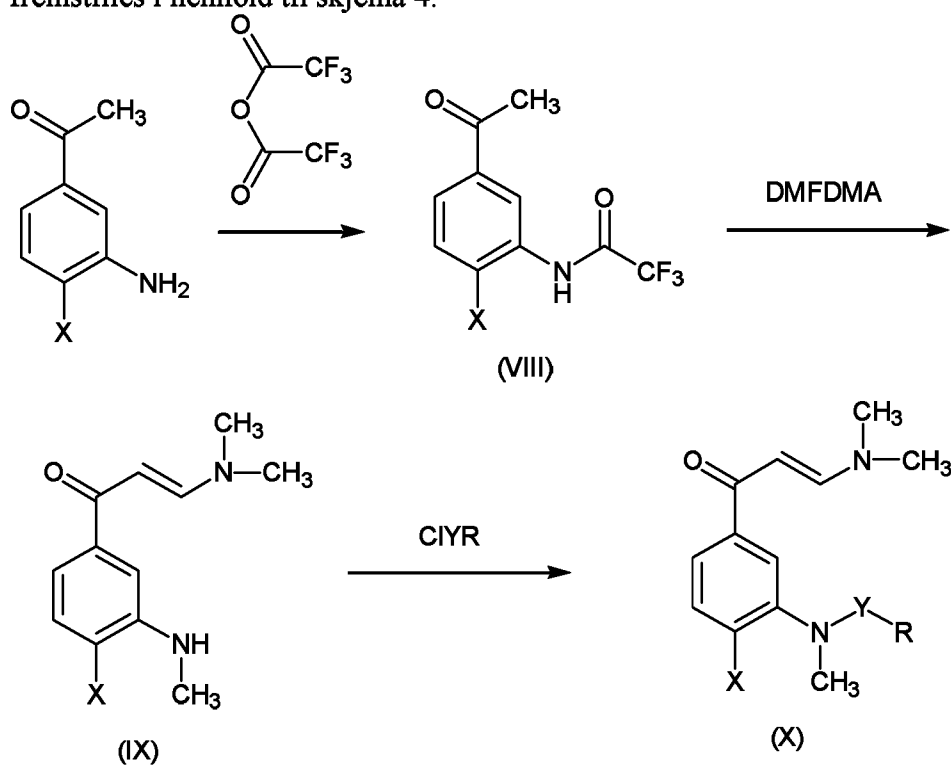
11



Skjema 3

Omdanning av (IV') til (VII) fører til dannelse av enaminoforbindelsen og, simultant
 5 dannelse av N-metyl-sulfonamidet som resultat av anvendelse av egenskapene til N,N-dimetylformamiddimetylacetalet som et metyleringsmiddel.

Intermediatene med formel (II), når Q er dimetylamino og R_1 er metyl (X), kan også fremstilles i henhold til skjema 4.



Skjema 4

Fordeelene ved denne fremgangsmåten er basert på det faktum at dannelsen av sulfonamidet eller karboksamidet finner sted i siste trinn i fremgangsmåten. Som et
 15 resultat blir det totale antallet reaksjonstrinn redusert ved fremstilling av en stor serie av produkter. Videre, slik det er vist i skjema, fører omdanning av (VIII) til (IX) til tre

etterfølgende reaksjoner i en enkolbefremgangsmåte: (a) dannelse av enaminonforbindelsen; (b) metylering av trifluoracetamid; og (c) deacylering som gir et N-metylerte aminet. Den etterfølgende reaksjonen mellom (IX) og den korresponderende sulfonsyren eller karboksylsyrekloridet fører til oppnåelse av
 5 intermediatene (X).

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen har høy affinitet for α_1 - og α_2 -GABA_A reseptorer. Disse *in vitro* resultatene er i overensstemmelse de *in vivo* resultatene oppnådd i sedasjon-hypnosetester.

10 I henhold til de oppnådde resultatene har forbindelsene ifølge oppfinnelsen vist seg farmakologisk aktivitet både *in vitro* og *in vivo*, som har vært tilsvarende eller høyere enn forbindelsene i litteraturen. Alle disse resultatene støtter deres anvendelse ved sykdommer eller tilstander modulert av α_1 - og α_2 -GABA_A reseptorer, slike som
 15 insomni eller anestesi, hvori en induksjon av søvn, en induksjon av sedasjon eller en induksjon av muskelrelaksasjon er nødvendig. Videre har det blitt funnet at administrering at forbindelsene ifølge oppfinnelsen ved lave doser gir en overraskende økning i den sedative-hypnotiske aktiviteten i forhold til det som oppnås ved anvendelse av forbindelsene i litteraturen (dvs. indiplon, zaleplon og eksemplene 3 og 16 fra
 20 WO200501497), slik det er illustrert nedenfor.

Farmkologiske og cytotoksiske aktiviteter, metabolisk stabilitet og farmakokinetisk profil for forbindelsene ifølge oppfinnelsen har blitt bestemt slik det er vist nedenfor.

25 a) Farmakologiske aktiviteter

1- Ligand-bindingsundersøkelser. Bestemmelse av affiniteten til testforbindelsene for α_1 - og α_2 -GABA_A reseptor

30 Hannkjønns-Dawley rotter som veier 200-250 g på eksperimenttidspunktet blir anvendt. Etter dekapitasjon ble cerebellum (vev som først og fremst inneholder α_1 -GABA_A reseptor) og ryggrad (vev som først og fremst inneholder α_2 -GABA_A reseptor) fjernet. Membranene ble preparert i henhold til fremgangsmåten til J. Lameh et al. (Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry, 24, 979-991, 2000) og H. Noguchi et al.
 35 (Eur J Pharm, 434, 21-28, 2002) med små modifikasjoner. Etter veiing av vevene ble de suspendert i 50 mM Tris·HCl (pH 7,4), 1:40 (v/v), eller sukrose 0,32 M i tilfelle

ryggrad, homogenisert og deretter sentrifugert ved 20000 g i 10 minutter ved 7°C. Den resulterende pelletsen ble resuspendert under de samme betingelser og sentrifugert igjen. Pelletsen ble tilslutt resuspendert i et minimumvolum og holdt ved -80°C over natten. Etterfølgende dag ble prosessen gjentatt til den endelige pelletsen ble
 5 resuspendert ved et forhold på 1:10 (volum/volum) i tilfelle cerebellum og et forhold på 1:5 (volum/volum) i tilfelle ryggrad.

Affinitet ble bestemt ved sammenlignende tester ved anvendelse av radiomerket flumazenil som ligand. Testene ble utført i henhold til fremgangsmåtene beskrevet av S. Arbilla et al. (Eur. J. Pharmacol., 130, 257-263, 1986); og Y. Wu et al. (Eur. J. Pharmacol., 278, 125-132, 1995) ved anvendelse av 96-brønns mikrotiterplater. Membranene som inneholder studiereseptorene, flumazenil (radiomerket ved en sluttkonsentrasjon på 1 nM) og stigende konsentrasjoner av testforbindelser (i et totalvolum på 230 µl i 50 mM [ph 7.4] Tris-HCl buffer) ble inkubert. Samtidig ble
 15 membranene kun inkubert med det radiomerkede flumazenil (totalbinding, 100%) og under nærvær av en hevet konsentrasjon ikke-radiomerket flumazenil (ikke-spesifikk binding, % estimering av radiomerket ligand). Reaksjonene startet ved tilsetning av den radiomerkede liganden fulgt av inkubering i 60 minutter ved 4°C. Ved slutten av inkuberingsperioden ble 200 µl reaksjonsblanding overført til en multiscreenplate (Millipore) og filtrert ved anvendelse av en vakuummanifold og deretter vasket tre
 20 ganger med kald testbuffer. Multiscreenplatene ble utstyrt med et GF/B filter som holdt tilbake membranene som inneholder reseptorer og den radiomerkede liganden som hadde blitt bundet til reseptorene. Etter vasking ble platene værende til de var tørre. Etter tørking ble scintillasjonsvæske tilsatt og ble rørt over natten. Neste dag ble platene
 25 talt ved anvendelse av en Perkin-Elmer mikrobetascintillasjonsteller.

For analyse av resultatene ble prosent spesifikk binding for hver konsentrasjon av testforbindelser beregnet som følger:

$$30 \quad \% \text{ spesifikk binding} = (X-N/T-N) \times 100$$

hvor,

X: mengden bundet ligand for hver konsentrasjon av forbindelse.

T: total binding, maksimum mengde bundet til den radiomerkede liganden.

35 N: ikke-spesifikk binding, mengden radiomerket ligand bundet på en ikke-spesifikk måte uten hensyn til reseptoren som anvendes.

Hver konsentrasjon av hver forbindelse ble testet i triplikat og deres middelverdier ble anvendt for å bestemme de eksperimentelle verdiene til % spesifikk binding versus konsentrasjonen av forbindelse. Affinitetsdata uttrykkes som % inhibering ved 10^{-5}M og 10^{-7}M konsentrasjoner og K_i ble oppnådd for noen forbindelser, hvori forholdene mellom α_1 og α_2 affiniteter ble beregnet. Resultatene av disse testene er gitt i tabellene 1 og 2. Fordelaktig viser visse forbindelser ifølge oppfinnelsen en høyere selektivitet som sedative - hypnotiske midler i forhold til muskelrelakseringsaktivitet slik det fremgår ved et økt α_2/α_1 forhold sammenlignet med forbindelser i litteraturen.

10

Tabell 1. Affinitet for α_1 underenheten til GABA_A reseptor

Forbindelse	% Inhib 10^{-5}M	% Inhib 10^{-7}M	K_i (nM)
Preparativt eksempel 2	100.4	95.3	2.1
Preparativt eksempel 4	99.8	60.0	57.6
Preparativt eksempel 6	99.7	88.8	1.7
Preparativt eksempel 8	93.8	40.9	--
Preparativt eksempel 10	100.0	99.7	0.98
Indiplon			3.1
Zaleplon	97.2	26.1	151.4
Eksempel 3 WO2005014597	100.4	90.6	7.4
Eksempel 16 WO2005014597	100.0	99.9	1.3

15

Tabell 2. Affinitet for α_2 underenheten til GABA_A reseptor

Forbindelse	% Inhib 10^{-5}M	% Inhib 10^{-7}M	K_i (nM)
Preparativt eksempel 2	99.3	67.3	20.0
Preparativt eksempel 4	95.7	8.4	197.8
Preparativt eksempel 6	97.9	55.9	11.2
Preparativt eksempel 8	68.9	0.0	--
Preparativt eksempel 10	100.2	97.5	1.6
Indiplon	99.2	65.7	23.8
Zaleplon	78.7	--	1528.1
Eksempel 3 WO2005014597	99.8	58.5	36.7
Eksempel 16 WO2005014597	100.2	87.2	22.0

I denne sammenheng er selektivitet α_2/α_1 forholdet for forbindelsen fra preparativt eksempel 2 9,6 til forskjell fra 7,7 for indiplon og 5,0 for forbindelsen fra eksempel 3 i WO2005014597, som således resulterer i 25% og 92% økt selektivitet, respektivt. Som en konsekvens av dette forventes færre bivirkninger fra forbindelsene ifølge
5 oppfinnelsen.

2- *In vivo* bestemmelse av prediktiv sedativ-hypnotisk virkning

In vivo effektene av disse forbindelsene ble bestemt med en prediktiv sedasjon-
10 hypnotisk test på mus (D. J. Sanger et al., Eur. J. Pharmacol., 313, 35-42, 1996; og G. Griebel et al., Psychopharmacology, 146, 205-213, 1999).

Grupper på 5-8 hannkjønns CD1 mus, som veier 22-26 g på testtidspunktet, ble anvendt. Testforbindelsene ble administrert i enkle ekvimolekylære intraperitoneale
15 doser, suspendert i 0,25% agar med en dråpe Tween 80 i et volum på 10 ml/kg. To doser ble testet ved hver rute. Kontrolldyr mottok vehikkel alene. Ved anvendelse av et Smart System (Panlab, S.L., Spania) ble den tilbakelagte distansen i cm avlest for hver mus ved 5-min intervaller i løpet av en periode på 30 minutter etter intraperitoneal (ip) dosering og 60 minutter etter oral (po) dosering. Inhiberingsprosentandel av tilbakelagt
20 distanse for behandlede dyr versus kontrolldyr (de første 5 minuttene ble tatt bort) ble beregnet. Resultatene av denne testen er vist i tabell 3.

Tabell 3. Bestemmelse av *in vivo* sedativ-hypnotisk aktivitet hos mus

Forbindelse	% Inhibert motorisk aktivitet			
	Ip		po	
	98 $\mu\text{mol/kg}$	0.98 $\mu\text{mol/kg}$	98 $\mu\text{mol/kg}$	3 $\mu\text{mol/kg}$
Preparativt eksempel 2	94.97	81.21	92.29	84.01
Preparativt eksempel 4	90.26	--	88.71	--
Preparativt eksempel 6	91.5	69.42	82.00	46.23
Preparativt eksempel 8	78.26	--	--	--
Preparativt eksempel 10	91.6	91.94	90.22	47.89
Indiplon	88.04	70.45	82.40	73.67
Zaleplon	84.98	32.67	64.11	25.39
Eksempel 3 WO2005014597	89.76	64.56	--	--
Eksempel 16 WO2005014597	95.36	71.43	84.33	38.78

Overraskende viste relevante forbindelser ifølge oppfinnelsen en økt sedativ-hypnotisk aktivitet sammenlignet med forbindelsene i litteraturen.

Særlig gir forbindelsene ifølge oppfinnelsen ved lave doser opphav til en høyere økning i den sedativ-hypnotiske aktiviteten i forhold til den som oppnås ved anvendelse av forbindelsene i litteraturen (dvs. Indiplon, Zaleplon og eksempel 3 og 16 fra WO2005014597). Dette er av stor viktighet siden det er mulig å nå den ønskede terapeutiske effekten (dvs. sedativ-hypnotisk) ved anvendelse av en lavere dose med den etterfølgende fordelen at de relaterte bivirkningene kan minimaliseres.

Sammenligningen mellom forbindelsene ifølge oppfinnelsen og de korresponderende forbindelsene i litteraturen viser at tilstedeværelse av et halogenatom i strukturen representert ved formel (I) gir opphav til en økning i den sedative-hypnotiske aktiviteten, særlig ved lave doser. Således blir for eksempel ved sammenligning av aktiviteten mellom forbindelsen i eksempel 10 ifølge oppfinnelsen med den som oppnås med forbindelsen i eksempel 16 i WO2005014597, en økning høyere enn 20% oppnådd når en lav dose anvendes, uavhengig av administrasjonsrute.

b) Cytotoksisk aktivitet

In vitro bestemmelse av celletoksisitet i HepG2 ved 24 timer

HepG2 celler (human hepatocellulær karsinom) ble oppnådd fra the American Type Culture Collection (ATCC) og dyrket i Eagle's minimum essensielt medium (Eagle) med Eagle's balanserte saltløsning justert til å inneholde 1,87 mM GlutamaxTM I, 0,1 mM ikke-essensielle aminosyrer, 1,0 mM natriumpyruvat, 100000 U/L penicillin, 10000 µg/L streptomycin 90%; fosterbovinserum, 10%. Promega CellTiter 96® vandig ikke-radioaktiv celle levedyktighet undersøkelse inneholder tetrazoliumforbindelsen [3-(4,5-dimetyltiazol-2-yl)-5-(3-karboxymetoksyfenyl)-2-(4-sulfofenyl)-2H- tetrazolium, indre salt (MTS). Omdanning av MTS til det vannløselige formazanproduktet utføres ved dehydrogenaseenzymer funnet i metabolitisk aktive celler. Mengden formazanprodukt er direkte proporsjonalt med antallet levende celler i kulturen.

Forbindelser ble løst i DMSO for å gi en initiell konsentrasjon på 100 mM. Seriefortynninger ble gjort fra denne forrådsløsningen i DMSO for å gi konsentrasjoner på 10, 1, 0,1 og 0,01 mM. Forrådsløsningen og seriefortynningene ble deretter fortynnet

1:100 med cellekulturmedium for å gi seks sluttundersøkelseskonsentrasjoner på 1000, 100, 10, 1, 0,1 og 0,01 μM . Slutt DMSO konsentrasjon i alle brønnene var 1% volum/volum. HepG2 celler ble inkubert med testforbindelser i 24 timer. Relativ cellelevedyktighet ble bestemt spektro-fotometrisk ved 490 nm ettefølgende tilsetning
 5 av MTS farvestoffet og ytterligere en time inkubering. Tamoxifen ble anvendt som positiv kontroll.

Prosent absorbansen til prøvene behandlet med testartikkelen ble sammenlignet med den ikke-behandlede prøven for å beregne prosent av kontroll. Resultatene av denne
 10 testen er gitt i tabell 4.

Tabell 4. Bestemmelse av celletoksisitet i HepG2

Forbindelse	100 μM
Preparativt eksempel 2	107.19
Preparativt eksempel 4	92.86
Preparativt eksempel 6	84.31
Preparativt eksempel 8	75.39
Preparativt eksempel 10	--
Indiplon	69.8
Zaleplon	97.5
Eksempel 16 WO2005014597	53.2

15 Følgelig viser forbindelsene fra fremstillingseksempel 2, 4, 6 og 8 overraskende lavere toksisitet enn forbindelsene i litteraturen, som således gir en bedre sikkerhetsprofil for forbindelsene ifølge oppfinnelsen.

20 c) Metabolitisk stabilitet

In vitro bestemmelse av metabolitisk stabilitet i humane hepatocytter cytosolisk fraksjon

Forbindelser ble løst i DMSO for å oppnå en initiell konsentrasjon på 10 mM. Denne
 25 forrådsløsningen ble deretter fortynnet med løsemiddel og buffer for å gi sluttundersøkelseskonsentrasjon på 5 μM . Forbindelser ble testet ved en enkel konsentrasjon på 5 μM i duplikat inkuberende med 1,0 mg/ml oppsamlet human cytosol

(oppnådd fra Xenotech plc) ved 37° C. Metabolisme ble bestemt under nærvær eller fravær av kofaktorer og målt som tap av morforbindelse ved LC/MS analyse ved 0, 60 og 120-minutter tidspunkter. Prosent morforbindelse tilbake ble deretter beregnet. En generisk LC fremgangsmåte ble anvendt:

5

Mobil fase: A = 0,1% Maursyre i vann
 B = 0,1% Maursyre i acetonitril
 HPLC Kolonne: Higgins Clipius C18 5µm, 50 x 3mm
 Strømnings-

10

hastighet: 2ml.min⁻¹

Gradient:	Tid	% A	% B
	0.00	95	5
	2.00	5	95
	2.50	5	95
	2.60	95	5
	3.00	95	5

15

Resultatene av denne testen er gitt i tabell 5.

20

Tabell 5. Metabolitisk stabilitet i human hepatocytosolisk fraksjon

Forbindelse	60 min	120 min
Preparativt eksempel 2	104	110
Preparativt eksempel 4	105	103
Preparativt eksempel 6	103	106
Indiplon	100	98
Zaleplon	79	68

25

Overraskende viser noen forbindelser ifølge oppfinnelsen en økt metabolitisk stabilitet sammenlignet med forbindelsene i litteraturen, som således predikerer en forbedret farmakokinetisk profil for forbindelsene ifølge oppfinnelsen.

d) Farmakokinetisk profil

30

In vivo bestemmelse av farmakokinetisk profil etter enkeltdose

Forbindelsen fra fremstillingseksempel 2 ble testet for farmakokinetisk profil etterfølgende intravenøs administrasjon. Indiplon ble anvendt som referanseforbindelse. Tre hannkjønn Sprague-Dawley rotter, som veier 250-300 g ble anvendt for hver forbindelse. Prøvetakingen ble utført ved retroorbital sinus punktering ved følgende

5 tidspunkter 2,5, 5, 30, 60, 120, 180, 300 og 420 minutter etter administrasjon. Prøvene ble holdt på et isbad til plasmaseparasjon. Dyrene ble anestesibehandlet med isofluran inhalert ved hver ekstraksjon. Plasma ble separert ved sentrifugering (10 min, 4°C, 4500 rpm) og lagret ved en temperatur under -70 °C til analyse.

- 10 En analytisk fremgangsmåte basert på en ekstraksjon av hver forbindelse med væskefaststoff ekstraksjon og etterfølgende bestemmelse med LC/MS eller LC/MS/MS ved anvendelse av en indre standard (IS) ble anvendt.

- Beregning av farmakokinetiske parametere (AUC_{0-t} = areal under kurve fra null til siste ekstraksjonstidspunkt, Cl = klarering, $t_{1/2}$ = halveringstid og Vd = fordelingsvolum) i
- 15 henhold til ikke-avdelingsanalyse ble utført. Resultatene er vist i tabell 6.

Tabell 6. Farmakokinetiske parametere

Parameter	Forbindelse	Middelverdi
AUC_{0-t} (g*hr/L)	Indiplon	0.0007
	Preparativt eksempel 2	0.0011
Cl (L/hr/kg)	Indiplon	3.4500
	Preparativt eksempel 2	2.7442
$t_{1/2}$ (hr)	Indiplon	0.9837
	Preparativt eksempel 2	1.7315
Vd (L/kg)	Indiplon	2.3206
	Preparativt eksempel 2	7.2442

20

- Eksperimentresultatene fremviser en svært forskjellig farmakokinetisk profil for forbindelsen i eksempel 2 sammenlignet med forbindelse Indiplon fra litteraturen. Helt klart er arealet under kurven 57% høyere for forbindelsen i fremstillingseksempel 2,
- 25 som således indikerer en økt eksponering for produktet; klarering er 20% lavere mens dens halveringstid er 76% høyere, som således avdekker en langsommere elimineringshastighet; og sluttfordelingsvolumet er 212% høyere, som viser omfattende

- fordeling til dype ikke-vandige fordelinger (dvs. hjernen) sammenlignet med indiplon. Farmakokinetiske parametre korrelerer med noen dyrefarmakolonifunn. For eksempel ble i *in vivo* sedativ – hypnotisk aktivitetstesten hos mus (3 µmol/kg po) inhiberingsprosentandelen redusert fra 74% (5 minutter) til 67% (60 minutter) for indiplon, til forskjell fra dette holder nevnte parameter seg konstant ved 84% for forbindelsen fra fremstillingseksempel 2. Nevnte overraskende farmakokinetiske egenskaper viser at forbindelsen ifølge oppfinnelsen gir en bedre søvnkvalitet som således unngår nokturnale oppvåkninger og gir en bedre og mer sammenhengende søvn.
- 10 Følgende ikke-begrensende eksempler illustrerer omfanget av oppfinnelsen.

Fremstillingseksempel 1: N-[5-(3-Dimetylamino-akryloyl)-2-fluor-fenyl]-N-metyl-acetamid

- 15 3,3 g (16,9 mmol) N-(5-acetyl-2-fluor-fenyl)-acetamid løses i 8,36 ml (7,49 g) (62,89 mmol) N,N-dimetylformamiddimetylacetal og den resulterende løsningen reflukses i 6,5 timer. Overskudd flyktige reagenser fjernes ved redusert trykkdestillasjon som gir et urent produkt som rekrystalliseres fra etylacetat. 3,32 g N-[5-(3-dimetylamino-akryloyl)-2-fluor-fenyl]-acetamid som et gulaktig-hvitt faststoff ble oppnådd (utbytte 20 78,6%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 2,21 (3H, s), 2,89 (3H, s), 3,11 (3H, s), 5,65 (1H, d, J= 12,8 Hz), 7,05-7,1 (1H, m), 7,62-7,68 (2H, m), 7,77 (1H, d, J= 12,4 Hz), 8,71-8,73 (1H, m).

25

MS (ES) *m/z* = 251 (MH⁺)

HPLC = 99,8%

- 1,5 g (5,99 mmol) N-[5-(3-dimetylamino-akryloyl)-2-fluor-fenyl]-acetamid løses i 15 ml tørr N,N-dimetylformamid. Til løsningen dannet ved 0°C og under inert atmosfære blir 0,29 g (7,31 mmol) natriumhydrid tilsatt. Etter røring i 30 minutter ble en løsning av 0,94 g (6,59 mmol) metyljodid i 5 ml tørr N,N-dimetylformamid tilsatt og røring fortsatte ved romtemperatur i 5 timer. Løsemidlet ble fjernet ved redusert trykkdestillasjon. Til det resulterende residuet ble det tilsatt 30 ml diklormetan og 10 ml vann. De to sjiktene ble separert og vannsjiktet vasket med 30 ml diklormetan. De 35 organiske sjiktene ble vasket med 40 ml vann og tørket over magnesiumsulfat.

Diklormetansjiktet ble fordampet til tørrhet som gir en olje som, krystallisert fra etylacetat, ga 804 mg N-[5-(3-dimetylamino-akryloyl)-2-fluor-fenyl]-N-metyl-acetamid som et gulaktig-hvitt faststoff (utbytte 50,8%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1,85 (3H, s), 2,94 (3H, s), 3,17 (3H, s), 3,22 (3H, s), 5,62 (1H, d, J= 12,4 Hz), 7,16-7,25 (1H, m), 7,78-7,89 (3H, m).

MS (ES) *m/z* = 265 (MH⁺)

HPLC = 94,9%

10

Fremstillingseksempel 2: N-{2-Fluor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-acetamid

En blanding av 0,073 g (0,38 mmol) (5-amino-1H-pyrazol-4-yl)-tiofen2-yl-metanon og 0,1 g (0,38 mmol) N-[5-(3-dimetylamino-akryloyl)-2-fluor-fenyl]-N-metyl-acetamid i 10 ml iseddiksyre reflukses i 2,5 timer og deretter ble løsemidlet fjernet ved redusert trykkdestillasjon. Til det resulterende residuet ble det tilsatt 15 ml diklormetan og 10 ml mettet natriumbikarbonatløsning. De to sjiktene ble separert og vannsjiktet vasket med 10 ml diklormetan. De organiske sjiktene ble vasket med 10 ml vann og tørket over magnesiumsulfat. Diklormetansjiktet ble fordampet til tørrhet som gir en olje som, under nærvær av etylacetat, ga 112 mg N-{2-fluor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-acetamid som et faststoff (utbytte 75%).

¹H NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 1,98 (3H, s), 3,3 (3H, s), 7,13 (1H, d, J= 4 Hz), 7,18-7,20 (1H, m), 7,42 (1H, t, J= 8,8 Hz), 7,71 (1H, d, J= 5,2 Hz), 8,02-8,08 (2H, m), 8,12 (1H, dd, J= 2,4 og 7,6 Hz), 8,71 (1H, s), 8,82 (1H, d, J= 4 Hz).

MS (ES) *m/z* = 395 (MH⁺)

HPLC = 99,2%

30 Smeltepunkt = 165-167°C

Fremstillingseksempel 3: N-[2-Klor-5-(3-dimetylamino-akryloyl)-fenyl]-N-metyl-acetamid

35 4,46 g (21,1 mmol) N-(5-acetyl-2-klor-fenyl)-acetamid løses i 10,4 ml (9,34 g) (78,39 mmol) N,N-dimetylformamiddimetylacetal og den resulterende løsningen reflukses i

6,5 timer. Overskudd flyktige reagenser fjernes ved redusert trykkdestillasjon som gir et urent produkt som rekrystalliseres fra etylacetat. 4,53 g N-[2-klor-5-(3-dimetylamino-akryloyl)-fenyl]-acetamid som et gulaktig-hvitt faststoff ble oppnådd (utbytte 80,5%).

5 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 2,24 (3H, s), 2,90 (3H, s), 3,12 (3H, s), 5,66 (1H, d, $J=12,4$ Hz), 7,38 (1H, d, $J=8,8$ Hz), 7,62 (1H, d, $J=8,8$ Hz), 7,69 (1H, s), 7,77 (1H, d, $J=12,4$ Hz), 8,7 (1H, s).

MS (ES) $m/z = 267$ (MH $^+$)

10 HPLC = 98,3%

1,0 g (3,75 mmol) N-[2-klor-5-(3-dimetylamino-akryloyl)-fenyl]-acetamid løses i 10 ml tørr N,N-dimetylformamid. Til løsningen dannet ved 0°C og under inert atmosfære, ble 0,18 g (4,57 mmol) natriumhydrid tilsatt. Etter røring i 30 minutter ble en løsning av
15 0,59 g (4,12 mmol) metyljodid i 3 ml tørr N,N-dimetylformamid tilsatt og røring fortsatte ved romtemperatur i 5 timer. Løsemidlet ble fjernet ved redusert trykkdestillasjon. Til det resulterende residuet ble det tilsatt 30 ml diklormetan og 10 ml vann. De to sjiktene ble separert og vannsjiktet vasket med 30 ml diklormetan. De organiske sjiktene ble vasket med 40 ml vann og tørket over magnesiumsulfat.
20 Diklormetansjiktet ble fordampet til tørrhet som gir en olje som, krystallisert fra etylacetat-heksan, ga 928 mg N-[2-klor-5-(3-dimetylamino-akryloyl)-fenyl]-N-metyl-acetamid som et gulaktig-hvitt faststoff ble oppnådd (utbytte 88,16%).

25 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 1,79 (3H, s), 2,94 (3H, s), 3,17 (3H, s), 3,19 (3H, s), 5,61 (1H, d, $J=12,4$ Hz), 7,50 (1H, d, $J=8,4$ Hz), 7,79-7,85 (3H, m).

MS (ES) $m/z = 281$ (MH $^+$)

HPLC = 100%

30 **Fremstillingseksempel 4:** N-{2-Klor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-acetamid

En blanding av 0,083 g (0,43 mmol) (5-amino-1H-pyrazol-4-yl)-tiofen2-yl-metanon og 0,12 g (0,43 mmol) N-[2-klor-5-(3-dimetylamino-akryloyl)-fenyl]-N-metyl-acetamid i
35 12 ml iseddiksyre refluxeres i 1,5 timer og deretter ble løsemidlet fjernet ved redusert trykkdestillasjon. Til det resulterende residuet ble det tilsatt 15 ml diklormetan og 10 ml

mettet natriumbikarbonatløsning. De to sjiktene ble separert og vannsjiktet vasket med 10 ml diklormetan. De organiske sjiktene ble vasket med 10 ml vann og tørket over magnesiumsulfat. Diklormetansjiktet ble fordampet til tørrhet som gir en olje som, under nærvær av etylacetat, ga 139 mg N-{2-klor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-acetamid som et faststoff (utbytte 79%).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 1,92 (3H, s), 3,27 (3H, s), 7,15 (1H, d, $J = 4,8$ Hz), 7,19-7,21 (1H, m), 7,70-7,71 (1H, m), 7,73 (1H, d, $J = 8,8$ Hz), 8,02 (1H, dd, $J = 2,4$ og 7,6 Hz), 8,06-8,07 (1H, m), 8,12 (1H, d, $J = 2$ Hz), 8,71 (1H, s), 8,83 (1H, d, $J = 4$ Hz).

10

MS (ES) $m/z = 411$ (MH $^+$)

HPLC = 99,6%

Smeltepunkt = 191-193°C

Fremstillingseksempel 5: N-[5-(3-Dimetylamino-akryloyl)-2-fluor-fenyl]-N-metyl-metansulfonamid

1,66 g (6,77 mmol) N-(5-acetyl-2-fluor-fenyl)-N-metyl-metansulfonamid løses i 3,35 ml (3,0 g) (25,18 mmol) N,N-dimetylformamiddimetylacetal og den resulterende løsningen reflukses i 2,5 timer. Blandingen ble avkjølt til romtemperatur. Det dannede faste stoffet ble tilsatt 20 ml n-heksan og filtrert som ga et faststoff som rekrystalliseres fra etylacetat. 1,37 g N-[5-(3-dimetylamino-akryloyl)-2-fluor-fenyl]-N-metyl-metansulfonamid som et gulaktig-hvitt faststoff ble oppnådd (utbytte 67,4%).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 2,92 (3H, s), 2,96 (3H, s), 3,15 (3H, s), 3,31 (3H, s), 5,61 (1H, d, $J = 12,8$ Hz), 7,13-7,18 (1H, m), 7,78 (1H, d, $J = 12,8$ Hz), 7,88-7,93 (2H, m).

MS (ES) $m/z = 301$ (MH $^+$)

HPLC = 97,99%

Fremstillingseksempel 6: N-{2-Fluor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-metansulfonamid

En blanding av 0,064 g (0,33 mmol) (5-amino-1H-pyrazol-4-yl)-tiofen2-yl-metanon og 0,1 g (0,33 mmol) N-[5-(3-dimetylamino-akryloyl)-2-fluor-fenyl]-N-metyl-

metansulfonamid i 10 ml iseddiksyre reflukses i 2,5 timer og deretter ble løsemidlet fjernet ved redusert trykkdestillasjon. Til det resulterende residuet ble det tilsatt 15 ml diklormetan og 10 ml mettet natriumbikarbonatløsning. De to sjiktene ble separert og vannsjiktet vasket med 10 ml diklormetan. De organiske sjiktene ble vasket med 10 ml vann og tørket over magnesiumsulfat. Diklormetansjiktet ble fordampet til tørrhet som gir en olje som, under nærvær av etylacetat, ga 111 mg N-{2-fluor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-metansulfonamid som et faststoff (utbytte 77%).

¹H NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 3,01 (3H, s), 3,39 (3H, s), 7,13 (1H, d, J= 4,4 Hz), 7,18-7,20 (1H, m), 7,36-7,41 (1H, m), 7,70 (1H, dd, J= 1,2 og 5,2 Hz), 8,07-8,09 (1H, m), 8,11-8,17 (2H, m), 8,7 (1H, s), 8,80 (1H, d, J= 4.8 Hz).

MS (ES) *m/z* = 431 (MH⁺)

HPLC = 98,6%

Smeltepunkt = 194-196°C

Fremstillingseksempel 7: N-[2-Klor-5-(3-dimetylamino-akryloyl)-fenyl]-N-metyl-metansulfonamid

1,0 g (4,04 mmol) N-(5-acetyl-2-klor-fenyl)-metansulfonamid løses i 10 ml tørr N,N-dimetylformamid og 2,69 ml (2,41 g) (20,19 mmol) N,N-dimetylformamid dimetylacetat. Den resulterende løsningen reflukses i 2 timer. Løsemidlet og overskudd flyktige reagenser fjernes ved redusert trykkdestillasjon som gir en olje som, under nærvær av etylacetat, ga 1.04 g urent produkt. Dette ble kromatografert (silikagel) ved anvendelse av etylacetat/2-propanol som eluent. 0,51 g N-[2-klor-5-(3-dimetylamino-akryloyl)-fenyl]-N-metyl-metansulfonamid som et gulaktig-hvitt faststoff ble oppnådd (utbytte 40%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 2,9 (3H, s), 3,04 (3H, s), 3,15 (3H, s), 3,3 (3H, s), 5,61 (1H, d, J= 12,4 Hz), 7,48 (1H, d, J= 8,4 Hz), 7,78 (1H, d, J= 12,8 Hz), 7,83 (1H, dd, J= 8,8-1,6 Hz), 7,93 (1H, d, J= 1,6 Hz).

MS (ES) *m/z* = 317 (MH⁺)

HPLC = 87,58%

Fremstillingseksempel 8: N-{2-Klor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-metansulfonamid

En blanding av 0,076 g (0,39 mmol) (5-amino-1H-pyrazol-4-yl)-tiofen2-yl-metanon og
 5 0,124 g (0,39 mmol) (N-[2-klor-5-(3-dimetylamino-akryloyl)-fenyl]-N-metyl-
 metansulfonamid i 10 ml iseddiksyre reflukses i 1,5 timer og løsemidlet ble deretter
 fjernet ved redusert trykkdestillasjon. Til det resulterende residuet ble det tilsatt 15 ml
 diklormetan og 10 ml mettet natriumbikarbonatløsning. De to sjiktene ble separert og
 vannsjiktet vasket med 10 ml diklormetan. De organiske sjiktene ble vasket med 10 ml
 10 vann og tørket over magnesiumsulfat. Diklormetansjiktet ble fordampet til tørrhet som
 gir en olje som, under nærvær av etylacetat, ga 128 mg N-{2-klor-5-[3-(tiofen2-
 karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-metansulfonamid som et
 faststoff (utbytte 73%).

15 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 3,09 (3H, s), 3,38 (3H, s), 7,15 (1H, d, $J = 4,8$ Hz),
 7,19-7,20 (1H, m), 7,68-7,71 (2H, m), 8,07-8,09 (2H, m), 8,19 (1H, d, $J = 2$ Hz), 8,71
 (1H, s), 8,82 (1H, d, $J = 4,4$ Hz).

MS (ES) $m/z = 447$ (MH $^+$)

20 HPLC = 98,1%

Smeltepunkt = 241-243°C

Fremstillingseksempel 9: N-[5-(3-Dimetylamino-akryloyl)-2-fluor-fenyl]-N-prop-2-ynyl-metansulfonamid

25 1,2 g (4,46 mmol) N-(5-acetyl-2-fluor-fenyl)-N-prop-2-ynyl-metansulfonamid løses i 3
 ml (2,7 g) (22,58 mmol) N,N-dimetylformamiddimetylacetal og den resulterende
 løsningen reflukses i 2,5 timer. Blandingen ble avkjølt til romtemperatur og 20 ml n-
 heksan ble tilsatt. Den oppnådde oljen ble kromatografert (silikagel) ved anvendelse av
 30 etylacetat/2-propanol som eluent. 0,46 g av et gulaktig-hvitt faststoff ble oppnådd. Dette
 faste stoffet ble krystallisert i etylacetat og 0,213 g N-[5-(3-dimetylamino-akryloyl)-2-
 fluor-fenyl]-N-prop-2-ynyl-metansulfonamid ble oppnådd (utbytte 14,7%).

35 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 2,35 (1H, m), 2,92 (3H, s), 3,11 (3H, s), 3,15 (3H, s),
 4,43 (2H, m), 5,61 (1H, d, $J = 12,8$ Hz), 7,16-7,21 (1H, m), 7,79 (1H, d, $J = 12,8$ Hz),
 7,91-7,94 (1H, m), 8,01-8,04 (1H, m).

MS (ES) $m/z = 325$ (MH⁺)

HPLC = 91,63%

Fremstillingseksempel 10: N-{2-Fluor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-prop-2-ynyl-metansulfonamid

En blanding av 0,108 g (0,56 mmol) (5-amino-1H-pyrazol-4-yl)-tiofen2-yl-metanon og 0,198 g (0,61 mmol) N-[5-(3-dimetylamino-akryloyl)-2-fluor-fenyl]-N-prop-2-ynyl-metansulfonamid i 10 ml iseddiksyre reflukses i 2 timer og deretter ble løsemidlet fjernet ved redusert trykkdestillasjon. Til det resulterende residuet ble det tilsatt 15 ml diklormetan og 10 ml mettet natriumbikarbonatløsning. De to sjiktene ble separert og vannsjiktet vasket med 10 ml diklormetan. De organiske sjiktene ble vasket med 10 ml vann og tørket over magnesiumsulfat. Diklormetansjiktet ble fordampet til tørrhet som gir en olje som, under nærvær av etylacetat, ga 156 mg N-{2-fluor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-prop-2-ynyl-metansulfonamid som et faststoff (utbytte 61%).

¹H NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 2,39 (1H, s), 3,16 (3H, s), 4,50 (2H, s), 7,14 (1H, d, J= 4,4 Hz), 7,18-7,20 (1H, m), 7,40-7,44 (1H, m), 7,70 (1H, m), 8,07-8,09 (1H, m), 8,18-8,21 (1H, m), 8,24-8,26 (1H, m), 8,7 (1H, s), 8,80 (1H, d, J= 4,8 Hz).

MS (ES) $m/z = 455$ (MH⁺)

HPLC = 94,9%

Smeltepunkt = 149-153°C

25

Sammensetningseksempel 1: 5 mg tabletter

Forbindelsen i fremstillingseksempel 2	5.0 mg
Kolloidal silisiumdioksid	0.6 mg
Krosskarmellosenatrium	12.0 mg
Talkum	4.0 mg
Magnesiumstearat	1.5 mg
Polysorbat 80	1.0 mg
Laktose	75.0 mg
Hydroksypropylmetylcellulose	3.0 mg
Polyetylglykol 4000	0.5 mg

Titaniumdioksid E171	1.5 mg
Mikrokrystallinsk cellulose q.s. til	125.0 mg

Sammensetningseksempel 2: 10 mg kapsler

Forbindelsen i fremstillingseksempel 2	10.0 mg
Kolloidal silisiumdioksid	0.6 mg
Krosspovidon	12.0 mg
Talkum	4.0 mg
Magnesiumstearat	1.5 mg
Laurylsulfatnatrium	1.5 mg
Laktose	77.0 mg
Gelatin	28.5 mg
Titaniumdioksid E171	1.5 mg
Indigotin E132	0.02 mg
Mikrokrystallinsk cellulose q.s. til	155.0 mg

5

Sammensetningseksempel 3: orale dråper

Forbindelsen i fremstillingseksempel 2	0.5 g
Propylenglykol	10.0 g
Glyserin	5.0 g
Sakkarinnatrium	0.1 g
Polysorbat 80	1.0 g
Sitronsmak	0.2 g
Etanol	25.0 ml
Renset vann q.s. til	100.0 ml

10

Sammensetningseksempel 4: 2,5 mg tabletter

Forbindelsen i fremstillingseksempel 2	2.5 mg
Kolloidal silisiumdioksid	0.6 mg
Krosskarmellosenatrium	12.0 mg
Talkum	4.0 mg
Magnesiumstearat	1.5 mg
Polysorbat 80	1.0 mg
Laktose	75.0 mg
Hydroksypropylmetylcellulose	3.0 mg
Polyetylglykol 4000	0.5 mg
Titaniumdioksid E171	1.5 mg
Mikrokrystallinsk cellulose q.s. til	125.0 mg

5 **Sammensetningseksempel 5: 5 mg kapsler**

Forbindelsen i fremstillingseksempel 2	5.0 mg
Kolloidal silisiumdioksid	0.6 mg
Krosspovidon	12.0 mg
Talkum	4.0 mg
Magnesiumstearat	1.5 mg
Laurylsulfatnatrium	1.5 mg
Laktose	77.0 mg
Gelatin	28.5 mg
Titaniumdioksid E171	1.5 mg
Indigotin E132	0.02 mg
Mikrokrystallinsk cellulose q.s. til	155.0 mg

Sammensetningseksempel 6: Orale dråper

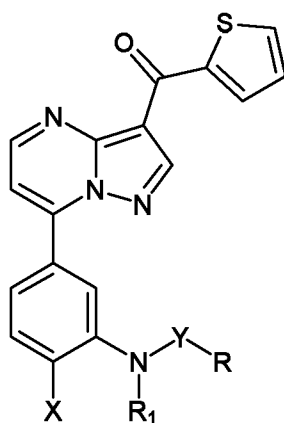
Forbindelsen i fremstillingseksempel 2	0.25 g
Propylenglykol	10.0 g
Glyserin	5.0 g
Sakkarinnatrium	0.1 g
Polysorbat 80	1.0 g
Sitronsmak	0.2 g
Etanol	25.0 ml
Renset vann q.s. til	100.0 ml

P a t e n t k r a v

1.

Forbindelse, k a r a k t e r i s e r t v e d formel (I):

5



(I)

10 hvori

R representerer et alkyl(C₁-C₆);

R₁ er valgt fra gruppen som består av alkyl(C₁-C₆) og alkynyl(C₁-C₆);

15

X representer et halogenatom; og

Y er valgt fra gruppen som består av -CO- og -SO₂-;

20 og et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

2.

Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R er metyl.

25

3.

Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R₁ er metyl.

4.

Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at R_1 er prop-2-ynyl.

5 5.

Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at X er fluor.

6.

10 Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at X er klor.

7.

15 Forbindelse, k a r a k t e r i s e r t v e d at den er valgt fra gruppen som består av:

N-{2-fluor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-acetamid;

20 N-{2-klor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-acetamid;

N-{2-fluor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-metansulfonamid:

N-{2-klor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-metyl-metansulfonamid: og

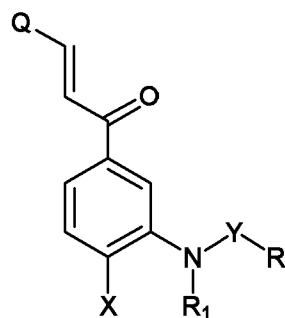
25 N-{2-fluor-5-[3-(tiofen2-karbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]-fenyl}-N-prop-2-ynyl-metansulfonamid:

og et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

30 8.

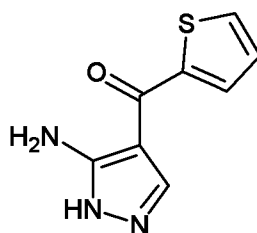
Fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formel (I) ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at den innbefatter omsetning av et intermediat (II):

32



(II)

- 5 hvori R, R₁, X og Y er som definert i (I) og Q er en passende utgående gruppe valgt fra gruppen som består av N(dialkyl(C₁-C₆)), alkyltio(C₁-C₆) og alkoksy(C₁-C₆), med intermedietet (III):



(III)

og alternativt, behandle de resulterende forbindelsene i form av fri base, med en syre for å danne et salt derav.

15

9.

Fremgangsmåte ifølge krav 8, k a r a k t e r i s e r t v e d at den innbefatter anvendelse av intermedietet med formel (II) hvori Q er valgt fra gruppen som består av dimetylamino, metyltio og metoksy.

20

10.

Anvendelse av en forbindelse ifølge krav 1, for fremstilling av et medikament for behandling eller hindring av angst hos et pattedyr.

25

11.

Anvendelse av en forbindelse ifølge krav 1, for fremstilling av et medikament for behandling eller hindring av epilepsi hos et pattedyr.

12.

Anvendelse av en forbindelse ifølge krav 1, for fremstilling av et medikament for behandling eller hindring av søvnforstyrrelser hos et pattedyr.

5 13.

Anvendelse av en forbindelse ifølge krav 1, for fremstilling av et medikament for behandling eller hindring av insomni hos et pattedyr.

14.

10 Anvendelse av en forbindelse ifølge krav 1, for fremstilling av et medikament for å inducere sedasjon-hypnose hos et pattedyr.

15.

15 Anvendelse av en forbindelse ifølge krav 1, for fremstilling av et medikament for å inducere anestesi hos et pattedyr.

16.

20 Anvendelse av en forbindelse ifølge krav 1, for fremstilling av et medikament for modulering av den nødvendige tiden for å inducere søvn og dens varighet hos et pattedyr.

17.

25 Anvendelse av en forbindelse ifølge krav 1, for fremstilling av et medikament for å inducere muskelrelaksasjon hos et pattedyr.

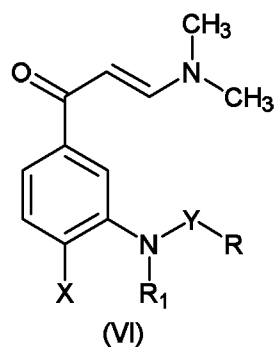
18.

30 Farmasøytisk sammensetning, k a r a k t e r i s e r t v e d at den innbefatter en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse ifølge krav 1, sammen med passende mengder farmasøytiske eksipienter eller bærere.

19.

Fremgangsmåte for fremstilling av enaminonintermediatet med formel (VI):

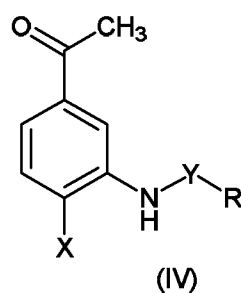
34



hvor R , R_1 , X og Y er som beskrevet ovenfor, k a r a k t e r i s e r t
v e d at den innbefatter

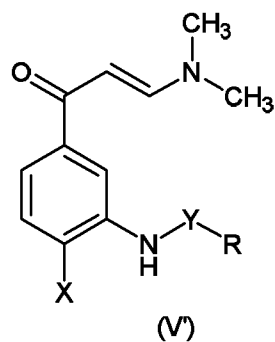
5

a) omsette det korresponderende acetofenonet (IV):



10 hvor R , X og Y er som beskrevet ovenfor, med N,N-dimetylformamiddimetylacetal
eller *tert*-butoksybis(dimetylamino)metan; og

alkylere det resulterende enaminonet med formel (V'):



15

hvor R , X og Y er som beskrevet ovenfor, via dannelse av et anion med
hydridforbindelsen og etterfølgende reaksjon med et alkylhalid med formel ZR_1 , hvor
 Z er et halogenatom og R_1 er som beskrevet ovenfor.

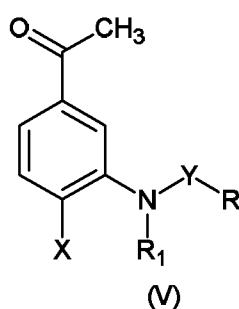
20

20.

Fremgangsmåte ifølge krav 19, k a r a k t e r i s e r t v e d a t hydridforbindelsen er natriumhydrid og Z er jod.

5 21.

Fremgangsmåte for fremstilling av enaminonintermediatet med formel (VI), ifølge krav 19, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den innbefatter omsetning av det korresponderende acetofenonet (V):

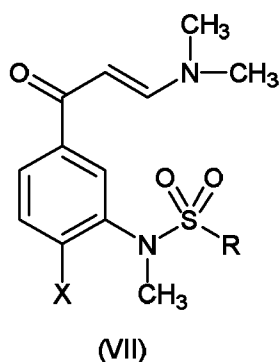


10

hvor R , R_1 , X og Y er som beskrevet ovenfor, med N,N-dimetylformamid-dimetylacetal eller *tert*-butoksybis(dimetylamino)metan.

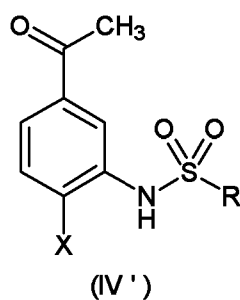
15 22.

Fremgangsmåte for fremstilling av enaminonintermediatet med formel (VII):



20 hvor R og X er som definert ovenfor, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den innbefatter omsetning av acetofenonet (IV'):

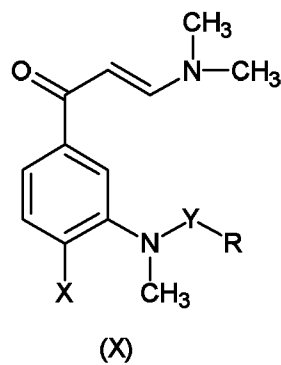
36



med N,N-dimetylformamiddimetylacetal.

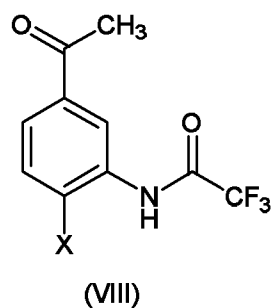
5 23.

Fremgangsmåte for fremstilling av enaminonintermediatet med formel (X):



10 hvori R, X og Y er som beskrevet ovenfor, k a r a k t e r i s e r t
v e d at den innbefatter

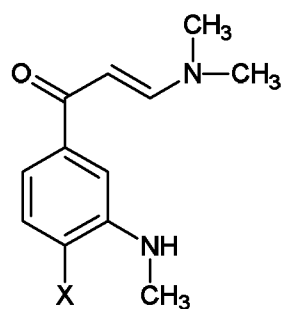
a) omsette acetofenon (VIII):



15

hvor X er som definert ovenfor, med N,N-dimetylformamiddimetylacetal; og
alkylere det resulterende enaminonet med formel (IX):

37



(IX)

hvor X er som beskrevet ovenfor, med den korresponderende sulfonsyre eller karboksylsyrekloridet med formel CIYR, hvor R og Y er som beskrevet ovenfor.

5

24.

Intermediatenaminonforbindelse, k a r a k t e r i s e r t v e d at den er valgt fra gruppen som består af:

- 10 N-[5-(3-dimethylamino-akryloyl)-2-fluor-fenyl]-N-metyl-acetamid;
 N-[2-klor-5-(3-dimethylamino-akryloyl)-fenyl]-N-metyl-acetamid;
 N-[5-(3-dimethylamino-akryloyl)-2-fluor-fenyl]-N-metyl-metansulfonamid:
 N-[2-klor-5-(3-dimethylamino-akryloyl)-fenyl]-N-metyl-metansulfonamid: og
 N-[5-(3-dimethylamino-akryloyl)-2-fluor-fenyl]-N-prop-2-ynyl-metansulfonamid.

15

20

25