(12) **PATENT**

(11) **342083** (13) **B1**

(19) NO

NORGE

(51) Int Cl.

C07C 219/14 (2006.01)
C07C 327/48 (2006.01)
C07D 209/18 (2006.01)
C07D 209/32 (2006.01)
C07D 309/30 (2006.01)
C07D 339/04 (2006.01)
C07D 409/12 (2006.01)
A61K 31/385 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20090763	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2007.07.18 PCT/CA2007/001289
(22)	Inng.dag	2009.02.17	(85)	Videreføringsdag	2009.02.17
(24)	Løpedag	2007.07.18	(30)	Prioritet	2006.07.18, US, 60/807,639 2007.01.30, US, 60/887,188
(41)	Alm.tilgj	2009.04.03			
(45)	Meddelt	2018.03.19			

(73) Innehaver: Antibe Holdings Inc, 300, 2912 Memorial Drive, CA-T2A 6R1 CALGARY, ALBERTA, Canada

(72) Oppfinner: Giuseppe Cirino, Via S Paolo A Villanova, 11, IT-80123 NAPOLI, Italia
Giuseppe Caliendo, Corso Vittorio Emanuelle 111 241B, Marigliano, IT-80034 NAPOLI, Italia
Vincenzo Santagada, Corso Umberto, 1, 40 Cerchiara, IT-87070 COSENZA, Italia
John L Wallace, Box 47, Site 5, RR#1, CA-ABT2N4N1 COCHRANE, Canada

(74) Fullmektig: TANDBERG INNOVATION AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

(54) Benevnelse: **Hydrogensulfidderivater av ikke-steroide, antiinflammatoriske legemidler, deres anvendelse for fremstilling av et medikament, samt en farmasøytisk sammensetning derav**

(56) Anførte publikasjoner:

WO 2006/066894 A1, GALANKIS ET AL. "Synthesis and pharmacological evaluation of amide conjugates of NSAIDs With L-cystein ethyl ester, combining potent aniinflammatory and antioxidant Properties iw th significantly reduced gastroinstinal toxicity", BIOORGANIC &MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS , 2004, vol. 14, s. 3639-3643, xp002366913, EP 1645288 A1, BHATIA ET EL. "Treatment With H2S-releasing derivative of diclofenac reduces inflammation in corrageenan-induced hindpaw oedema", INFLAMMATION RESEARCH, SUPPL. 2, 7TH WORLD CONGRESS ON INFLAMMATION, MELBOURNE, AUSTRALIA, 20-24 august 2005, xp008104294 , WO 2006/111791 A1, EP 1630164 A1

(57) Sammendrag

Foreliggende oppfinnelse angår derivater av ikke-steroidale, antiinflammatoriske legemidler (NSAID) som har forbedrede antiinflammatoriske egenskaper som er anvendbare ved behandling av inflammasjon, smerte og feber. Nærmere bestemt er NSAID derivatisert med en hydrogensulfid (H_2S)-frigivende gruppe under dannelse av nye antiinflammatoriske forbindelser med reduserte bivirkninger.

Område for oppfinnelsen

Foreliggende oppfinnelse angår derivater av ikke-steroide, antiinflammatoriske legemidler (NSAID) som har forbedrede antiinflammatoriske egenskaper som er nyttige ved behandling av inflammasjon, smerte og feber. Nærmere bestemt er NSAIDer derivatisert med en hydrogensulfid-(H_2S)-frigivende gruppe for å danne nye, anti-inflammatoriske forbindelser med reduserte bivirkninger.

Bakgrunn for oppfinnelsen

Ikke-steroide, antiinflammatoriske legemidler (NSAID) anvendes mye for behandling av en rekke tilstander assosiert med smerte, feber og inflammasjon, innbefattende osteoartritt, reumatoid artritt, gikt og stivgjørende spondylitt. De er også mye anvendt for behandling av akutt smerte assosiert med skader og kirurgiske prose-dyrer (innbefattende dentale prosedyrer) og hodepiner. Den gunstige effekt av NSAID er i overveiende grad antatt å skyldes deres evne til å undertrykke prostaglandinsyntese ved inhibering av syklooksygenase-1 (COX-1) og syklooksygenase-2 (COX-2).

Langtidsbruk av NSAIDer er imidlertid signifikant begrenset av deres evne til å forårsake klinisk signifikant skade i den gastrointestinale trakten (Wallace, J.L. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and gastroenteropathy: the second hundred years. *Gastroenterology*. 1997; **112**:1000-1016). Selektive inhibitorer av COX-2 ble ansett som en fordel med hensyn til konvensjonelle NSAIDer da de syntes å forårsake mindre gastro-intestinal skade. Bekymringer har imidlertid økt med hensyn til den kardiovaskulære toksisiteten av disse legemidlene, og muligens også med hensyn til konvensjonelle NSAIDer (Grosser et al., Biological basis for the cardiovascular consequences of COX-2 inhibition: therapeutic challenges and opportunities. *J Clin Invest*. 2006; **116**: 4-15).

Det er velkjent at NSAIDer stimulerer leukocyttadheranse og reduserer gastrisk mukosal blodstrøm, og disse virkninger er allment ansett for å være viktige bidragsytere til patogenesen av NSAID-indusert gastrointestinal skade (Wallace, 1997). Fremkallelse av leukocyttadheranse av ikke-selektive og COX-2-selektive NSAIDer kan også bidra til kardiovaskulære komplikasjoner av disse legemidlene.

Nylig er det blitt observert at hydrogensulfid (H_2S) utøver antiinflammatorisk og analgetisk aktivitet. H_2S er en endogen substans, produsert i mange vev og påvirker mange funksjoner (Wang, Two's company, three's a crowd: can H_2S be the third endo-genous gaseous transmitter? *FASEB J* 2002; **16**: 1792–1798). Det er også blitt vist å være en vasodilator og kan undertrykke leukocyttadheranse til det vaskulære endotelet (Wang, 2002; Fiorucci et al., Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by anti-inflammatory nonsteroidal drugs. *Gastroenterology*. 2005; **129**: 1210-1224). Enn videre har Fiorucci et al. (2005) vist at forbehandling med en H_2S-donor kan minske alvorligheten av NSAID-indusert gastrisk skade hos rotten.

Overraskende har oppfinnerne vist i foreliggende søknad at den antiinflammatoriske aktiviteten av en rekke NSAIDer økes signifikant når de bindes kovalent til, eller NSAID-salter dannes med en H_2S-frigivende gruppe. Enn videre er disse NSAID-derivater blitt vist å ha reduserte bivirkninger. I særdeleshet har oppfinnerne vist at NSAID-derivater ifølge foreliggende oppfinnelse har én eller flere av følgende ytterligere karakteristika: (1) gir mindre gastrointestinal skade enn konvensjonelle NSAIDer; (2) akselererer helingen av pre-eksisterende magesår; og (3) fremkaller signifikant mindre av en økning i systemisk blodtrykk enn konvensjonelle NSAIDer. Enn videre reduserer NSAID-derivatene ifølge foreliggende oppfinnelse leukocyttadheranse til det vaskulære endotelet, hvilket kan bidra til både reduserte gastrointestinale og kardiovaskulære bivirkninger.

WO 2006/066894 beskriver visse acetylsalisylsyre NO-frigivende derivater.

Sammendrag av oppfinnelsen

I ett aspekt av foreliggende oppfinnelse tilveiebringes derivater av NSAIDer, nevnte derivater omfatter en H_2S-frigivende gruppe som er enten kovalent bundet til et NSAID eller danner et salt med et NSAID. Overraskende utøver forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse forøkt antiinflammatorisk aktivitet hos en rottekarrageenan-indusert poteødemmodell sammenlignet med NSAID alene, den H_2S-frigivende gruppen alene, og kombinasjonen av NSAID og H_2S-frigivende gruppe administrert separat, men samtidig. Enn videre fremkaller NSAID-derivatene ifølge oppfinnelsen en beskjeden, kortlivet økning i plasma-H_2S-konsentrasjoner. Uten å være bundet til teori, kan den kortvarige økning i plasma-H_2S-konsentrasjoner som fortsatt er innenfor det fysiologiske område, bidra til deres forbedrede antiinflammatoriske aktivitet.

Overraskende kan forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse også utøve en forbedret evne til å undertrykke syklooksygenase-2 (COX-2)-aktivitet og/eller syklooksygenase-1 (COX-1)-aktivitet sammenlignet med deres respektive ikke-derivatiserte NSAID-motparter. En slik forbedret evne til å undertrykke COX-2 og/eller COX-1 kan også bidra til den observerte forøkte antiinflammatoriske aktiviteten. Enn videre utviste forbindelsene ifølge oppfinnelsen med forbedret inhibering av COX-1, en signifikant suppresjon av tromboksan B_2-produksjon i blodplater, som kan bidra til redusert kardiovaskulær toksisitet.

Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse utviser enn videre færre bivirkninger enn deres respektive ikke-derivatiserte motparter. Eksempelvis fremkalte enkelte forbindelser overraskende signifikant mindre gastrisk skade enn NSAID alene til tross for at forbindelsene markert undertrykker gastrisk prostaglandin-syntese. Mens gastrisk sikkerhet observeres med disse H_2S-frigivende derivater av NSAIDer, er det samme ikke tilfelle hvis NSAID og den H_2S-frigivende gruppen administreres separat, men samtidig til rotter. Uten å være bundet til teori, ble forbindelsene ifølge oppfinnelsen

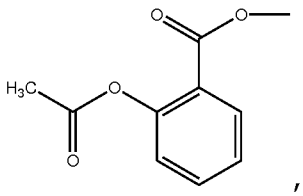
vist å redusere leukocyttadheranse til det vaskulære endotelet som kan bidra til deres gastriske sikkerhet. Redusert leukocyttadheranse til det vaskulære endotelet kan enn videre redusere de kardiovaskulære bivirkninger som hyppig ses ved forlenget bruk av NSAIDer.

Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse fremkalte enn videre overraskende signifikant mindre av en økning i systolisk blodtrykk når de ble administrert til hypertensive rotter enn hva som ble observert når konvensjonelle NSAIDer ble administrert. En redusert tilbøyelighet til å heve blodtrykk kan redusere de kardiovaskulære bivirkninger som hyppig ses ved forlenget bruk av NSAIDer.

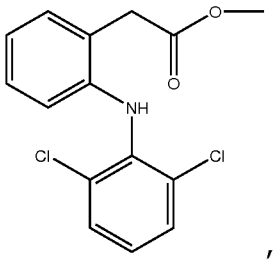
Ifølge foreliggende oppfinnelse er det tilveiebrakt forbindelser kjennetegnet ved at de har følgende generelle formel:

B-C(O)O-X (formel II)

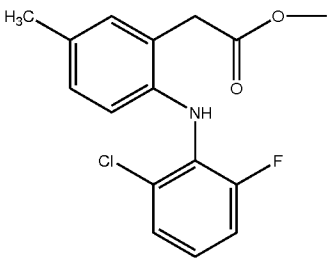
hvor B-C(O)O- er et NSAID som har en fri karboksylgruppe valgt fra gruppen bestående av:



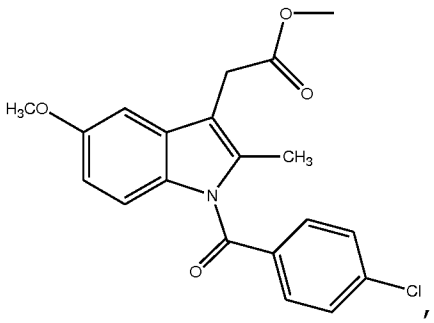
,

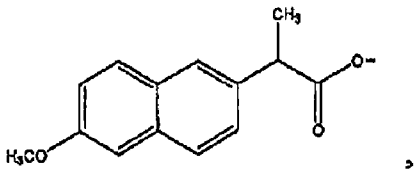


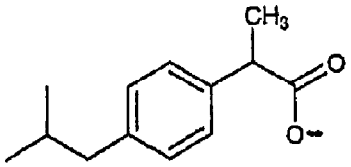
,

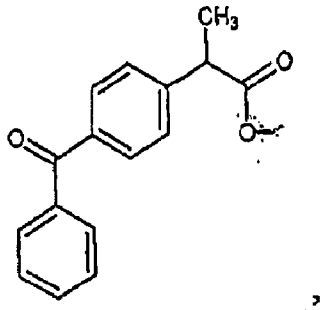


,

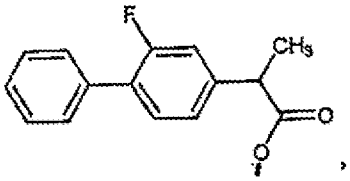




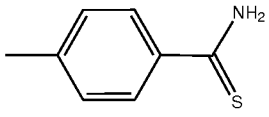




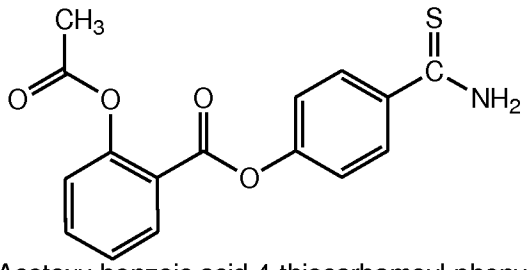
og



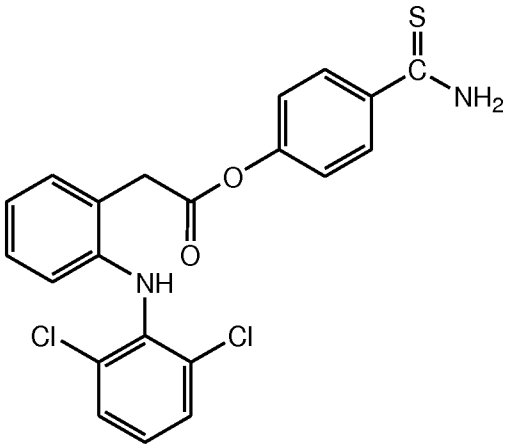
og X er



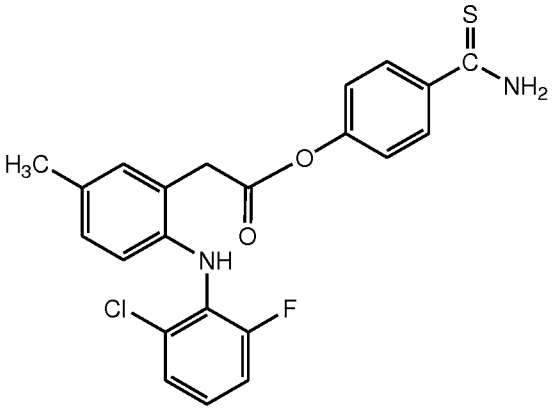
Foretrukne forbindelser er de med følgende formler:



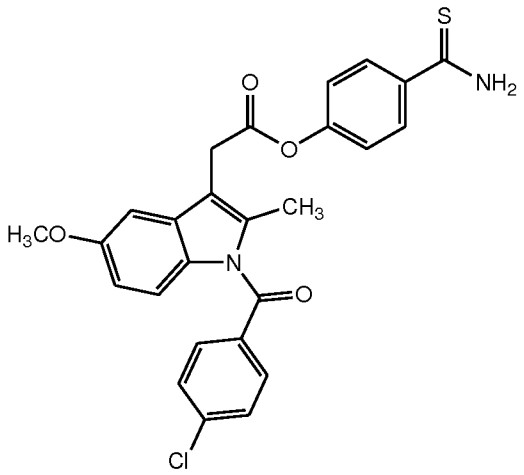
2-Acetoxy-benzoic acid 4-thiocarbamoyl-phenyl ester (**XVI**),



[2-(2,6-Dichloro-phenylamino)-phenyl]-acetic acid 4-thiocarbamoyl-phenyl ester (**XVII**) ,

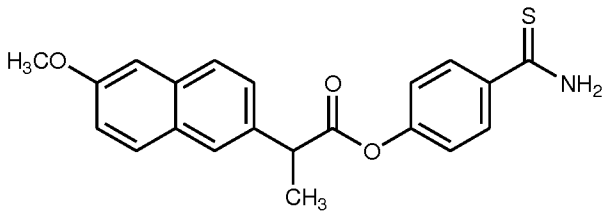


[2-(2-Chloro-6-fluoro-phenylamino)-5-methyl-phenyl]-acetic acid 4-thiocarbamoyl-phenyl ester (**XVIII**) ,



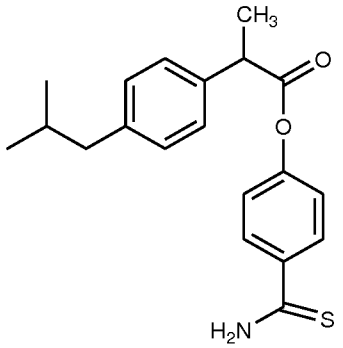
[1-(4-Chloro-benzoyl)-5-methoxy-2-methyl-1*H*-indol-3-yl]-acetic acid 4-thiocarbamoyl-phenyl ester (**XIX**)

,

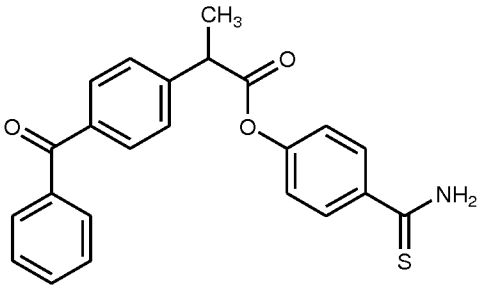


2-(6-Methoxy-naphthalen-2-yl)-propionic acid 4-thiocarbamoyl-phenyl ester (**XX**)

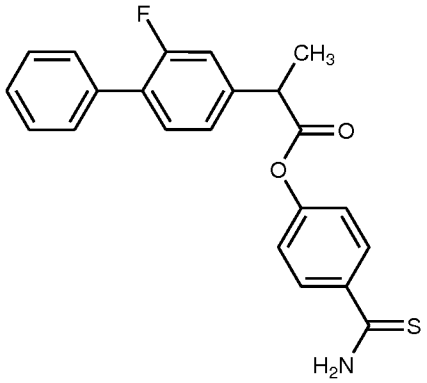
,



4-tiokarbamoylfenyl-2-(4-isobutylfenyl)propanoat (**XXIX**),



4-tiokarbamoylfenyl-2-(4-oksofenyl)-fenylpropanoat (**XXX**),



4-tiokarbamoylfenyl-2-(2-fluor-4-bifenylyl)propanoat (**XXXI**).

Farmasøytisk akseptable salter av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse, slik som for eksempel salter med alkalimetaller og jordalkalimetaller, ikke-toksiske aminer og aminosyrer, er også en del av foreliggende oppfinnelse. Foretrukne salter av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse er salter med arginin og agmatin. Også innbefattet er farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter.

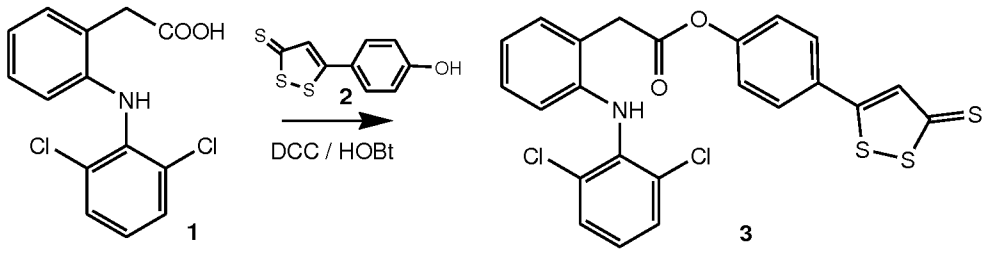
NSAIDene ifølge foreliggende oppfinnelse derivatisert med den H_2S-frigivende gruppe 4-hydroksytiobenzamid (referert her til som TBZ). TBZ-derivatene utviste gjennomgående bedre total antiinflammatorisk aktivitet og reduserte bivirkninger sammenlignet med 5-*p*-hydroksyfenyl-1,2-ditiol-3-tion (ADT-OH)-derivatene. Overraskende dannet TBZ-derivatene signifikant mer H_2S enn ADT-OH-derivatene, hvilket kan bidra til både økningen i antiinflammatorisk aktivitet og de reduserte bivirkninger.

Enn videre bibeholdt TBZ-derivatene evnen til å inhibere COX-1/COX-2 mer gjennomgående enn ADT-OH-derivatene. Faktisk utviste mange TBZ-derivater en økning i COX-1-inhibering eller COX-2-inhibering eller begge. Enn videre var forbindelse **XX** (naproxen-TBZ-derivat) signifikant bedre ved inhibering av tromboksan B2-syntesen enn ADT-OH-ekvivalenten, forbindelse **V** (naproxen-ADT-OH), og forbindelse **XIX** (indomethacin-TBZ-derivat) var signifikant bedre ved inhibering av tromboksan B2-syntese enn ADT-OH-ekvivalenten, forbindelse **IV** (indomethacin-ADT-OH-derivat). Forbedret tromboksan B2-inhibering kan bidra til den kardiovaskulære sikkerhet av foreliggende derivater.

Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan fremstilles som vist i de etterfølgende reaksjonsskjema:

Reaksjonsskjema 1 (sammenligning)

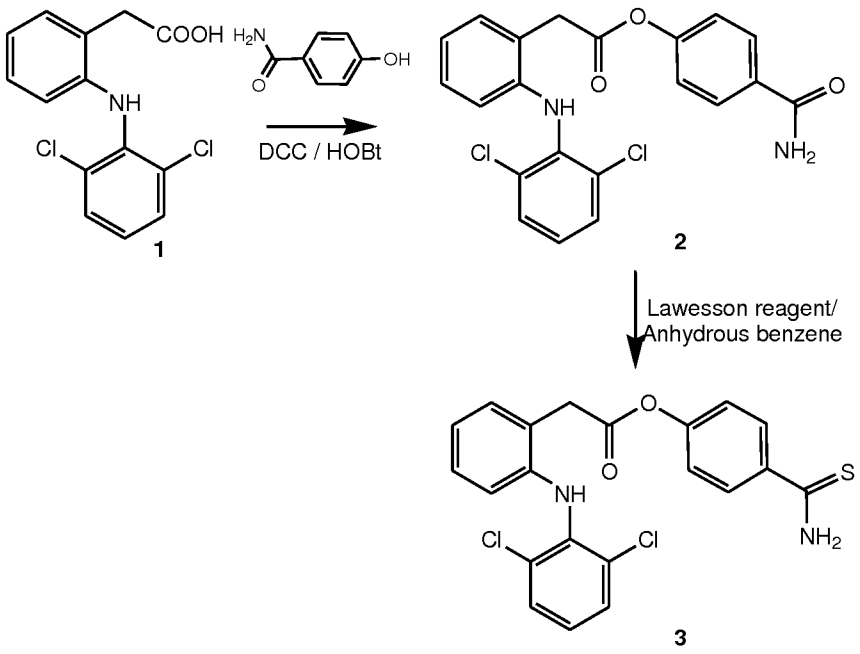
Reaksjonsskjema 1 er vist nedenfor under anvendelse som et eksempel av syntesen av 4-(5-tiokso-5*H*-1,2-ditiol-3-yl)fenyl-2-(2-(2,6-diklorfenylamino)fenyl)acetat (forbindelse **II**)



Et NSAID med en fri karboksylgruppe (eller et karboksysubstituert NSAID), for eksempel diclofenac (**1**), løses først i dimetylformamid, og hydroksybenzotriazol (HOBt) og 1,3-disykloheksylkarbodiimid (DCC) tilsettes. Til denne blandingen tilsettes en hydrogensulfid-frigivende gruppe slik som 5-*p*-hydroksyfenyl-1,2-ditiol-3-tion (ADT-OH) (**2**) under betingelser som er egnet for dannelse av forbindelser ifølge oppfinnelsen slik som 4-(5-tiokso-5*H*-1,2-ditiol-3-yl)fenyl-2-(2-(2,6-diklorfenylamino)fenyl)acetat (**3**). Det skal forstås at andre hydrogensulfid-frigivende grupper kan anvendes i dette reaksjonsskjema slik som 4-hydroksyfenylisotiocyanat (heretter referert til som HPI).

Reaksjonsskjema 2

Reaksjonsskjema 2 er vist nedenfor ved anvendelse som et eksempel av syntesen av [2-(2,6-diklorfenylamino)fenyl]eddiksyre-4-tiokarbamoylfenylester (forbindelse **XVII**). I dette reaksjonsskjema anvendes Lawessons reagens for å tilsette en svovelgruppe til den hydrogensulfid-frigivende gruppe etter at den er kovalent bundet til NSAIDet.



Et NSAID som har en fri karboksylgruppe, for eksempel diclofenac (**1**), løses først i dimetylformamid, og hydroksybenzotriazol (HOBt) og 1,3-disykloheksylkarbodiimid (DCC) tilsettes. Til denne blanding tilsettes en hydrogensulfid-frigivende forløper 4-hydroksybenzamid under betingelser egnet til å danne en forløper (f.eks. 4-karbamoyl-fenyl-2-(2-(2,6-diklorfenylamino)fenyl)acetat (**2**)) for forbindelsen ifølge foreliggende oppfinnelse, hvilken forløper mangler et svovel. En egnet forbindelse som kan tilsette en svovelgruppe slik som et Lawesson-reagens, tilsettes for å danne en forbindelse ifølge oppfinnelsen (f.eks. [2-(2,6-diklorfenylamino)fenyl]eddiksyre-4-tiokarbamoylfenylester (**3**)).

I et ytterligere aspekt tilveiebringer foreliggende oppfinnelse en farmasøytisk sammensetning av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse, og en farmasøytisk akseptabel eksipiens eller bærer, i særdeleshet én for anvendelse ved behandling av en inflammatorisk tilstand i GI-trakten.

Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse vil være anvendbare for behandling av inflammasjon i et individ, og for behandling av andre inflammasjonsassosierte sykdommer slik som et analgetisk middel ved behandling av smerte og hodepiner, eller som et antipyretisk middel for behandling av feber. For eksempel vil forbindelsene ifølge oppfinnelsen være anvendbare for å behandle artritt, innbefattet reumatoid artritt, spondyloartopatier, giktartritt, osteoartritt, systemisk lupus erythematosus og barneartritt. Slike forbindelser ifølge oppfinnelsen vil være anvendbare ved behandling av astma, bronkitt, menstruelle kramper, tendinitt, bursitt, hudrelaterte tilstander slik som psoriasis, eksem, brannsår og dermatitt, og for postoperativ inflammasjon innbefattende fra oftalmisk kirurgi slik som kataraktkirurgi og refraktiv kirurgi. Forbindelser ifølge oppfinnelsen vil også være anvendbare for å behandle gastrointestinale tilstander slik som

inflammatorisk tarmsykdom, Crohns sykdom, gastritt, irritabel tarmsyndrom og ulcerøs kolitt, og for forhindring eller behandling av kreft, slik som kolorektal kreft. Forbindelsene ifølge oppfinnelsen vil være anvendbare ved behandling av inflammasjon i slike sykdommer som vaskulære sykdommer, migrenehodepiner, periarteritis nodosa, tyreoiditt, aplastisk anemi, Hodgkins sykdom, sclerodom, reumatisk feber, type I diabetes, nevromuskulær leddsykdom innbefattet myasthenia gravis, hvit materiesykdom innbefattende multippel sklerose, sarkoidose, nefrotisk syndrom, Behcets syndrom, polymyositt, gingivitt, nefritt, hypersensitivitet, oppsvelling som forekommer etter skade, myokardiskemi og lignende. Forbindelsene vil også være anvendbare ved behandling av oftalmiske sykdommer slik som retinitt, retinopatier, uveitt, okular fotofobi og akutt skade på øyevev. Forbindelsene vil også være anvendbare ved behandling av pulmonal inflammasjon, slik som den som er assosiert med virusinfeksjoner og cystisk fibrose. Forbindelsene vil også være anvendbare for behandling av visse sentralnervesystemsykdommer slik som kortikal demens innbefattende Alzheimers sykdom. Forbindelsene ifølge oppfinnelsen er anvendbare som antiinflammatoriske midler, slik som for behandling av artritt, med den ytterligere fordel at de har signifikant mindre skadelige bivirkninger. Disse forbindelser vil også være anvendbare ved behandling av allergisk rhinitt, respiratorisk distress-syndrom, endotoksinsjokksyndrom, aterosklerose og sentralnervesystemskade som er et resultat av slag, iskemi og traume. Forbindelsene vil også være anvendbare ved behandling av smerte, postoperativ smerte, tannpine, muskelsmerte og smerte som er et resultat av kreft. Foruten å være anvendbare for human behandling er disse forbindelser også anvendbare for behandling av pattedyr, innbefattende hester, hunder, katter, rotter, mus, sauer, griser, etc..

Avhengig av den spesifikke tilstand eller sykdomstilstand som skal behandles, kan individer administreres forbindelsene ifølge oppfinnelsen ved enhver egnet terapeutisk effektiv og sikker dose som lett kan bestemmes på fagområdet. Disse forbindelser administreres mest fordelaktig i doser varierende fra ca. 1 til ca. 2 000 mg pr. dag, i enkelte eller oppdelte doser, selv om variasjoner nødvendigvis vil oppstå avhengig av vekten og tilstanden til det individ som behandles og den bestemte administreringsrute som velges. Det skal forstås at dosene vil bli påvirket av det bestemte NSAID som anvendes for å danne forbindelsene ifølge oppfinnelsen. Et dosenivå som imidlertid er innen området på 0,1 til 100 mg/kg, fortrinnsvis mellom 5 og 90 mg/kg, og mer foretrukket mellom 5 og 50 mg/kg, er mest ønskelig. Variasjoner kan ikke desto mindre oppstå avhengig av vekten og tilstanden til de personer som behandles, og deres individuelle responser på angitte medikament, så vel som av typen av farmasøytisk formulering som velges og tidsperioden og intervallet under hvilket slik administrering utføres. I enkelte tilfeller kan dosenivåer som er under den nedre grense av det ovenfor angitte område, være riktigere, mens i andre tilfeller kan ytterligere større doser

anvendes uten å forårsake noen skadelige bivirkninger forutsatt at slike store doser først oppdeles i flere små doser for administrering i løpet av dagen.

Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan administreres i form av enhver farmasøytisk formulering hvis art vil avhenge av administreringsruten. Disse farmasøytiske sammensetningene kan fremstilles ved konvensjonelle metoder under anvendelse av forenlige, farmasøytisk akseptable ekspienser eller bærere. Eksempler på slike preparater innbefatter kapsler, tabletter, transdermale plastre, pastiller, piller, spray, siruper, pulvere, granulater, geler, eliksirer, stikkpiller og lignende, for fremstilling av ekstemporerte løsninger, injiserbare preparater, rektale, nasale, okulare, vaginale, etc. En foretrukket administreringsrute er oral og rektal rute.

For oral administrering kan tabletter inneholdende forskjellige ekspienser slik som mikrokrystallinsk cellulose, natriumsitrat, kalsiumkarbonat, dikalsiumfosfat og glysin, anvendes sammen med forskjellige oppbrytende midler slik som stivelse (fortrinnsvis mais-, potet- eller tapiokastivelse), alginsyre og visse komplekse silikater, sammen med granuleringsbindemidler slik som polyvinylpyrrolidon, sukrose, gelatin og akasie. I tillegg kan smøremidler slik som magnesiumstearat, natriumlaurylsulfat og talkum anvendes for tabletteringsformål. Faste sammensetninger av lignende type kan også anvendes som fyllstoffer i gelatinkapsler; og foretrukne materialer i denne forbindelse innbefatter også laktose eller melkesukker, så vel som høymolekylære polyetylenglykoler. Når vandige suspensjoner og/eller eliksirer ønskes for oral administrering, kan den aktive bestanddel kombineres med søtningsmidler eller smaksgivende midler, fargestoffer hvis slike ønskes, emulgerings- og/eller suspenderingsmidler, sammen med slike fortynningsmidler som vann, etanol, propylenglykol, glyserol og forskjellige kombinasjoner derav.

Doseringsformen kan være utformet for umiddelbar frigivelse, regulert frigivelse, forlenget frigivelse, forsinket frigivelse eller målrettet, forsinket frigivelse. Definisjonene av disse uttrykk er velkjente innen faget. Enn videre kan doseringsformens frigivelsesprofil bevirkes av en polymer blandingssammensetning, en belagt matrikssammensetning, en multipartikulær sammensetning, en belagt multipartikulær sammensetning, en ioneutvekslingsharpiksbasert sammensetning, en osmosebasert sammensetning eller en bionedbrytbar polymer sammensetning. Uten å være bundet til teori, er det antatt at frigivelsen kan bevirkes via fordelaktig diffusjon, oppløsning, erosjon, ioneutbytning, osmose eller kombinasjoner derav.

For parenteral administrering kan en løsning av en aktiv forbindelse i enten sesam- eller peanøttolje eller i vandig propylenglykol anvendes. De vandige løsninger skal hensiktsmessig bufres (fortrinnsvis en pH større enn 8) om nødvendig, og væskefortynningsmidlet gjøres først isotonisk. De vandige løsninger er egnet for intravenøse injeksjonsformål. Fremstilling av alle disse løsninger under sterile betingelser utføres greit ved standard farmasøytiske teknikker velkjente av fagmannen.

De etterfølgende eksempler beskriver oppfinnelsen ytterligere og gjør fagmannen i stand til å utøve forbindelsen. Det skal imidlertid forstås at disse utførelsesformer er gitt med det formål å illustrere oppfinnelsen og skal ikke anses som å begrense oppfinnelsens ramme som definert av kravene.

Kort beskrivelse av figurene

Figur 1 illustrerer den gastriske skadebedømmelse målt i rotter behandlet med bærer, diclofenac, og to diclofenacderivater, forbindelse **II** (sammenligning) og forbindelse **XVII** (ifølge foreliggende oppfinnelse).

Figur 2 illustrerer mengden av gastrisk prostaglandin E_2 (PGE_2) produsert i rotter behandlet med bærer, diclofenac, forbindelse **II** og forbindelse **XVII**.

Figur 3 illustrerer den gastriske skadebedømmelse målt i rotter behandlet med bærer, naproxen, og to naproxenderivater, forbindelse **V** (sammenligning) og forbindelse **XX** (ifølge foreliggende oppfinnelse).

Figur 4 illustrerer mengden av tromboksan B_2-syntese i blodet til rottene i figur 3.

Figur 5 illustrerer den totale lengde av tynntarmsårdannelse i rotter behandlet med bærer, diclofenac og forbindelse **II**.

Figur 6 illustrerer prosenten hematokrit i rotter før og etter behandling med bærer, diclofenac og forbindelse **II**.

Figur 7 illustrerer mengden av eksudat PGE_2 produsert i den subkutane pungen til rotter under anvendelse av rotteluftpungutprøvningen ved behandling med bærer, diclofenac, forbindelse **II** og forbindelse **XVII**.

Figur 8 illustrerer mengden av helblodtromboksan B_2 (TXB_2) hos rottene i figur 7.

Figur 9 illustrerer inhibering av potevolumøkning hos rotter behandlet med bærer, diclofenac og forbindelse **II**.

Figur 10 illustrerer inhibering av potevolumøkning hos rotter behandlet med bærer, diclofenac og forbindelse **XVII**.

Figur 11 illustrerer mengden av eksudat PGE_2 produsert i den subkutane pungen til rotter under anvendelse av rottepungutprøvningen ved behandling med bærer, naproxen, forbindelse **V** og forbindelse **XX**.

Figur 12 illustrerer tromboksansyntese (ng/ml) av humant blod (*in vitro*) som en funksjon av konsentrasjon av indomethacin, forbindelse **IV** (sammenligning) og forbindelse **XIX**.

Figur 13 illustrerer overflatearealet, i mm^2, av gastriske sår hos rotten etter daglig behandling i én uke med bærer, diclofenac, forbindelse **XVII**, naproxen og forbindelse **XX**.

Figur 14 illustrerer økningen i systolisk blodtrykk (mm Hg) hos rotter behandlet med bærer, diclofenac, forbindelse **II**, naproxen og forbindelse **XX**.

Figur 15 illustrerer plasmahydrogensulfidkonsentrasjonen når rotter ble behandlet med 50 μmol/kg p.o. av forbindelse **II**.

Figur 16 illustrerer mengden av hydrogensulfid dannet fra forbindelse **II** og forbindelse **XVII** når det var inkubert i buffer og i leverhomogenat.

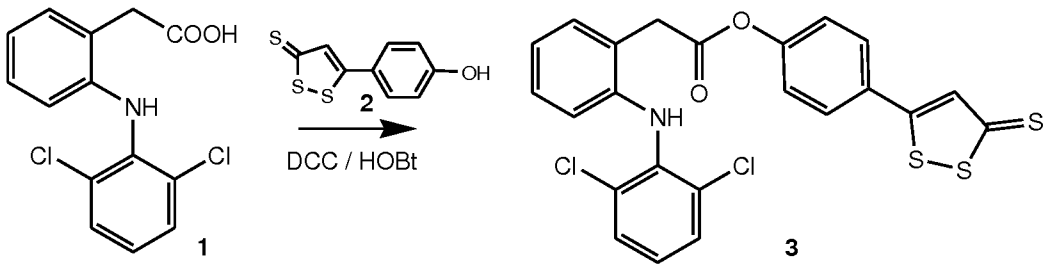
Detaljert beskrivelse av oppfinnelsen

Fremstilling av forbindelser

Tynnsjiktskromatografi ble utført på Macherey-Nagel-silikagel 50 plater med fluorescentindikator, og platene ble visualisert med UV-lys (254 nm). Kieselgel 60 ble anvendt for kolonnekromatografi. Alle syntesereagenser ble levert fra Aldrich-Sigma Chemical Company og ble anvendt uten rensing. Løsemidler var av analytisk reagenskvalitet eller høyere renhet og ble anvendt som levert. En Buchi R-114-rotavapor ble anvendt for fjerning av løsemidlene i vakuum. Strukturene ble bekreftet spektroskopisk ved proton ^{1}H-NMR og ^{13}C-NMR. Spektre ble nedtegnet på et Varian Mercury Plus 400-instrument. Kjemiske skift ble referert til Me_4Si som indre standard. Massespektre av de syntetiserte produkter ble utført ved Applied Biosystem API 2000 massespektrometri. Smeltepunkter ble bestemt på Buchi B-540-instrument. Renheten av sluttforbindelsen ble bestemt ved RP-HPLC. Kolonnen ble forbundet til en Rheodyne modell 7725-injektor, et Waters 600 HPLC-system, et Waters 486 harmonisk absorbansdetektorsett til 215 eller 235 nm og en Waters 746-skriver. De syntetiserte forbindelser ga tilfredsstillende elementæranalyse; hvor analysene er indikert bare ved symboler av elementene, er resultatene innen ± 0,4% av teoretiske verdier.

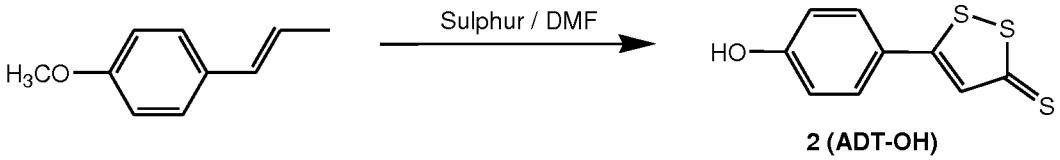
Sammenligningseksempel 1

Syntese av [2-(2,6-diklorfenylamino)fenyl]eddiksyre-4-(5-tiokso-5H-[1,2]ditiol-3-yl)-fenylester (forbindelse II)



Reaksjonsskjema 1

Syntese av 5-*p*-hydroksyfenyl-1,2-ditiol-3-tion (2; ADT-OH)



2 (ADT-OH)

Anetol (31 g, 0,21 mol) og svovel (44,8 g, 1,40 mol) ble oppvarmet i 250 ml N,N-dimetylformamid i 8 timer, og etter fjerning av løsemidlet var residuet praktisk talt fullstendig løselig i toluen. Et forsøk på å ekstrahere toluenvæskene med 2 N vandig natriumhydroksid ga en oransje, fast utfelling (8,5 g; smp. over 300 °C). Dette produkt ble løst i kokende vann, og etter tilsetning av saltsyre ga det **2** som en oransje utfelling (6,2 g, utbytte 13%), smp. 188-189 °C.

^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 6,86 (d, 2H), 7,68 (s, 1H), 7,75 (d, 2H), 10,51 (s, -OH);
MS (ESI), *m/z* 225 (M^-).

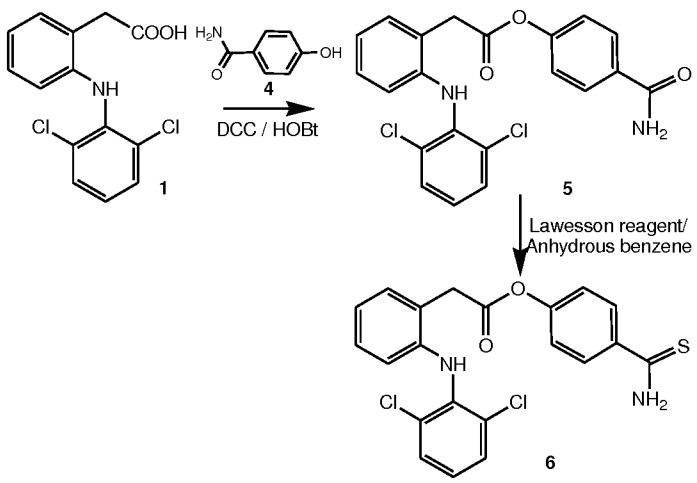
Syntese av [2-(2,6-diklorfenylamino)fenyl]eddiksyre-4-(5-tiokso-5*H*-[1,2]ditiol-3-yl)fenylester (**3**)

Til en løsning av **1** (diclofenac, 890 mg, 3,0 mmol) i 50 ml N,N-dimetylformamid ble hydroksybenzotriazol (445 mg, 3,3 mmol) og DCC (680 mg, 3,3 mmol) tilsatt under omrøring ved 0 °C i 1 time. Til reaksjonsblandingen ble det tilsatt 5-*p*-hydroksyfenyl-1,2-ditiol-3-tion (**2**; 678 mg, 3 mmol), og blandingen ble omrørt i 1 time ved 0 °C og 3 timer ved romtemperatur. Etter filtrering ble filtratet fordampet under redusert trykk, og det således erholdte, oljeaktige residuum ble løst i etylacetat, det organiske lag ble vasket med saltvann, tørket på vannfritt $MgSO_4$, filtrert og løsemidlet ble fordampet. Det urene produkt **3** ble fylt på en silikagel åpen kolonne og eluert med CH_2Cl_2/MeOH (9/1) from hvilken [2-(2,6-diklorfenylamino)fenyl]eddiksyre-4-(5-tiokso-5*H*-[1,2]ditiol-3-yl)-fenylester (**3**) ble erholdt (1,1 g, 74% utbytte).

^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 4,12 (s, 2H), 6,21 (d, 1H), 6,87 (t, 1H), 7,14 (t, 1H), 7,19 (d, 1H), 7,22 (t, 1H), 7,34 (d, 2H), 7,54 (d, 2H), 7,80 (s, 1H), 7,97 (d, 2H);
^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ 37,4, 116,1, 121,0, 122,3, 123,5, 123,7, 127,0, 128,7, 129,3, 129,8, 132,0, 132,2, 136,4, 137,7, 143,8, 154,2, 170,3, 173,3, 213,2;
MS (EI), m/e 504 (M^+);
smp.: 83-86°C.

Eksempel 2

Syntese av [2-(2,6-diklorfenylamino)fenyl]eddiksyre-4-tiokarbamoylfenylester (forbindelse XVII)



Reaksjonsskjema 2

Syntese av 4-karbamoylfenyl-2-[2-(2,6-diklorfenylamino)fenyl]acetat (**5**)

Til en løsning av **1** (diclofenac, 890 mg, 3,0 mmol) i 50 ml N,N-dimetylformamid ble det tilsatt hydroksybenzotriazol (445 mg, 3,3 mmol) og DCC (680 mg, 3,3 mmol) under omrøring ved 0 °C i 1 time. Til reaksjonsblandingen ble det tilsatt 4-hydroksybenzamid (**4**, 616 mg, 4,5 mmol) og blandingen ble omrørt i 1 time ved 0 °C og 3 timer ved romtemperatur. Etter filtrering ble filtratet fordampet under redusert trykk, og det således erholdte, oljeaktige residuum ble løst i kloroform, det organiske lag ble vasket med saltvann, tørket over vannfritt $MgSO_4$, filtrert og løsemidlet ble fordampet. Det urene produkt **5** ble fylt på en åpen silikagelkolonne og eluert med CH_2Cl_2/MeOH (9/1), fra hvilken 4-karbamoylfenyl-2-(2-(2,6-diklorfenylamino)fenyl)acetat (**5**) ble erholdt (212 mg, 17% utbytte).

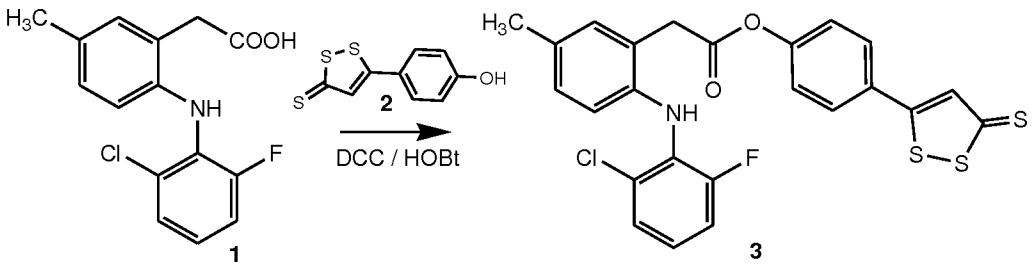
Syntese av [2-(2,6-diklorfenylamino)fenyl]eddiksyre-4-tiokarbamoylfenylester (**6**)

4-karbamoylfenyl-2-(2-(2,6-diklorfenylamino)fenyl)acetat (**5**, 480 mg, 1,14 mmol) og Lawessons reagens (460 mg, 1,14 mmol) ble løst i 20 ml vannfri benzen. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til 50 °C og omrørt i 6 timer. Løsemidlet ble fjernet under redusert trykk, det urene residuum ble renset ved silikagelkolonne (diklormetan/-metylalkohol 9,5/0,5) under dannelse av den rene forbindelse **6** (446 mg, 91% utbytte). ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ 4,07 (s, 2H), 6,59 (d, 1H), 6,67 (s, 1H), 6,98 (t, 1H), 7,14 (t, 1H), 7,19 (d, 1H), 7,28 (t, 1H), 7,33 (d, 2H), 7,63 (s, 1H), 7,97 (d, 2H);

^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ 38,8, 118,8, 121,8, 122,6, 123,7, 124,4, 128,7, 129,1, 129,6, 131,2, 137,2, 137,8, 142,9, 153,5, 170,5, 193,2, 201,7;
MS (EI), m/e 431 (M^+);
smp.: 170-172°C.

Sammenligningseksempel 3

Syntese av [2-(2-klor-6-fluorfenylamino)fenyl]eddiksyre-4-(5-tiokso-5H-[1,2]ditiol-3-yl)-fenylester (forbindelse III)



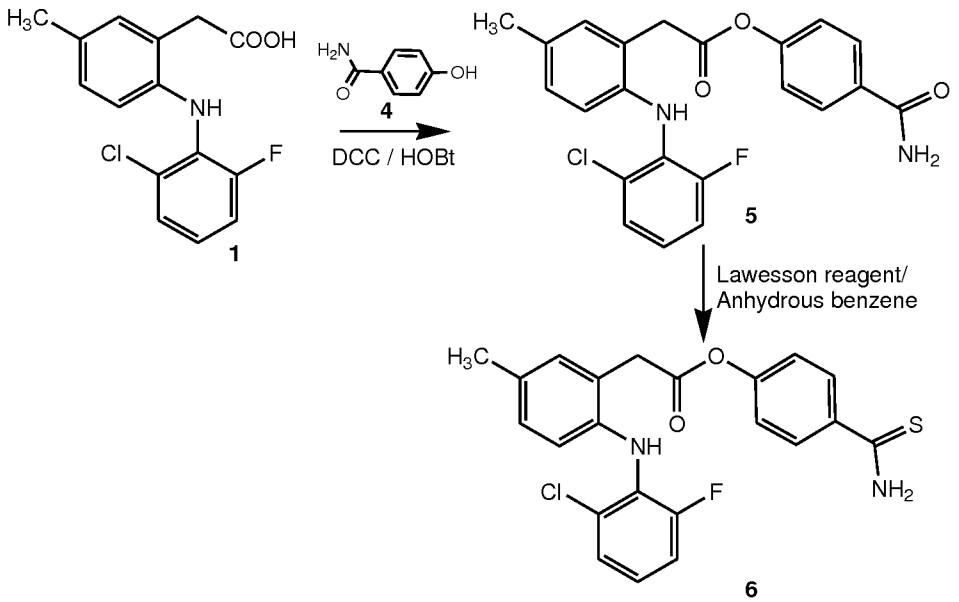
Reaksjonsskjema 1

Syntese av 4-(5-tiokso-5*H*-1,2-ditiol-3-yl)fenyl-2-(2-(2-klor-6-fluorfenylamino)-5-metyl-fenyl)acetat (**3**)

Til en løsning av **1** (lumiracoxib, 600 mg, 2,03 mmol) i 40 ml dimetylformamid ble det tilsatt hydroksybenzotriazol (301 mg, 2,23 mmol) og DCC (459 mg, 2,23 mmol) under omrøring ved 0 °C i 1 time. Til reaksjonsblandingen ble det tilsatt 5-*p*-hydroksy-fenyl-1,2-ditiol-3-tion (**2**; 504 mg, 2,23 mmol), og denne ble omrørt i 1 time ved 0 °C og i 3 timer ved romtemperatur. Etter filtrering ble filtratet fordampet under redusert trykk for å fjerne løsemidlet. Det således erholdte oljeaktige residuum ble løst i etylacetat, det organiske lag ble vasket med saltvann, tørket over vannfritt $MgSO_4$, filtrert og løsemidlet ble fordampet. Det urene produkt **3** ble fylt på en åpen silikagelkolonne og eluert med CH_2Cl_2 fra hvilken 4-(5-tiokso-5*H*-1,2-ditiol-3-yl)fenyl-2-(2-(2-klor-6-fluorfenylamino)-5-metylfenyl)acetat (**3**) ble erholdt (299 mg, 37% utbytte).
^{1}H NMR (DMSO): δ 2,32 (s, 3H), 4,02 (s, 2H), 6,41 (s, 1H), 6,71 (d, 1H), 6,93 (t, 1H), 6,95 (d, 2H), 7,14 (d, 1H), 7,19 (d, 2H), 7,39 (s, 1H), 7,66 (d, 2H);
^{13}C NMR (DMSO): δ 20,8, 38,7, 115,2, 119,2, 122,5, 123,2, 124,0, 126,1, 127,2, 129,3, 130,3, 131,7, 132,2, 133,6, 136,4, 140,3, 153,7, 154,4, 156,8, 170,3, 171,6, 215,7;
MS (EI), m/e 503 (M^+);
smp.: 131-133°C.

Eksempel 4

Syntese av 4-tiokarbamoylfenyl-2-(2-(2-klor-6-fluorfenylamino)-5-metylfenyl)acetat (forbindelse XVIII)



Reaksjonsskjema 2

Syntese av 4-karbamoylfenyl-2-(2-(2-klor-6-fluorfenylamino)-5-metylfenyl)acetat (**5**)

Til en løsning av **1** (lumiracoxib, 223 mg, 0,75 mmol) i 15 ml dimetylformamid ble det tilsatt hydroksybenzotriazol (111 mg, 0,825 mmol) og DCC (170 mg, 0,825 mmol) under omrøring ved 0 °C i 1 time. Til reaksjonsblandingen ble det tilsatt 4-hydroksybenzamid (**4**, 154 mg, 1,125 mmol), og blandingen ble omrørt i 1 time ved 0 °C og i 3 timer ved romtemperatur. Etter filtrering ble filtratet fordampet under redusert trykk for å fjerne løsemidlet. Det således erholdte oljeaktige residuum ble løst i kloroform, det organiske lag ble vasket med saltvann, tørket over vannfritt $MgSO_4$, filtrert og løsemidlet ble fordampet. Det urene produkt **5** ble fylt på en åpen silikagelkolonne og eluert med CH_2Cl_2/MeOH (9/1) under dannelse av 4-karbamoylfenyl-2-(2-(2-klor-6-fluorfenylamino)-5-metylfenyl)acetat (**5**) (111 mg, 35% utbytte).

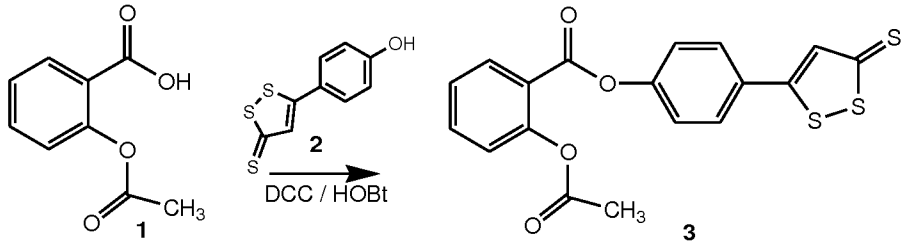
Syntese av 4-tiokarbamoylfenyl-2-(2-(2-klor-6-fluorfenylamino)-5-metylfenyl)acetat (**6**)

4-karbamoylfenyl-2-(2-(2-klor-6-fluorfenylamino)-5-metylfenyl)acetat, **5** (110 mg, 0,27 mmol) og Lawessons reagens (109 mg, 0,27 mmol) ble løst i 15 ml vannfri benzen. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til 60 °C og omrørt i 3 timer. Løsemidlet ble fjernet under redusert trykk, det urene residuum ble renset på silikagelkolonne (diklormetan/-metylalkohol 9,5:0,5) under dannelse av den rene forbindelse **6** (59 mg, 51% utbytte). ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ 2,32 (s, 3H), 4,01 (s, 2H), 6,46 (s, 1H), 6,70 (d, 1H), 6,92 (t, 1H), 7,01 (d, 2H), 7,11 (d, 2H), 7,19 (d, 1H), 7,62 (s, NH), 7,84 (d, 2H);

^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ 20,8, 30,7, 115,1, 119,2, 122,0, 122,3, 124,1, 124,9, 126,1, 128,2, 129,2, 132,3, 134,8, 138,6, 140,9, 153,7, 154,6, 156,2, 170,4, 201,7;
MS (EI), m/e 429 (M^+);
smp.: 120-122 °C.

Sammenligningseksempel 5

Syntese av 4-(5-tiokso-5H-1,2-ditiol-3-yl)fenyl-2-acetoksybenzoat (forbindelse I)



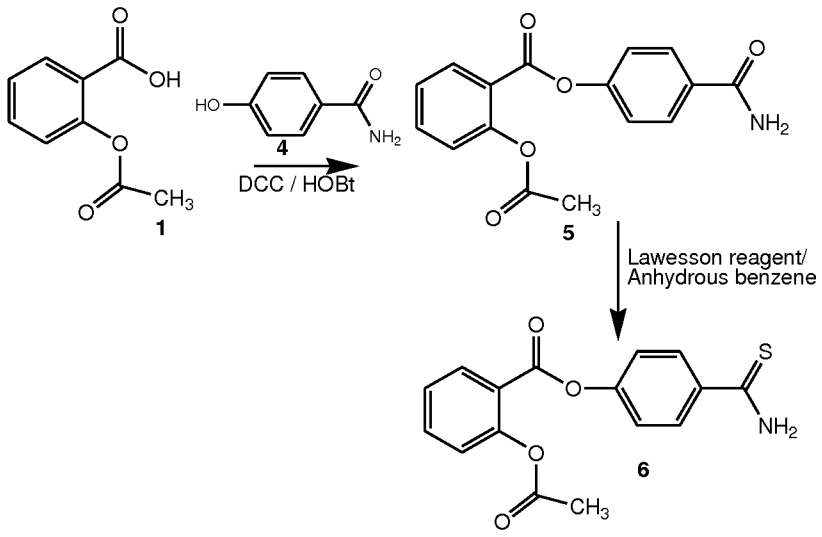
Reaksjonsskjema 1

Syntese av 4-(5-tiokso-5*H*-1,2-ditiol-3-yl)fenyl-2-acetoksybenzoat (**3**)

Til en løsning av **1** (acetylsalisylsyre, 416 mg, 2,31 mmol) i 40 ml dimetylformamid ble det tilsatt hydroksybenzotriazol (343 mg, 2,54 mmol) og DCC (523 mg, 2,54 mmol) under omrøring ved 0 °C i 1 time. Til reaksjonsblandingen ble det tilsatt 5-*p*-hydroksyfenyl-1,2-ditiol-3-tion (**2**; 574 mg, 2,54 mmol), og denne ble omrørt i 1 time ved 0 °C og 3 timer ved romtemperatur. Etter filtrering ble filtratet fordampet under redusert trykk for å fjerne løsemidlet. Det således erholdte oljeaktige residuum ble løst i etylacetat, det organiske lag ble vasket med saltvann, tørket over vannfritt $MgSO_4$, filtrert og løsemidlet ble fordampet. Det urene produkt ble fylt på en åpen silikagelkolonne og eluert med etyleter/petroleumseter (1/1) under dannelse av 4-(5-tiokso-5*H*-1,2-ditiol-3-yl)-fenyl-2-acetoksybenzoat (**3**) (354 mg, 40% utbytte).
^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 2,32 (s, 3H), 7,20 (d, 1H), 7,33 (d, 2H), 7,40 (s, 1H), 7,41 (t, 1H), 7,67 (t, 1H), 7,73 (d, 2H), 8,21 (d, 1H);
^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ 21,3, 122,1, 123,4, 124,4, 126,6, 128,6, 129,7, 132,4, 135,4, 136,4, 151,6, 153,7, 162,6, 169,8, 171,9, 215,7;
MS (EI), m/e 389 (M^+);
smp.: 120-122°C.

Eksempel 6

Syntese av 2-acetoksybenzosyre-4-tiokarbamoyl-fenylester (forbindelse XVI)



Reaksjonsskjema 2

Syntese av 4-karbamoylfenyl-2-acetoksybenzoat (**5**)

Til en løsning av **1** (acetylsalisylsyre, 500 mg, 2,77 mmol) i 15 ml dimetylformamid ble det tilsatt hydroksybenzotriazol (412 mg, 3,05 mmol) og DCC (628 mg, 3,05 mmol) under omrøring ved 0 °C i 1 time. Til reaksjonsblandingen ble det tilsatt 4-hydroksybenzamid (**4**, 418 mg, 3,05 mmol), og denne ble omrørt i 1 time ved 0 °C og i 3 timer ved romtemperatur. Etter filtrering ble filtratet fordampet under redusert trykk for å fjerne løsemidlet. Det således erholdte oljeaktige residuum ble løst i kloroform, det organiske lag ble vasket med saltvann, tørket over vannfritt $MgSO_4$, filtrert og løsemidlet ble fordampet. Det urene produkt **5** ble fylt på en åpen silikagelkolonne og eluert med CH_2Cl_2/MeOH (9/1) under dannelse av 4-karbamoylfenyl-2-acetoksybenzoat (**5**) (410 mg, 47% utbytte).

Syntese av 4-tiokarbamoylfenyl-2-(2-(2-klor-6-fluorfenylamino)-5-metylfenyl)acetat (**6**)

4-karbamoylfenyl-2-acetoksybenzoat, **5** (410 mg, 1,37 mmol) og Lawessons reagens (554 mg, 1,37 mmol) ble løst i 35 ml vannfri benzen. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til 60 °C og omrørt i 3 timer. Løsemidlet ble fjernet under redusert trykk, det urene residuum ble renset med silikagelkolonne (diklormetan/metylalkohol 9,5:0,5) under dannelse av 470 mg uren forbindelse **6**. Den erholdte forbindelse ble renset ved preparativ RP-HPLC utført med to løsemiddelsystemer: A: 100% acetonitril i 0,1% TFA, B: 100% H_2O i 0,1% TFA (lineær gradient fra 10% A til 60% A i løpet av 35 minutter, UV-påvisning ved 254 nm, strømningshastighet 30 ml/min) under dannelse av den rene forbindelse **6** (324 mg, 71% utbytte).

^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ 2,30 (s, 3H), 7,17 (d, 1H), 7,21 (d, 2H), 7,40 (t, 1H), 7,66 (t, 1H), 7,94 (d, 2H), 8,2 (d, 1H);

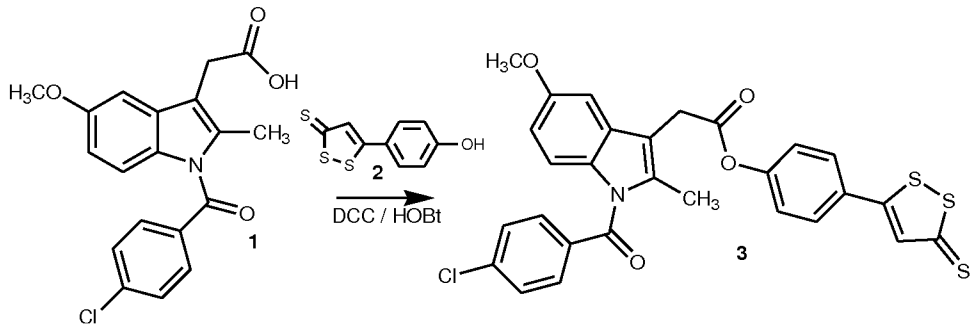
^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ 21,2, 121,9, 122,4, 124,3, 126,4, 128,7, 132,4, 135,1, 137,3, 151,5, 153,7, 162,7, 169,8, 201,8.

MS (EI), m/e 316 (M^+);

smp.: 154-156 °C.

Sammenligningseksempel 7

Syntese av [1-(4-klorbenzoyl)-5-metoksy-2-metyl-1H-indol-3-yl]eddiksyre-4-(5-tiokso-5H-[1,2]ditiol-3-yl)fenylester (forbindelse IV)



Reaksjonsskjema 1

Syntese av 4-[4-(5-tiokso-5*H*-1,2-ditiol-3-yl)]fenyl-2-[1-(4-klorbenzoyl)-5-metoksy-2-metylindol-3-yl]acetat (**3**)

Til en løsning av **1** (indomethacin, 720 mg, 2,01 mmol) i 30 ml dimetylformamid ble det tilsatt hydroksybenzotriazol (301 mg, 2,21 mmol) og DCC (456 mg, 2,21 mmol) under omrøring ved 0 °C i løpet av 1 time. Til reaksjonsblandingen ble det tilsatt 5-*p*-hydroksyfenyl-1,2-ditiol-3-tion (**2**; 500 mg, 2,21 mmol), og blandingen ble omrørt i 1 time ved 0 °C og 2 timer ved romtemperatur. Etter filtrering ble filtratet fordampet under redusert trykk for å fjerne løsemidlet. Det således erholdte oljeaktige residuum ble løst i etylacetat, det organiske lag ble vasket med saltvann, med 5% $NaHCO_3$, med 10% sitronsyre og deretter tørket på vannfritt $MgSO_4$, filtrert og løsemidlet ble fordampet. Det urene produkt ble fylt på en åpen silikagelkolonne og eluert med diklormetan/-metylalkohol (98/2) under dannelse av 4-[4-(5-tiokso-5*H*-1,2-ditiol-3-yl)]fenyl-2-[1-(4-klorbenzoyl)-5-metoksy-2-metylindol-3-yl]acetat (**3**) (257 mg, 23% utbytte).

^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ 2,47 (s, 3H), 3,84 (s, 3H, OCH_3), 3,93 (s, 2H), 6,70 (d, 1H), 6,88 (d, 1H), 7,04 (s, 1H), 7,21 (d, 2H), 7,37 (s,1H) 7,48 (d, 2H), 7,65 (d, 2H), 7,67 (d, 2H);

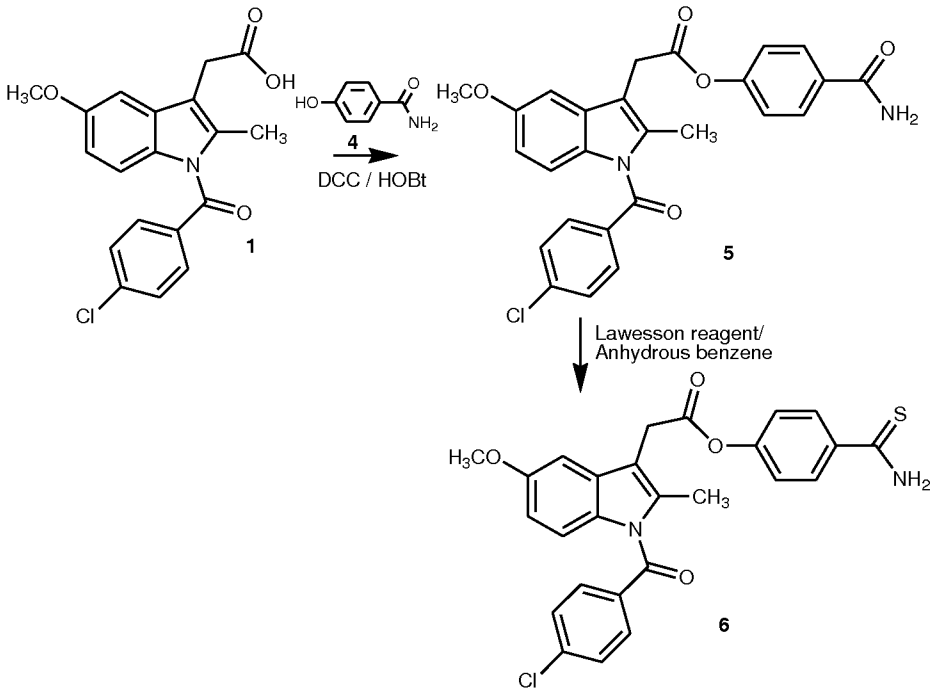
^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ 13,6, 30,8, 56,0, 101,5, 111,6, 111,9, 115,3, 122,9, 128,4, 129,4, 129,6, 130,6, 131,1, 131,4, 133,9, 136,3, 136,6, 139,7, 153,8, 156,4, 167,5, 168,9, 170,4, 215,7;

MS (EI), m/e 567 (M^+);

smp.: 90-92 °C.

Eksempel 8

Syntese av [1-(4-klorbenzoyl)-5-metoksy-2-metyl-1H-indol-3-yl]eddiksyre-4-tio-karbamoylfenylester (forbindelse XIX)



Reaksjonsskjema 2

Syntese av 4-karbamoylfenyl-2-[1-(4-klorbenzoyl)-5-metoksy-2-metylindol-3-yl]acetat (**5**)

Til en løsning av **1** (indomethacin, 3 g, 8,38 mmol) i 60 ml dimetylformamid ble det tilsatt hydroksybenzotriazol (1,25 g, 9,22 mmol) og DCC (1,9 g, 9,22 mmol) under omrøring ved 0 °C i 1 time. Til reaksjonsblandingen ble det tilsatt 4-hydroksybenzamid (**4**, 1,72 g, 12,6 mmol), og denne ble omrørt i 1 time ved 0 °C og 2 timer ved romtemperatur. Etter filtrering ble filtratet fordampet under redusert trykk for å fjerne løsemidlet. Det således erholdte oljeaktige residuum ble løst i etylacetat, det organiske lag ble vasket med saltvann, med 5% $NaHCO_3$, med 10% sitronsyre og ble deretter tørket på vannfritt $MgSO_4$, filtrert og løsemidlet ble fordampet. Det urene produkt **5** ble fylt på en åpen silikagelkolonne og eluert med CH_2Cl_2/MeOH (9,5/0,5) under dannelse av 4-karbamoylfenyl-2-[1-(4-klorbenzoyl)-5-metoksy-2-metylindol-3-yl]acetat (**5**) (479 mg, 12% utbytte).

Syntese av 4-tiokarbamoylfenyl-2-[1-(4-klorbenzoyl)-5-metoksy-2-metylindol-3-yl]acetat (**6**)

4-karbamoylfenyl-2-[1-(4-klorbenzoyl)-5-metoksy-2-metylindol-3-yl]acetat, **5** (340 mg, 0,71 mmol) og Lawessons reagens (287 mg, 0,71 mmol) ble løst i 15 ml vannfritt benzen. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til 60 °C og omrørt i 4 timer.

Løsemidlet ble fjernet under redusert trykk, det urene residuum ble renset med silikagelkolonne (diklormetan/metylalkohol 9,5:0,5) under dannelse av 178 mg av uren forbindelse **6.** Den erholdte forbindelse ble renset ved preparativ RP-HPLC utført med to løsemiddelsystemer: A: 100% acetonitril i 0,1% TFA, B: 100% H_2O i 0,1% TFA (lineær gradient fra 10% A to 80% A i løpet av 30 minutter, UV-påvisning ved 254 nm, strømningshastighet 30 ml/min) under dannelse av ren forbindelse **6** (56 mg, 16% utbytte).

^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ 2,45 (s, 3H), 3,83 (s, 3H, OCH_3), 3,91 (s, 2H), 6,70 (d, 1H), 6,88 (d, 1H), 7,04 (s, 1H), 7,11 (d, 2H), 7,47 (d, 2H), 7,67 (d, 2H), 7,88 (d, 2H);

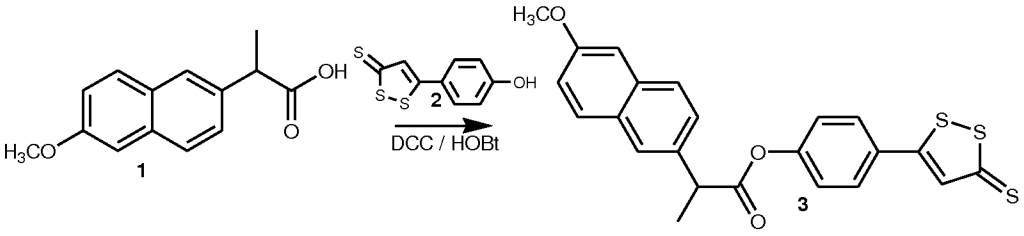
^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ 13,6, 30,8, 56,0, 101,5, 111,9, 112,0, 115,3, 121,7, 128,6, 129,4, 130,8, 131,2, 131,4, 134,0, 136,8, 137,1, 139,7, 156,2, 157,9, 167,6, 169,8, 201,8;

MS (EI), m/e 493 (M^+);

smp.: 224-226 °C.

Sammenligningseksempel 9

Syntese av 2-(6-metoksynaftalen-2-yl)-propionsyre-4-(5-tiokso-5H-[1,2]ditiol-3-yl)-fenylester (forbindelse V)



Reaksjonsskjema 1

Syntese av 4-(5-tiokso-5*H*-1,2-ditiol-3-yl)fenyl-2-(2-metoksynaftalen-6-yl)propanoat (**3**)

Til en løsning av **1** (naproxen, 595 mg, 2,58 mmol) i 20 ml dimetylformamid ble det tilsatt hydroksybenzotriazol (388 mg, 2,87 mmol) og DCC (593 mg, 2,87 mmol) under omrøring ved 0 °C i 1 time. Til reaksjonsblandingen ble det tilsatt 5-*p*-hydroksyfenyl-1,2-ditiol-3-tion (**2**; 650 mg, 2,87 mmol), og denne ble omrørt i 1 time ved 0 °C og i 2 timer ved romtemperatur. Etter filtrering ble filtratet fordampet under redusert trykk for å fjerne løsemidlet. Det således erholdte oljeaktige residuum ble løst i etylacetat, det organiske lag ble vasket med saltvann, med 5% $NaHCO_3$, med 10% sitronsyre og ble deretter tørket på vannfritt $MgSO_4$, filtrert og løsemidlet ble fordampet. Det urene produkt ble fylt på en åpen silikagelkolonne og eluert med diklormetan under dannelse av 4-(5-tiokso-5*H*-1,2-ditiol-3-yl)fenyl-2-(2-metoksynaftalen-6-yl)propanoat (**3**) (406 mg, 36% utbytte).

^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 1,59 (d, 3H), 3,86 (s, 3H, OCH_3), 4,24 (dd, 1H), 7,18 (d, 1H), 7,22 (d, 2H), 7,31 (s, 1H), 7,50 (d, 1H), 7,77 (s,1H) 7,85 (d, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,87 (d, 1H), 7,91 (d, 2H);

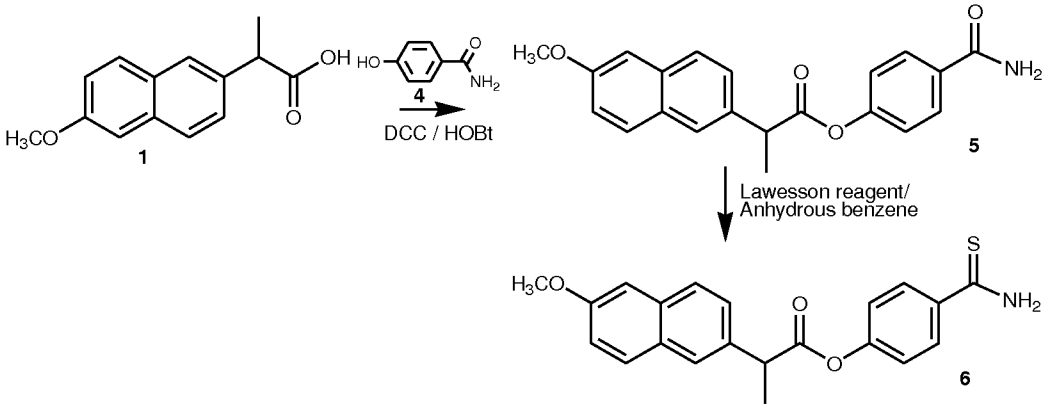
^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ 19,1, 45,2, 55,9, 106,5, 119,6, 123,5, 126,6, 126,9, 128,0, 129,2, 129,4, 129,5, 129,6, 129,9, 134,2, 135,6, 136,5, 154,2, 158,1, 173,2, 216,2;

MS (EI), m/e 439 (M^+);

smp.: 111-113 °C.

Eksempel 10

Syntese av 2-(6-metoksynaftalen-2-yl)propionsyre-4-tiokarbamoyl-fenylester (forbindelse XX)



Reaksjonsskjema 2

Syntese av 4-karbamoylfenyl-2-(2-metoksynaftalen-6-yl)propanoat (**5**)

Til en løsning av **1** (naproxen, 4 g, 17,4 mmol) i 80 ml dimetylformamid ble det tilsatt hydroksybenzotriazol (2,59 g, 19,14 mmol) og DCC (2,59 g, 19,14 mmol) under omrøring ved 0 °C i 1 time. Til reaksjonsblandingen ble det tilsatt 4-hydroksybenzamid (**4**, 3,58 g, 26,1 mmol), og denne ble omrørt i 1 time ved 0 °C og i 2 timer ved romtemperatur. Etter filtrering ble filtratet fordampet under redusert trykk for å fjerne løsemidlet. Det således erholdte oljeaktige residuum ble løst i etylacetat, det organiske lag ble vasket med saltvann, med 5% $NaHCO_3$, med 10% sitronsyre og ble deretter tørket på vannfritt $MgSO_4$, filtrert og løsemidlet ble fordampet. Det urene produkt **5** ble fylt på en åpen silikagelkolonne og eluert med CH_2Cl_2/MeOH (9,5/0,5) under dannelse av 4-karbamoylfenyl-2-(2-metoksynaftalen-6-yl)propanoat (**5**) (1,91 g, 32% utbytte).

Syntese av 4-tiokarbamoylfenyl-2-(2-metoksynaftalen-6-yl)propanoat (**6**)

4-karbamoylfenyl-2-(2-metoksynaftalen-6-yl)propanoat, **5** (1,80 g, 4,34 mmol) og Lawessons reagens (1,75 g, 4,34 mmol) ble løst i 130 ml vannfri benzen. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til 60 °C og ble omrørt i 4 timer. Løsemidlet ble fjernet under redusert trykk, det urene residuum ble renset med silikagelkolonne (diklormetan/-metylalkohol 9,75:0,25) under dannelse av 2,9 g uren forbindelse **6.** Den erholdte

forbindelse ble renset med en åpen silikagelkolonne og eluert med CH_2Cl_2/MeOH (9,5/0,5)) under dannelse av den rene forbindelse **6** (970 mg, 61% utbytte).

^1H NMR (DMSO-d_6): δ 1,59 (d, 3H), 3,86 (s, 3H, OCH_3), 4,24 (dd, 1H), 7,06 (d, 2H), 7,18 (d, 1H), 7,31 (s, 1H), 7,50 (d, 1H), 7,84 (s,1H) 7,85 (d, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,89 (d, 2H), 9,47 og 9,84 (s, 2H, NH_2);

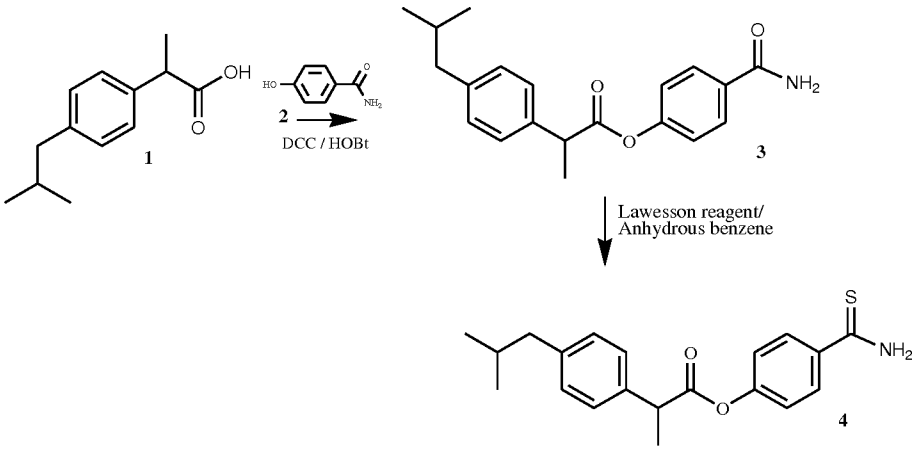
^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ 19,1, 45,2, 55,9, 106,5, 119,6, 121,6, 126,6, 126,9, 128,0, 129,4, 129,9, 134,2, 135,6, 137,8, 153,4, 158,1, 173,3, 199,7;

MS (EI), m/e 366 (M^+);

smp.: 196-198 °C.

Eksempel 11

Syntese av 4-tiokarbamoylfenyl-2-(4-isobutylfenyl)propanoat (forbindelse XXIX)



Til en løsning av **1** (ibuprofen, 3,87 g, 18,8 mmol) i 80 ml dimetylformamid ble det tilsatt hydroksybenzotriazol (2,8 g, 20,7 mmol) og DCC (4,27 g, 20,7 mmol) under omrøring ved 0 °C i 1 time. Til reaksjonsblandingen ble det tilsatt 4-hydroksybenzamid (**2**, 3,9 g, 28 mmol), og denne ble omrørt i 1 time ved 0 °C og i 2 timer ved romtemperatur. Etter filtrering ble filtratet fordampet under redusert trykk for å fjerne løsemidlet. Det således erholdte oljeaktige residuum ble løst i etylacetat, det organiske lag ble vasket med saltvann, med 5% $NaHCO_3$, 10% sitronsyre og ble deretter tørket på vannfritt $MgSO_4$, filtrert og løsemidlet ble fordampet. Det urene produkt **3** ble fylt på en åpen silikagelkolonne og eluert med CH_2Cl_2/MeOH (9,5/0,5) under dannelse av 4-karbamoylfenyl-2-(4-isobutylfenyl)propanoat (**3**) (2,48 g, 40% utbytte).

Syntese av 4-tiokarbamoylfenyl-2-(4-isobutylfenyl)propanoat (**4**)

4-karbamoylfenyl-2-(4-isobutylfenyl)propanoat, **3** (2,48 g, 7,62 mmol) og Lawessons reagens (3,1 g, 7,62 mmol) ble løst i 130 ml vannfri benzen. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til 60 °C og omrørt i 4 timer. Løsemidlet ble fjernet under redusert trykk. Den erholdte forbindelse ble renset ved åpen silikagelkolonne og eluert

med CH_2Cl_2/MeOH (9,5/0,5) under dannelse av den rene forbindelse **4** (1,45 g, 55% utbytte).

^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 0,84 (d, 6H), 1,48 (d, 3H), 1,79-1,82 (m, 1H), 2,42 (d, 2H), 4,05 (dd, 1H), 7,05 (d, 2H), 7,15 (d, 2H), 7,28 (d,2H) 7,88 (d, 2H), 9,49 og 9,87(s, 2H, NH_2);

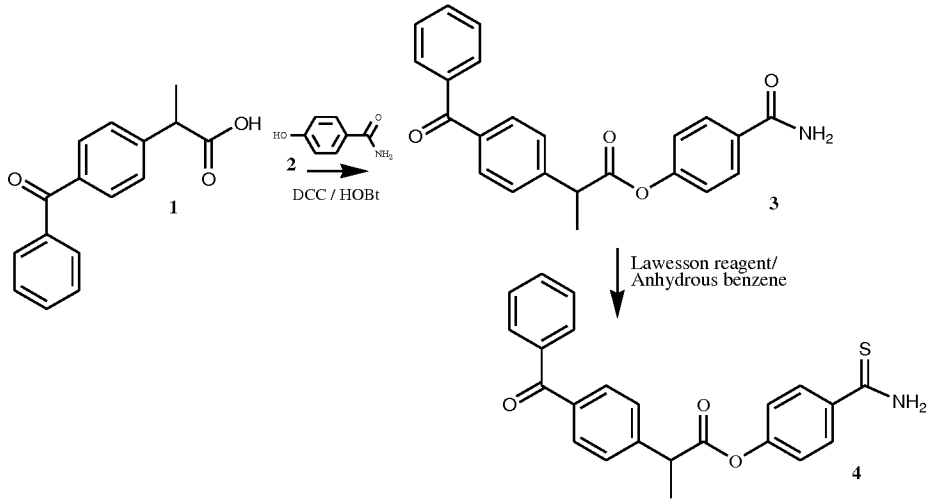
^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ 19,2, 22,9, 30,3, 44,9, 121,6, 127,9, 129,5, 130,0, 137,8, 138,0, 140,8, 153,3, 173,3, 199,6;

MS (EI), m/e 341 (M^+);

smp.: 121-123 °C.

Eksempel 12

Syntese av 4-tiokarbamoylfenyl-2-(4-oksofenyl)fenylpropanoat (forbindelse XXX)



Syntese av 4-karbamoylfenyl-2-(4-oksofenyl)fenylpropanoat (**3**)

Til en løsning av **1** (ketoprofen, 3 g, 11,8 mmol) i 80 ml dimetylformamid ble det tilsatt hydroksybenzotriazol (1,76 g, 13 mmol) og DCC (2,68 g, 13 mmol) under omrøring ved 0 °C i 1 time. Til reaksjonsblandingen ble det tilsatt 4-hydroksybenzamid (**2**, 2,43 g, 17,7 mmol), og denne ble omrørt i 1 time ved 0 °C og 2 timer ved romtemperatur. Etter filtrering ble filtratet fordampet under redusert trykk for å fjerne løsemidlet. Det således erholdte oljeaktige residuum ble løst i etylacetat, det organiske lag ble vasket med saltvann, med 5% $NaHCO_3$, 10% sitronsyre og deretter tørket på vannfritt $MgSO_4$, filtrert og løsemidlet ble fordampet. Det urene produkt **3** ble fylt på en åpen silikagelkolonne og eluert med CH_2Cl_2/MeOH (9,5/0,5) under dannelse av 4-karbamoylfenyl-2-(4-oksofenyl)-fenylpropanoat (**3**) (1,84 g, 42% utbytte).

Syntese av 4-tiokarbamoylfenyl-2-(4-oksofenyl)fenylpropanoat (**4**)

4-karbamoylfenyl-2-(4-oksofenyl)fenylpropanoat (**3**) (1,84 g, 4,93 mmol) og Lawessons reagens (2 g, 4,93 mmol) ble løst i 100 ml vannfri benzen. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til 60 °C og omrørt i 4 timer. Løsemidlet ble fjernet under

redusert trykk. Den erholdte forbindelse ble renset med en åpen silikagelkolonne og eluert med CH_2Cl_2/MeOH (9,5/0,5) under dannelse av ren forbindelse **4** (0,45 g, 23% utbytte).

^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 1,53 (d, 3H), 4,25 (dd, 1H), 7,08 (d, 2H), 7,54-7,73 (m, 9H), 7,90 (d, 2H), 9,51 og 9,88 (s, 2H, NH_2);

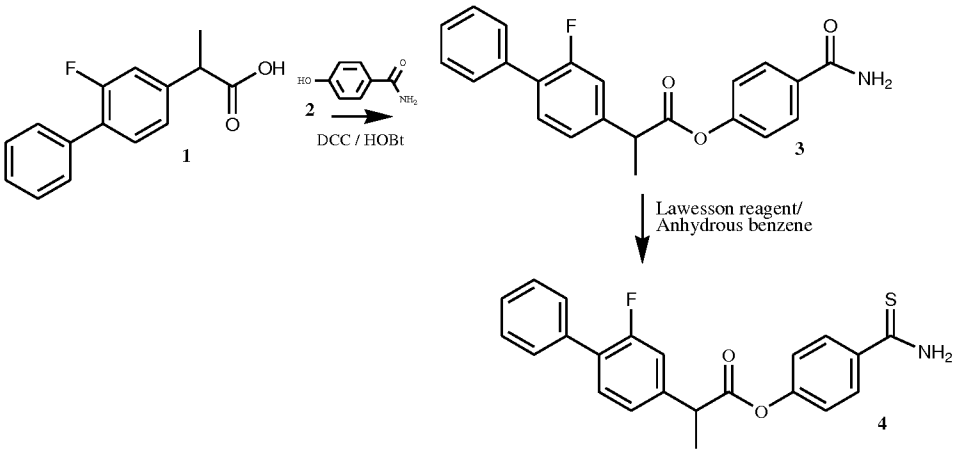
^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ 19,2, 44,9, 121,6, 129,3, 129,5, 129,8, 130,3, 132,6, 133,5, 137,6, 137,9, 138,1, 141,2, 153,3, 154,5, 156,1, 163,8, 172,9, 199,6;

MS (EI), m/e 390 (M^+);

smp.: 114-116 °C.

Eksempel 13

Syntese av 4-tiokarbamoylfenyl-2-(3-fluor, 4-fenyl)fenylpropanoat (forbindelse XXXI)



Syntese av 4-karbamoylfenyl-2-(3-fluor, 4-fenyl)fenylpropanoat (**3**)

Til en løsning av **1** (flurbiprofen, 2 g, 8,2 mmol) i 80 ml dimetylformamid ble det tilsatt hydroksybenzotriazol (1,22 g, 9,02 mmol) og DCC (1,86 g, 9,02 mmol) under omrøring ved 0 °C i 1 time. Til reaksjonsblandingen ble det tilsatt 4-hydroksybenzamid (**2**, 1,7 g, 12,2 mmol), og denne ble omrørt i 1 time ved 0 °C og i 2 timer ved romtemperatur. Etter filtrering ble filtratet fordampet under redusert trykk for å fjerne løsemidlet. Det således erholdte oljeaktige residuum ble løst i etylacetat, det organiske lag ble vasket med saltvann, 5% $NaHCO_3$, med 10% sitronsyre og ble deretter tørket over vannfritt $MgSO_4$, filtrert og løsemidlet ble fordampet. Det urene produkt **3** ble fylt på en åpen silikagelkolonne og eluert med CH_2Cl_2/MeOH (9,5/0,5) under dannelse av 4-karbamoylfenyl-2-(3-fluor, 4-fenyl)fenylpropanoat (**3**) (1,09 g, 37% utbytte).

Syntese av 4-tiokarbamoylfenyl-2-(3-fluor, 4-fenyl)fenylpropanoat (**4**)

4-karbamoylfenyl-2-(3-fluor, 4-fenyl)fenylpropanoat, **3** (1,09 g, 3 mmol) og Lawessons reagens (1,21 g, 3 mmol) ble løst i 70 ml vannfri benzen. Reaksjons-

blandingen ble oppvarmet til 60 °C og omrørt i 4 timer. Løsemidlet ble fjernet under redusert trykk. Den erholdte forbindelse ble renset med en åpen silikagelkolonne og eluert med CH_2Cl_2/MeOH (9,5/0,5) under dannelse av ren forbindelse **4** (0,35 g, 31% utbytte).

^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 1,55 (d, 3H), 4,21 (dd, 1H), 7,32-7,55 (m, 8H), 7,90 (d, 2H), 9, 51 og 9,88 (s, 2H, NH_2);

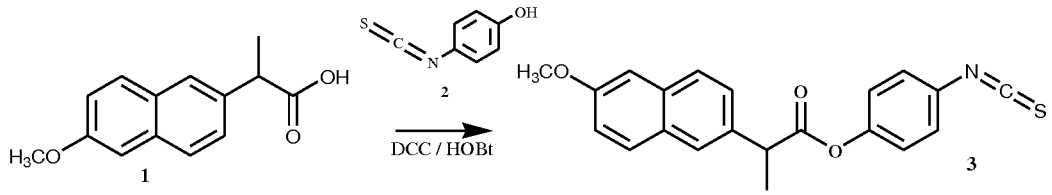
^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ 19,1, 44,7, 115,9, 116,2, 121,7, 124,8, 128,6, 129,3, 129,4, 129,5, 131,7, 135,8, 137,7, 142,6, 153,7, 158,3, 163,5, 173,1, 199,6;

MS (EI), m/e 380 (M^+);

smp.: 142-144 °C.

Sammenligningseksempel 14

Syntese av 4-(isotiocyano)fenyl-2-(2-metoksynaftalen-6-yl)propanoat (forbindelse XXV)



Til en løsning av **1** (naproxen, 691 mg, 3 mmol) i 20 ml dimetylformamid ble det tilsatt hydroksybenzotriazol (446 mg, 3,3 mmol) og DCC (619 mg, 3,3 mmol) under omrøring ved 0 °C i 1 time. Til reaksjonsblandingen ble det tilsatt 4-hydroksyfenyl-isotiocyanat (**2**; 500 mg, 3,3 mmol), og denne ble omrørt i 1 time ved 0 °C og i 2 timer ved romtemperatur. Etter filtrering ble filtratet fordampet under redusert trykk for å fjerne løsemidlet. Det således erholdte oljeaktige residuum ble løst i etylacetat, og det utfelte materiale ble fjernet. Løsemidlet ble fordampet, og det urene produkt ble fylt på en åpen silikagelkolonne og ble eluert med diklormetan under dannelse av 4-(isotio-cyano)fenyl-2-(2-metoksynaftalen-6-yl)propanoat (**3**) (230 mg, 21% utbytte).

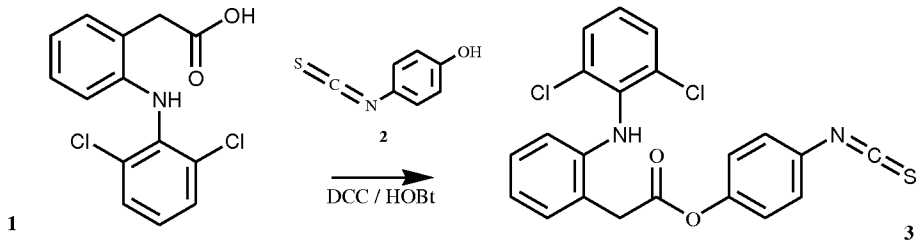
^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 1,57 (d, 3H), 3,86 (s, 3H, OCH_3), 4,20 (dd, 1H), 7,10 (d, 2H), 7,15 (d, 1H), 7,29 (s, 1H), 7,43 (d, 2H), 7,48 (d, 1H), 7,78 (d, 1H) 7,80 (s, 1H), 7,83 (d, 1H);

^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ 19,1, 45,2, 55,9, 106,5, 119,6, 123,8, 126,6, 126,9, 128,0, 128,3, 129,2, 129,9, 134,2, 134,6, 135,7, 150,2, 158,1, 173,2, 215,1;

smp.: 66-68 °C; MS (EI), m/e 364 (M^+).

Sammenligningseksempel 15

Syntese av 4-isotiocyanatofenyl-2-(2-(2,6-diklorfenylamino)fenyl)acetat (forbindelse XXII)



4-isotiocyanatofenyl-2-(2-(2,6-diklorfenylamino)fenyl)acetat (**3**)

Til en løsning av **1** (diclofenac, 1 717 mg, 5,8 mmol) i 60 ml dimetylformamid ble det tilsatt hydroksybenzotriazol (862 mg, 6,38 mmol) og DCC (1 316 mg, 6,38 mmol) under omrøring ved 0 °C i 1 time. Til reaksjonsblandingen ble det tilsatt 4-hydroksyfenylisotiocyanat (**2**; 965 mg, 6,38 mmol), og denne ble omrørt i 1 time ved 0 °C og i 2 timer ved romtemperatur. Etter filtrering ble filtratet fordampet under redusert trykk for å fjernet løsemidlet. Det således erholdte oljeaktige residuum ble løst i etylacetat, og det utfelte materiale ble fjernet. Løsemidlet ble fordampet, og det urene produkt ble fylt på en åpen silikagelkolonne og eluert med kloroform/n-heksan 9:1 under dannelse av 4-isotiocyanatofenyl-2-(2-(2,6-diklorfenylamino)fenyl)acetat (**3**) (580 mg, 23% utbytte).

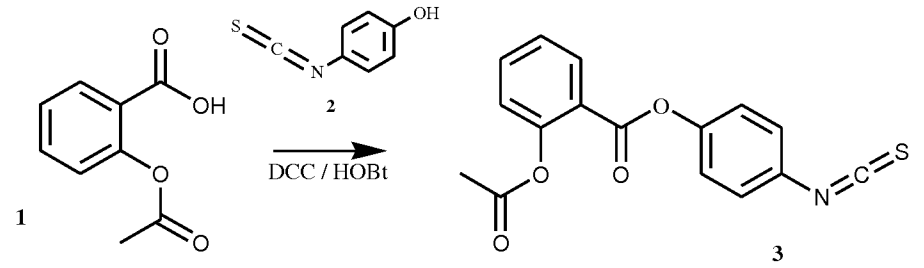
^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 4,09 (s, 2H), 6,19 (d, 1H), 6,83 (t, 1H), 7,05 (t, 1H), 7,14 (bs, 1H, NH), 7,21 (d, 2H), 7,25 (d, 2H), 7,47-7,54 (m, 3H);

^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ 37,4, 116,1, 121,0, 122,7, 124,0, 127,1, 127,8, 128,3, 128,7, 129,8, 132,0, 132,2, 137,7, 144,0, 150,3, 170,5, 215,1;

smp.: 132-134°C; MS (EI), m/e 430 (M^+).

Sammenligningseksempel 16

Syntese av 4-isotiocyanatofenyl-2-acetoksybenzoat (forbindelse XXI)



4-isotiocyanatofenyl-2-acetoksybenzoat (**3**)

Til en løsning av **1** (aspirin, 1 200 mg, 6,67 mmol) i 60 ml dimetylformamid ble det tilsatt hydroksybenzotriazol (992 mg, 7,34 mmol) og DCC (1 520 mg, 7,34 mmol) under omrøring ved 0 °C i 1 time. Til reaksjonsblandingen ble det tilsatt 4-hydroksyfenylisotiocyanat (**2**; 1 109 mg, 7,34 mmol), og denne ble omrørt i 1 time ved 0 °C og i 2 timer ved romtemperatur. Etter filtrering ble filtratet fordampet under redusert trykk for å fjerne løsemidlet. Det således erholdte oljeaktige residuum ble løst i etylacetat, og det

utfelte materiale ble fjernet. Løsemidlet ble fordampet, og det urene produkt ble fylt på en åpen silikagelkolonne og eluert med kloroform/n-heksan 6:4 under dannelse av 4-isotiocyanatofenyl-2-acetoksybenzoat (**3**) (150 mg, 7% utbytte).

^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ 2,31 (s, 3H), 7,17 (d, 1H), 7,19 (d, 2H), 7,29 (d, 2H), 7,38 (t, 1H), 7,66 (t, 1H, 8,20 (d, 1H);

^{13}C NMR ($CDCl_3$): δ 21,3, 122,2, 123,3, 124,4, 126,6, 127,2, 129,4, 132,4, 135,2, 149,3, 151,5, 163,0, 170,0, 215,1;

smp.: 84-86°C; MS (EI), m/e 272 (M^+).

Eksempel 17

Gastrointestinal sikkerhet av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse

To diclofenacderivater, forbindelse **II** (sammenligning) og forbindelse **XVII** (ifølge foreliggende oppfinnelse), ble evaluert for deres gastrointestinale sikkerhet i rotter. I særdeleshet ble gastrisk skade, gastrisk PGE_2-syntese, tynntarmssårdannelse og hematokrit målt.

Wistar hannrotter som veide 175-200 g, ble fastet i 18 timer før oral administrering av 1% karboksymetylcellulose (bærer; 0,2 ml) alene, eller én av følgende oppløst i denne bærer: diclofenac (20 mg/kg), forbindelse **II** (32 mg/kg), ADT-OH (12 mg/kg), diclofenac pluss ADT-OH, forbindelse **XVII** (27,3 mg/kg), 4-hydroksytiobenzamid (TBZ) (7,3 mg/kg), den hydrogensulfid-frigivende gruppe på forbindelse **XVII**, eller diclofenac pluss TBZ. Dosene av forbindelse **II** og forbindelse **XVII** var ekvimolare med en 20 mg/kg dose diclofenac. På lignende måte var dosene av ADT-OH og TBZ ekvimolare med dosene av forbindelse **II** og forbindelse **XVII**.

Det ble anvendt 5 rotter i hver gruppe. Tre timer etter administrering av testforbindelsene ble rottene avlivet, og graden av gastrisk blødningsskade ble målt blindt (i mm). En "gastrisk skadebedømmelse" ble dannet ved oppsummering av lengdene av alle lesjoner i en mage. Med referanse først til figur 1 ble ingen gastrisk skade sett i "bæreren", "forbindelse **II**"- eller "forbindelse **XVII**"-gruppene. Forbindelse **II** og forbindelse **XVII** fremkalte signifikant mindre gastrisk skade enn diclofenac. Enn videre ble en gastrisk skånende effekt ikke observert hvis NSAID-delen (diclofenac) og den H_2S-frigivende gruppe av forbindelse **II** og forbindelse **XVII** (hhv. ADT-OH og TBZ) ble administrert separat, men til samme tid.

Disse observasjonene ble bekreftet ved etterfølgende, histologisk blindvurdering. Prøver (100-200) av magevev ble skåret ut for måling av prostaglandin E_2 (PGE_2) - syntese, som beskrevet i detalj tidligere (Wallace et al., Cyclooxygenase 1 contributes to inflammatory responses in rats and mice: implications for gastrointestinal toxicity. *Gastroenterology* 1998; **115**: 101-109). Kort angitt, ble prøvene finhakket med saks i 30 minutter, deretter anbrakt i 1 ml natriumfosfatbuffer (pH 7,4) og anbrakt i et vannristebad (37 °C) i 20 minutter. Umiddelbart deretter ble prøvene sentrifugert i 1

minutt ved 9000 *g*, og supernatanten ble umiddelbart fryst ved -80 °C for etterfølgende måling av PGE_2-konsentrasjonen under anvendelse av en spesifikk ELISA (Wallace et al., 1998).

Med henvisning til figur 2 kan det ses at diclofenac (med eller uten ledsagende administrering av ADT-OH eller TBZ), forbindelse **II** og forbindelse **XVII** alle reduserte signifikant mengden av gastrisk PGE_2-syntese, hvilket indikerte inhibering av COX-1 og/eller COX-2. ADT-OH og TBZ alene reduserte ikke gastrisk PGE_2-syntese sammenlignet med bærer. Mangel på gastrisk skade hos rotter behandlet med forbindelse **II** eller forbindelse **XVII** som vist i figur 1, var således ikke bidragsgivende for en forandring av disse legemidlers evne til å undertrykke gastrisk prostaglandin-syntese. Undertrykkelse av gastrisk PGE_2-syntese var nesten fullstendig med disse legemidlene og med en ekvimolar dose av diclofenac.

Figur 3 viser at to naproxenderivater (forbindelsene **V** og **XX**) fremkalte signifikant mindre skade enn naproxen i seg selv. Disse forsøk ble utført på nøyaktig samme måte som de som er vist i figur 1. Naproxen, forbindelse **V** og forbindelse **XX** ble hver administrert oralt til en dose på 60 µmol/kg, og gastrisk skade ble blindt evaluert 3 timer senere. Gastrisk skade var ikke påvisbar i noen av rottene behandlet med forbindelse **V** eller forbindelse **XX**. Hver gruppe besto av 5 rotter. Disse observasjoner ble bekreftet ved etterfølgende histologisk blind-vurdering.

Inhibering av COX-1 ble også målt under anvendelse av de samme rottene. Umiddelbart etter oppsamling av eksudater fra pungen ble 1 ml blod trukket ut fra den nedre vena cava hos hver rotte og ble anbrakt i et glassrør og fikk levres i 45 minutter som beskrevet tidligere (Wallace et al., *Gastroenterology* 1998). Prøvene ble deretter sentrifugert i 3 minutter ved 9000 *g*, og supernatanten ble fryst ved -80 °C for etterfølgende måling av tromboksan B_2-konsentrasjoner under anvendelse av en spesifikk ELISA. Som vist i figur 4, inhiberte alle naproxen, forbindelse **V** og forbindelse **XX** signifikant (*$p<0,05$) COX-1-aktivitet sammenlignet med den bærerbehandlede gruppe. Graden av inhibering av COX-1 var noe mindre med forbindelse **V** enn med naproxen eller forbindelse **XX**.

NSAIDer kan også forårsake signifikant tynntarmsskade, og effektene av diclofenac på fremkalling av tynntarmsskade etter gjentatt administrering ble sammenlignet med forbindelse **II**. Grupper på 5 Wistar hannrotter ble gitt diclofenac eller forbindelse **II** i en dose på 50 µmol/kg ved tid 0 og igjen 12 og 24 timer senere. En annen gruppe rotter mottok bærer (1% karboksymetylcellulose).

Hematokrit, den delen av blod som består av pakkede røde blodceller som er uttrykt som en prosent på volumbasis, ble målt i en blodprøve tatt fra halevenen ved starten av forsøket, og 24 timer etter den siste dosen av legemidlene. Rottene ble avlivet 24 timer etter den siste dosen av legemidlene, og abdomen ble åpnet. En gransker som var ukjent med de behandlinger rottene hadde mottatt, målte lengdene av alle hemoragiske erosjoner/sår i

tynntarmen. En tynntarmsskadebedømmelse ble beregnet ved oppsummering av lengdene av alle lesjoner i hver rotte.

Som vist i figur 5, resulterte administrering av diclofenac tre ganger over en 24-timers periode i utvikling av kraftige erosjoner og sår i tynntarmen. På den annen side var graden av skade observert i rotter behandlet med forbindelse **II,** >90% mindre enn den i rottene behandlet med diclofenac. Som vist i figur 6, resulterte enn videre diclofenacbehandling i en uttalt reduksjon av hematokrit (*p<0,05), sannsynligvis et resultat av tynntarmsblødning, mens behandling med forbindelse **II** hadde ingen signifikant effekt på hematokrit.

Eksempel 18

Inhibering av syklooksygenase-2 (COX-2) og syklooksygenase-1 (COX-1)

Inhibering av COX-2 *in vivo* ble bestemt under anvendelse av en modifisert versjon av en tidligere beskrevet modell (Wallace et al., Limited anti-inflammatory efficacy of cyclo-oxygenase-2 inhibition in carrageenan-airpouch inflammation. *Br J Pharmacol* 1999; **126**:1200-1204). Kort angitt, ble en subkutan "pung" skapt ved gjentatte injeksjoner av luft over flere dager. Så snart den var etablert, kunne inflammasjon i pungen fremkalles ved injeksjon av 1 ml 1% zymosan. Dette fremkaller en stor økning i prostaglandin E_2 (PGE_2) i pungen som er blitt vist å være avledet praktisk talt utelukkende fra COX-2. Grupper på 5 rotter hver ble oralt behandlet, 30 minutter før karrageenan-injeksjonen, med bærer (1% karboksymetylcellulose), diclofenac (3 mg/kg), forbindelse **II** (4,8 mg/kg) eller forbindelse **XVII** (4,1 mg/kg). En annen gruppe på 5 rotter ble behandlet med bærer, men mottok en injeksjon på 0,9% sterilt saltvann i pungen snarere enn zymosan.

Som det kan ses fra figur 7, reduserte forbehandling med diclofenac, forbindelse **II** eller forbindelse **XVII** markert konsentrasjonene av PGE_2 i pungen som ble dannet som respons på injeksjon av zymosan. *p<0,05 versus gruppen behandlet med bærer + zymosan. Disse resultater indikerer at alle tre forbindelser inhiberte COX-2 signifikant. Derimot påvirket ingen av de hydrogensulfid-frigivende grupper (ADT-OH og TBZ) COX-2-aktiviteten signifikant.

Inhibering av COX-1 ble også målt under anvendelse av de samme rotter under anvendelse av den samme metode som beskrevet for figur 4. Som vist i figur 8, inhiberte hver av diclofenac, forbindelse **II** og forbindelse **XVII** helblod-tromboksan-syntesen, hvilken oppstår via COX-1 ved mer enn 80%. Derimot påvirket ingen av de hydrogensulfid-frigivende grupper (ADT-OH og TBZ) COX-1-aktiviteten signifikant.

Eksempel 19

Effekt av NSAID-derivater på gastrisk skade, COX-1- og COX-2-aktivitet *in vivo*

De antiinflammatoriske effekter (COX-2- og COX-1-inhibering) og gastrisk sikkerhet av en rekke forbindelser ble sammenlignet under anvendelse av utprøvningene beskrevet ovenfor. Resultatene er sammenfattet i tabell 1. Alle moder-NSAID-legemidlene forårsaket signifikant gastrisk skade. De H_2S-frigivende derivater ifølge oppfinnelsen viste imidlertid forbedret

gastrisk sikkerhet sammenlignet med moderlegemidlene. Det kan også ses fra tabell 1 at TBZ-derivatene enten opprettholdt eller faktisk økte deres aktivitet til å inhibere COX-1 og/eller COX-2 sammenlignet med moderlegemidlet.

Tabell 1

Effekter av NSAID-derivater på gastrisk skade, COX-1- og COX-2-aktivitet *in vivo*

Forbindelse	NSAID-gruppe	H_2S-gruppe	Dose (μmol/kg)	Gastrisk skade	Inhibering av COX-1	Inhibering av COX-2
II	Diclofenac	ADT-OH	30	↓	↓	↔
XVII	Diclofenac	TBZ	30	↓	↔	↔
V	Naproxen	ADT-OH	60	↓	↓	↔
XX	Naproxen	TBZ	60	↓	↔	↑
IV	Indomethacin	ADT-OH	30	↓	↔	↔
XIX	Indomethacin	TBZ	30	↓	↑	↔

Definisjoner
↑: statistisk signifikant økning versus moderlegemidlet ($p<0.05$)
↓: statistisk signifikant reduksjon versus moderlegemidlet ($p<0.05$)
↔: ingen signifikant forandring versus moderlegemidlet

ADT-OH: 5-*p*-hydroksyfenyl-1,2-ditiol-3-tion
TBZ: 4-hydroksytiobenzamid

Eksempel 20

Effekt av forbindelsene ifølge oppfinnelsen på inflammasjon

De antiinflammatoriske effekter av forbindelse II og forbindelse **XVII** med de av diclofenac ble evaluert under anvendelse av karrageenan-bakpoteødemmodellen som tidligere beskrevet i Wallace et al., *Gastroenterology* 1998. Wistar hannrotter som veide 175-200 g, ble gitt testforbindelsene oralt 30 minutter før subplantar injeksjon av 100 μl 1% lambda karrageenan. Potevolum ble målt under anvendelse av et Ugo Basile hydropletysmometer før karrageenaninjeksjon og ved 1 times intervaller deretter i 5 timer. Hver gruppe som besto av 5 rotter, ble behandlet med diclofenac i doser på 1, 3 eller 10 mg/kg, eller med forbindelse **II** eller forbindelse **XVII** i doser ekvivomolare med diclofenac på 3 mg/kg.

Som vist i figur 9, reduserte diclofenac doseavhengig poteødem fremkalt ved subplantar injeksjon av karrageenan. Forbindelse **II**, gitt i en dose ekvimolar med diclofenac på 3 mg/kg, reduserte poteødem i større grad. Effekten av forbindelse **II** på poteødem var i realiteten sammenlignbar med effekten av diclofenac ved en dose på 10 mg/kg. Som vist i figur 10, reduserte på lignende måte forbindelse **XVII**, som også ble gitt i en dose ekvimolar med diclofenac på 3 mg/kg, poteødem i større grad, i realiteten sammenlignbar med effekten av diclofenac i en dose på 10 mg/kg.

Fordi både forbindelse **II** og forbindelse **XVII** undertrykker prostaglandinsyntese i samme grad som diclofenac, er den forøkte aktivitet av de nye forbindelser ifølge oppfinnelsen i poteødemmodellen mest sannsynlig relatert til et annet bidrag fra disse forbindelser. Det er tidligere blitt vist at hydrogensulfiddonorer kan redusere karrageenan-fremkalt poteødem i rotter signifikant (Zanardo et al., Hydrogen sulphide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. *FASEB J* 2006; **20**: 2118-2120) slik at det er sannsynlig at H_2S-frigivelsen fra forbindelse **II** og forbindelse **XVII** er ansvarlig for den forøkte antiinflammatoriske effekt sammenlignet med diclofenac uten å være bundet av denne teorien.

Uten å være bundet til teori, er det også mulig at noe av den ytterligere aktiviteten av forbindelsene ifølge oppfinnelsen i modeller for inflammasjon kan tilskrives den forøkte inhibering av COX-2-aktivitet. Effektene av bærer, naproxen, forbindelse **V** og forbindelse **XX** ble sammenlignet i en rotteluftpungmodell (som beskrevet for figur 7). Hver gruppe besto av 5 rotter. Naproxen, forbindelse **V** og forbindelse **XX** ble hver administrert i en dose på 60 µmol/kg. Som vist i figur 11, undertrykte alle tre legemidler signifikant COX-2-aktivitet sammenlignet med gruppen behandlet med bærer (*$p<0,05$, **$p<0,01$). forbindelse **XX** fremkalte imidlertid en signifikant større reduksjon av COX-2-aktivitet enn hva som kunne ses med naproxen eller forbindelse **V** ($^{\Psi}p<0,05$).

Uten å være bundet til teori, er det også mulig at noe av den ytterligere aktiviteten av forbindelsene ifølge oppfinnelsen i inflammasjonsmodeller kan tilskrives den forøkte inhibering av COX-1-aktivitet. Effektene av bærer, indomethacin, og forbindelse **IV** og forbindelse **XIX**, ble sammenlignet med hensyn til deres effekt på humant helblod-tromboksan B_2-syntese *in vitro*. (0,5 ml) av blod fra friske, humane frivillige ble tilsatt til glassrør inneholdende 10 µl metanol alene, eller ett av testlegemidlene fremstilt slik at sluttkonsentrasjonen ville være 0,1, 0,3, 1 eller 3 µM. Rørene ble plassert i vannbad (37 °C) med forsiktig risting i 45 minutter, hvoretter de ble sentrifugert (1 000 x*g*) i 10 minutter. Konsentrasjonen av tromboksan B_2 i hver prøve ble deretter bestemt under anvendelse av en spesifikk ELISA som i studiene vist i figur 4. Som vist i figur 12, fremkalte alle tre legemidler en konsentrasjonsavhengig inhibering av COX-1-aktivitet sammenlignet med den bærerbehandlede gruppe. Ved konsentrasjoner på 1 og 3 µM fremkalte imidlertid forbindelse **XIX** en signifikant større (*$p<0,05$) inhibering av COX-1-aktivitet enn den som ble fremkalt med indomethacin.

Eksempel 21

Leukocyttadheranse til vaskulært endotelium av forbindelser ifølge foreliggende oppfinnelse

Leukocyttadheranse til det vaskulære endotelet er en tidlig hendelse i inflammatoriske reaksjoner og bidrar til trombedannelse. Hydrogensulfiddonorer er blitt vist å redusere leukocyttadheranse fremkalt av aspirin eller av det pro-inflammatoriske tripeptid, fMLP (Zanardo et al., *FASEB J* 2006; **20**: 2118-2120). Effektene av flere derivater av NSAID ifølge oppfinnelsen

på leukocyttadheranse ble evaluert under anvendelse av intravital mikroskopi i rotter som beskrevet i detalj av Zanardo et al. *FASEB J* 2006; **20**: 2118-2120.

Kort angitt ble post-kapillære mesenteriske venuler i bedøvede rotter undersøkt under et lysmikroskop. Etter en basal registreringsperiode på 5 minutter ble én av testforbindelsene oppført i tabell 2 nedenfor, administrert intragastrisk i en dose på 30 µmol/kg, med unntak av naproxen og naproxenderivatene (forbindelsene **V** og **XX**) som ble administrert i en dose på 60 µmol/kg. Alle testforbindelser ble fremstilt i en bærer av 1% karboksymetylcellulose. Forandringer i leukocyttadheranse innen venulen ble registrert med et videokamera tilknyttet mikroskopet, og kvantifisering av antall adherente leukocytter ble utført på en blind måte via evaluering av de videofilmede bildene. Hver gruppe besto av 5 Wistar hannrotter som veide 150-175 g. En leukocytt ble ansett som "adherent" hvis den forble stasjonær i 30 sekunder eller mer (resultater nedenfor er uttrykt som middelverdi ± SEM). Ved slutten av forsøket ble magen åpnet og undersøkt med hensyn til nærvær av gastrisk skade under et disseksjons-mikroskop.

Tabell 2

Leukocyttadheranse til det vaskulære endotelet

Testet forbindelse	**Antall adherente leukocytter (pr. 100 µm karlengde)**	**% forekomst av gastrisk skade**
Bærer (1%)	2,0 ± 0,2	0
Aspirin	7,1 ± 0,4*	80
Forbindelse **I**	2,5 ± 0,3	20
Forbindelse **XVI**	2,3 ± 0,3	0
Diclofenac	8,6 ± 0,6*	100
Forbindelse **II**	3,0 ± 0,5	0
Forbindelse **XVII**	2,8 ± 0,5	20
Lumiracoxib	9,3 ± 1,0*	0
Forbindelse **III**	1,7 ± 0,3	0
Forbindelse **XVIII**	2,3 ± 0,4	0
Indomethacin	14,4 ± 0,7*	100
Forbindelse **IV**	3,6 ± 0,7	20
Forbindelse **XIX**	3,0 ± 0,4	0
Naproxen	10,2 ± 0,4*	100
Forbindelse **V**	3,5 ± 0,7	0
Forbindelse **XX**	2,3 ± 0,5	0

*p<0,05 versus bærerbehandlet gruppe (ANOVA og Dunnett's Multiple Comparison Test).

Det kan ses av tabell 2 at derivater av aspirin, i særdeleshet forbindelse **XVI** og forbindelse **I**, begge reduserte signifikant antallet adherente leukocytter pr. 100 µm karlengde sammenlignet med aspirin alene. I tillegg reduserte både forbindelse **XVI** og forbindelse **I** den prosentvise forekomst av gastrisk skade signifikant sammenlignet med aspirin alene. På lignende måte viser tabell 2 ytterligere at derivater av diclofenac, i særdeleshet forbindelse **II** og forbindelse **XVII** reduserte signifikant antallet adherente leukocytter pr. 100 µm karlengde og reduserte signifikant den prosentvise forekomst av gastrisk skade sammenlignet med

diclofenac alene. Likeledes viser tabell 2 enn videre at derivater av naproxen, i særdeleshet forbindelse **V** og forbindelse **XX**, reduserte signifikant antallet adherente leukocytter pr. 100 µm karlengde og reduserte signifikant den prosentvise forekomst av gastrisk skade sammenlignet med naproxen alene.

Interessant nok viste derivater av lumiracoxib, en COX-2-selektiv inhibitor som har en redusert gastrisk bivirkning, i særdeleshet forbindelse **III** og forbindelse **XVIII**, fremdeles ingen forekomst av gastrisk skade, men begge derivater reduserte signifikant antallet adherente leukocytter pr. 100 µm karlengde sammenlignet med lumiracoxib alene. Kovalent binding av en hydrogensulfid-frigivende gruppe til COX-2-selektive NSAID kan således også redusere de kardiovaskulære bivirkninger av disse COX-2-inhibitorer.

NSAID-derivatene ifølge oppfinnelsen kan således resultere i reduserte kardiovaskulære bivirkninger av NSAIDet ved redusering av leukocyttadheranse.

Eksempel 22

Effekter av forbindelser ifølge oppfinnelsen på gastrisk sårheling

NSAIDer, innbefattende de som er selektive for COX-2, inhiberer ofte heling av preeksisterende, gastriske sår (Stadler et al., *Diclofenac delays healing of gastroduodenal mucosal lesions. Double-blind, placebo-controlled endoscopic study in healthy volunteers.* Digestive Diseases and Sciences 1991; **36**: 594-600). For å bestemme effekten av to forbindelser ifølge foreliggende oppfinnelse (forbindelse **XVII** og forbindelse **XX**) sammenlignet med diclofenac og naproxen vedrørende sårheling, ble rotter behandlet med disse legemidler etter at sår var blitt fremkalt i deres mager. Gastriske sår ble fremkalt via serosal påføring av eddiksyre som beskrevet av Elliott et al., *A nitric oxide-releasing nonsteroidal anti-inflammatory drug accelerates gastric ulcer healing in rats.* Gastroenterology 1995; **109**: 524-530. Ved å starte tre dager senere ble grupper på 5 rotter hver behandlet to ganger daglig oralt med bærer, diclofenac (30 µmol/kg), forbindelse **XVII** (30 µmol/kg), naproxen (60 µmol/kg) eller forbindelse **XX** (60 µmol/kg). Etter 4 dager med slik behandling ble rottene avlivet og magen ble skåret ut og fotografert. Arealet (i mm^2) av såret ble bestemt planimetrisk av en person som ikke var kjent med behandlingene gitt rottene. I en undergruppe på 5 rotter avlivet 3 dager etter fremkallelse av gastriske sår (dvs. før starten av legemiddelbehandling) var det midlere overflateareal av sårene 24 $\pm$ 2 mm^2. Som illustrert i figur 13, utviste rotter behandlet med bærer, diclofenac eller naproxen lignende grader av heling. Rotter behandlet med forbindelse **XVII** eller forbindelse **XX,** utviste imidlertid signifikant større heling (*$p<0,05$ sammenlignet med diclofenac og naproxen). Behandling med den hydrogensulfid-frigivende gruppe av disse to forbindelser (TBZ) påvirket ikke helingen av gastriske sår signifikant sammenlignet med den bærerbehandlede gruppe.

Eksempel 23

Effekter av forbindelser ifølge oppfinnelsen på blodtrykk

NSAIDer, innbefattende de som viser selektivitet for COX-2, kan forverre pre-eksisterende hypertensjon og interferere med effektiviteten av enkelte antihypertensive medikamenter (Whelton, A., *Nephrotoxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: physiologic foundations and clinical implications.* Am. J. Med. 1999; **106 (5B)**: 13S-24S). For å bestemme effekten av to forbindelser (forbindelse **II** og forbindelse **XX**) sammenlignet med diclofenac og naproxen med hensyn til blodtrykk, ble rotter gitt disse legemidlene intraperitonealt etter først å fremkalle hypertensjon. Rottene ble gitt drikkevann supplert med Nω-nitro-L-arginin-metylester (400 mg/l) i 7 dager før forsøket som beskrevet tidligere av Ribeiro et al. (*Chronic inhibition of nitric oxide synthesis: A new model or arterial hypertension.* Hypertension 1992; **20**: 298-303). Rottene (5 til 8 pr. gruppe) ble bedøvet med halotan og en halsarterie ble kanylert for måling av blodtrykk som ble registrert kontinuerlig på en skriver. Etter måling av et stabilt blodtrykk i minst 15 minutter ble ett av legemidlene (naproxen, diclofenac, forbindelse **II** eller forbindelse **XX**) injisert intraperitonealt som en bolus (diclofenac og forbindelse **II** ble administrert til 30 µmol/kg mens naproxen og forbindelse **XX** ble administrert til 60 µmol/kg). Forandringer i blodtrykk ble nedtegnet i 60 minutter etter injeksjon. Det midlere basale blodtrykk var 150 ± 6 mm Hg. Figur 14 viser at diclofenac og naproxen forårsaket en vesentlig økning i systolisk blodtrykk. Forbindelse **II** og forbindelse **XX** fremkalte derimot ikke en økning i systolisk blodtrykk sammenlignet med den bærer-behandlede gruppe, og forandringen i blodtrykk var signifikant lavere enn den som ble fremkalt med hhv. diclofenac og naproxen.

Eksempel 24

Måling av plasma-H_2S-konsentrasjoner

For å bestemme kinetikken av H_2S frigitt fra forbindelse **II**, ble grupper på 5 rotter behandlet med forbindelse **II** til en dose på 50 µmol/kg p.o. og avlivet etter 10, 30, 60 og 180 minutter. En tid-forløpskurve av plasma-H_2S-konsentrasjoner ble deretter konstruert. Plasma-H_2S-konsentrasjoner ble målt som beskrevet tidligere (Ubuka, T. Assay methods and biological roles of labile sulfur in animal tissues. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2002; **781**: 227-249 og Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R. The vasorelaxant effect of H_2S as a novel endogenous gaseous K(ATP) channel opener. *EMBO J.* 2001; **20**: 6008-6016) med enkelte modifikasjoner. Kort angitt, ble 250 µl plasma tilsatt til iskald 250 µl NaOH 0,1 N i en forseglet 3-halset reaktor. En konstant nitrogenstrøm ble ført gjennom blandingen via et gassinnløps-kapillar. Reaktoren ble opprettholdt ved 37 °C, og H_2S-ekstraksjon ble startet ved innføring av 1 ml 10% trikloreddiksyreløsning. Nitrogenstrømmen førte sulfidsyren til en annen reaktor med avkjølt kobling og bobling i 2 ml sulfid-antioksidantbuffer (SAOB) -løsning, bestående av 2 M KOH, 1 M salisylsyre og 0,22 M askorbinsyre ved pH 12,8. Etter 30 minutter ble SAOB-løsningen fjernet, og sulfidkonsentrasjonen ble målt med en sulfidsensitiv elektrode (modell 9616 S^{2-}/Ag^{+} elektrode, Orion Research, Beverly, MA, USA) og uttrykt som H_2S (Ubuka, 2002; Khan et al., 1980).

For å sammenligne *in vitro*-H_2S-frigivelsen fremkalt av forbindelse **XVII** og forbindelse **II**, og TBZ og ADT-OH, de H_2S-frigivende grupper av forbindelse **XVII** og forbindelse **II**, ble 100-150 mg isolerte levere homogenisert i 1 ml iskald T-PER-proteinekstraktor. H_2S-frigivelse ble utført på samme reaktor som plasmaanalyse. 2 ml av en prøvereaksjonsblanding ble innført i reaktoren. Blandingen inneholdt 1 mM forbindelse **II**, 1 mM forbindelse **XVII**, 1 mM TBZ eller 1 mM ADT-OH oppløst i PEG og 100 mM kaliumfosfatbuffer (pH = 7,4). Inkubasjoner ble utført med eller uten nærvær av 10% (vekt/volum) leverhomogenat og 2 mM pyridoksal-5'-fosfat. En konstant nitrogenstrøm ble ført gjennom blandingen via gassinnløpskapillar. Reaksjonene ble startet ved overføring av røret fra isbadet til et 37 °C vannbad. Nitrogenstrømmen fraktet sulfidsyren inn i den andre reaktor inneholdende 2 ml SAOB som beskrevet tidligere. Etter inkubering ved 37 °C i 90 minutter ble 1 ml 50% trikloreddiksyreløsning tilsatt til blandingen for å stoppe reaksjonen. Det gjenværende H_2S i blandingen ble ført ut via nitrogenstrømmen ved ytterligere 30 minutters inkubering ved 37 °C. Konsentrasjonen av sulfid i SAOB-løsningen ble målt med en sulfidsensitiv elektrode som beskrevet tidligere (Ubuka, 2002; Khan et al., 1980).

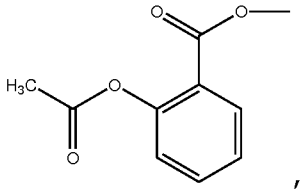
Som vist i figur 15, resulterte oral administrering av forbindelse **II** i en signifikant ($p<0,05$) økning i plasmanivåer av H_2S. En liten, men gjennomført økning i plasma-H_2S ble observert i 180 minutter etter den enkelte administrering av forbindelse **II**. Figur 16 viser at inkubering av forbindelse **II** eller forbindelse **XVII** i buffer resulterte i signifikant mer frigivelse av H_2S enn en ekvivalent mengde av ADT-OH eller TBZ. På lignende måte var det en større frigivelse av H_2S fra forbindelse **II** og forbindelse **XVII** enn fra ADT-OH eller TBZ når de ble inkubert med leverhomogenat.

Patentkrav

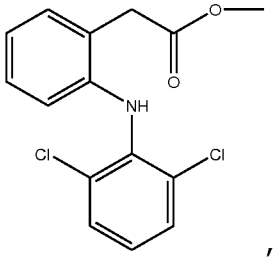
2. Forbindelse,
karakterisert ved generell formel:

B-C(O)O-X (formel II)

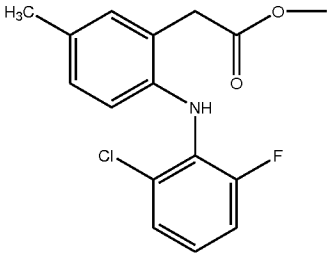
hvori B-C(O)O- er et NSAID som har en fri karboksylgruppe valgt fra gruppen bestående av



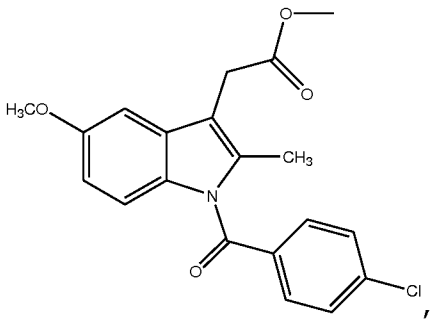
,



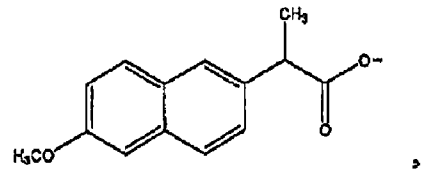
,

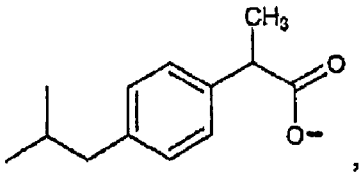


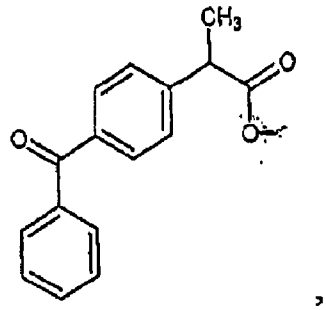
,



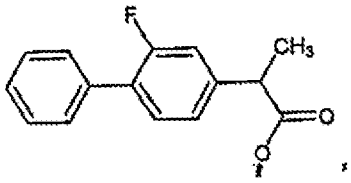
,



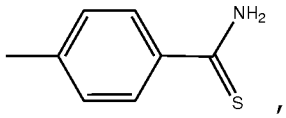




og

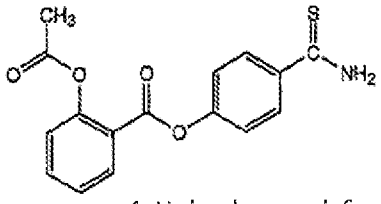


og X er



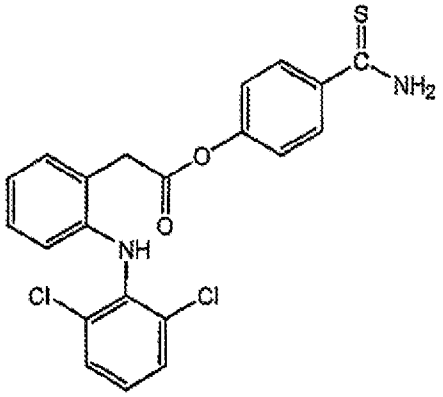
Eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

2. Forbindelse ifølge krav 1, hvor forbindelsen er



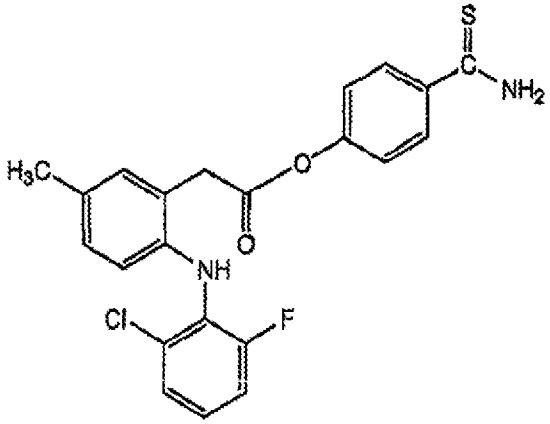
2-acetoksy-benzosyre-4-tiokarbamoyl-fenylester (XVI).

3. Forbindelse ifølge krav 1, hvor forbindelsen er



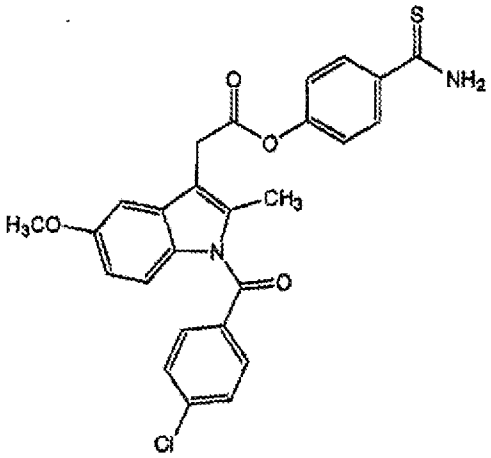
[2- (2,6-diklor-fenylamino) -fenyl] eddiksyre-4-tiokarbamoyl-fenylester (XVII).

4. Forbindelse ifølge krav 1, hvor forbindelsen er



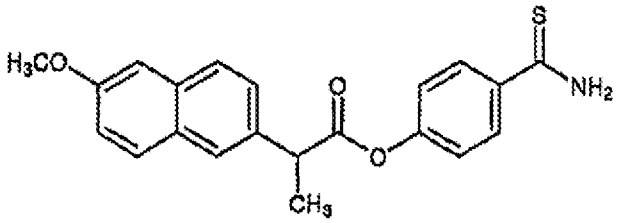
[2-(2-klor-6-fluor-fenylamino)-5-metyl-fenyl]-acetylsyre-4-tiokarbamoyl-fenylester (XVIII).

5. Forbindelse ifølge krav 1, hvor forbindelsen er



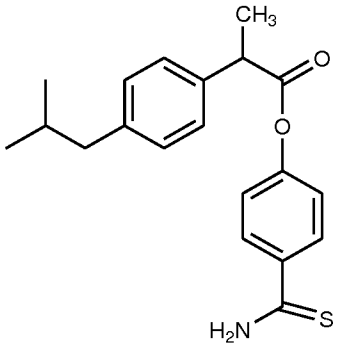
[1-(4-klorbenzoyl)-5-metoksy-2-metyl-lH-indol-3-yl]-acetylsyre-4-tiokarbamoyl-fenylester (XIX)

6. Forbindelse ifølge krav 1, hvor forbindelsen er



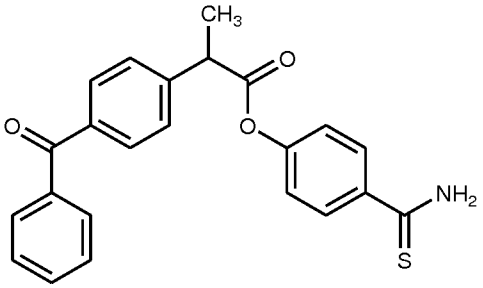
2-(6-metoksy-naftalen-2-yl)-propionsyre-4-tiokarbamoyl-fenylester (XX).

7. Forbindelse ifølge krav 1, hvor forbindelsen er



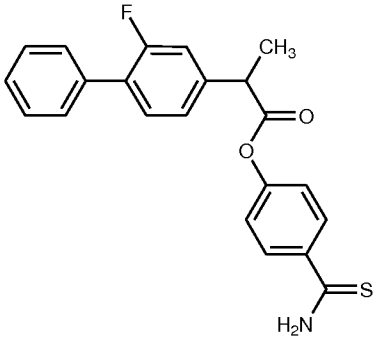
4-tiokarbamoylfenyl-2-(4-isobutylfenyl)propanoat (**XXIX**).

8. Forbindelse ifølge krav 1, hvor forbindelsen er



4-tiokarbamoylfenyl-2-(4-oksofenyl)-fenylpropanoat (**XXX**).

9. Forbindelse ifølge krav 1, hvor forbindelsen er



4-tiokarbamoylfenyl-2-(2-fluor-4-bifenylyl)propanoat (**XXXI**).

10. Farmasøytisk sammensetning,
k a r a k t e r i s e r t v e d at det omfatter en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 9 og en farmasøytisk akseptabel eksipiens eller bærer.

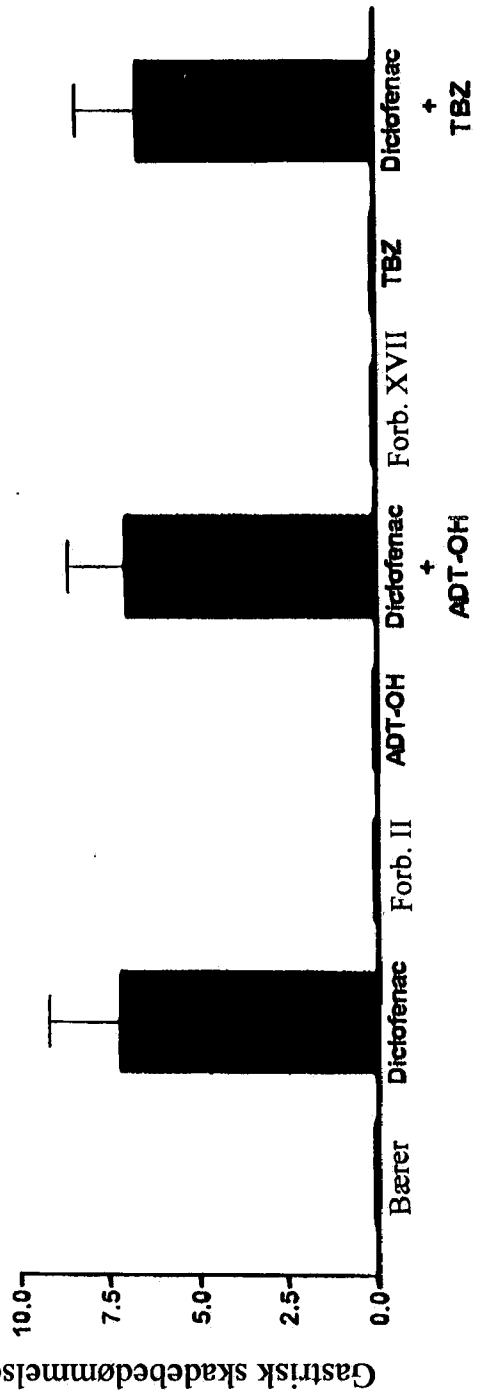
11. Anvendelse av en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 9 for fremstilling av et medikament for behandling av en inflammasjon hos en pasient med behov for slik behandling.

12. Anvendelse av en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 9 for fremstilling av et medikament for behandling av smerte hos en pasient med behov for slik behandling.

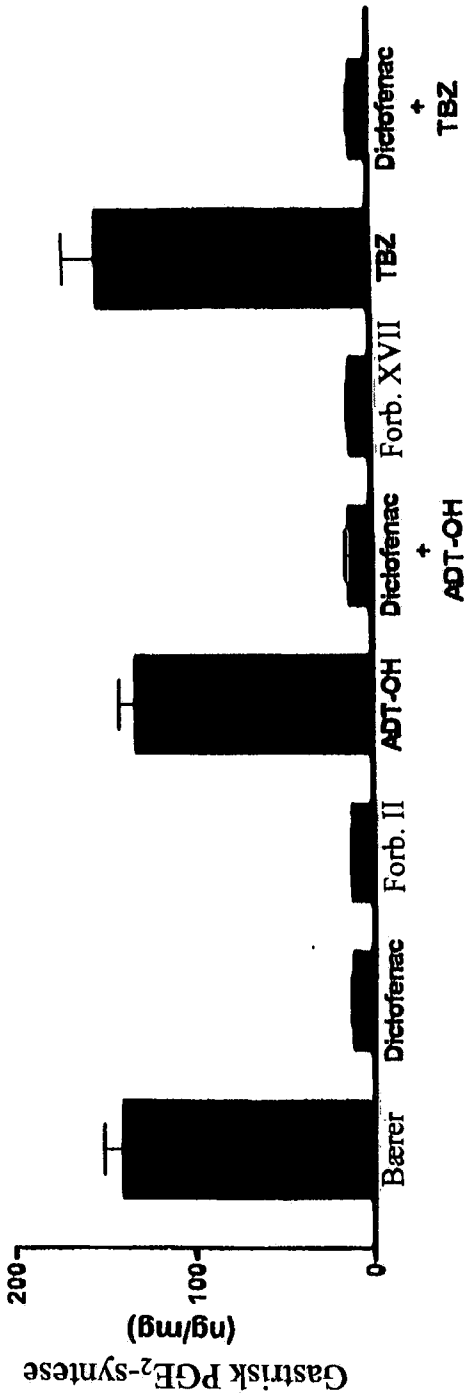
13. Anvendelse av en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 9 for fremstilling av et medikament for behandling av feber hos en pasient med behov for slik behandling.

14. En forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 9, for anvendelse ved behandling av inflammasjon, smerte, og/eller en feber.

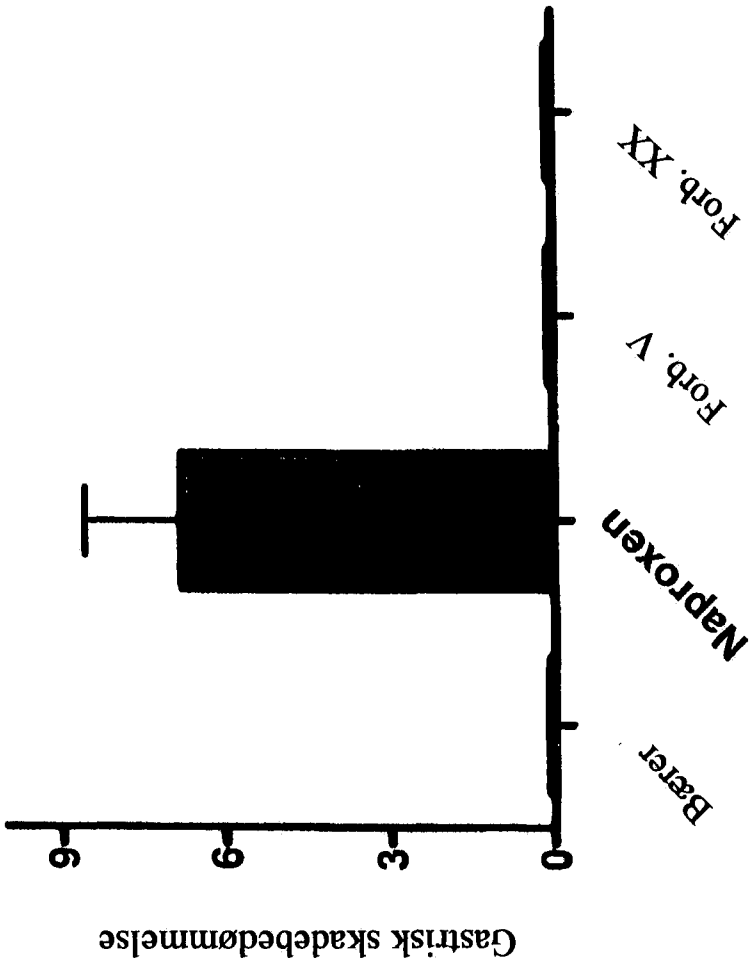
Figur 1

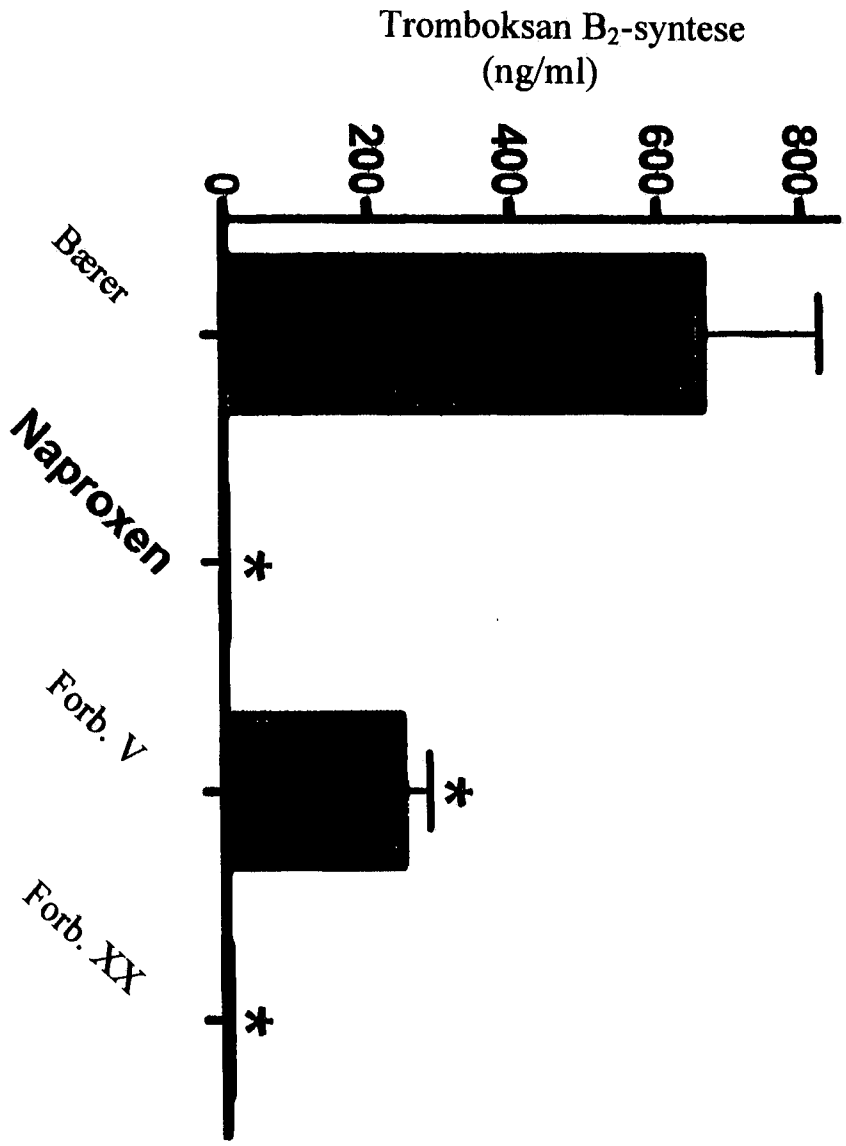

Gastrisk skadebedømmelse
10.0
7.5
5.0
2.5
0.0
Bærer
Diclofenac
Forb. II
ADT-OH
Diclofenac + ADT-OH
Forb. XVII
TBZ
Diclofenac + TBZ

Figur 2


Gastrisk PGE_2-syntese
(ng/mg)
200
100
0
Bærer
Diclofenac
Forb. II
ADT-OH
Diclofenac + ADT-OH
Forb. XVII
TBZ
Diclofenac + TBZ

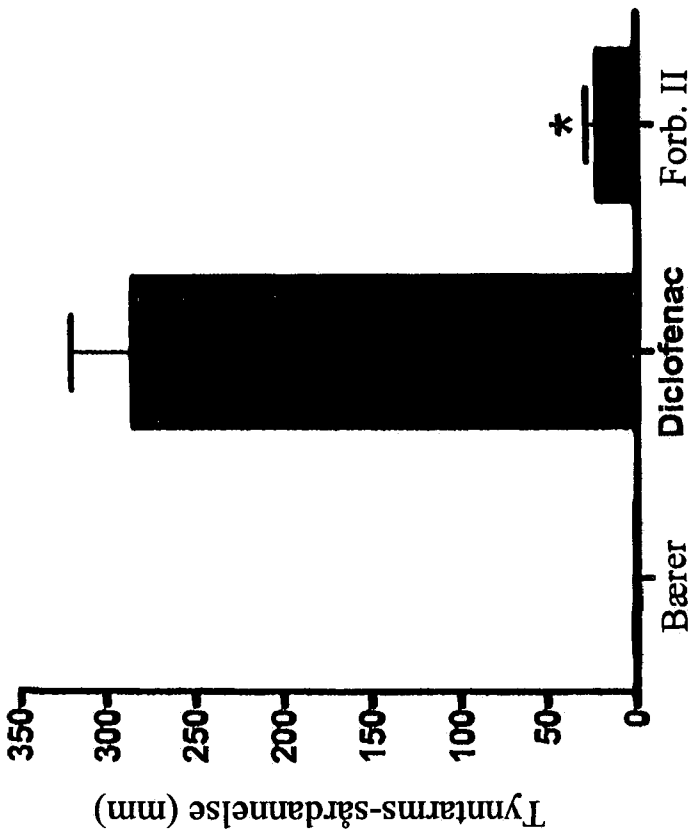
Figur 3


Gastrisk skadebedømmelse
9
6
3
0
Beter
Naproxen
Forb. V
Forb. XX

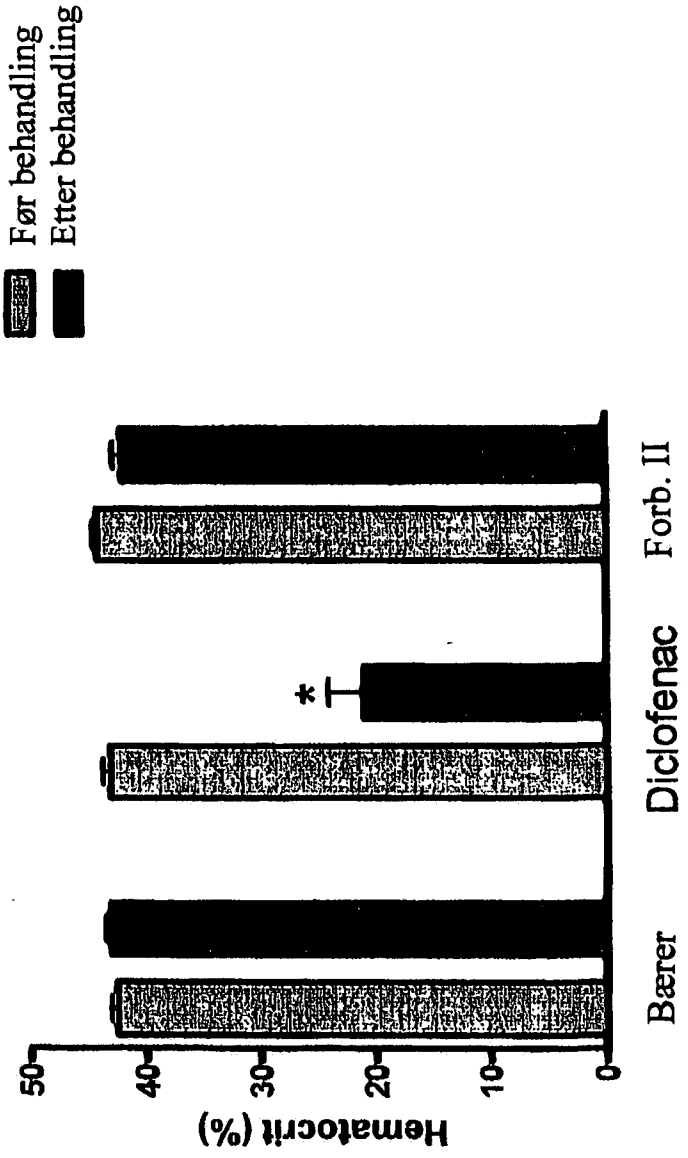

Tromboksan B_2-syntese
(ng/ml)
0
200
400
600
800
Bærer
Naproxen
Forb. V
Forb. XX
*
*
*

Figur 4

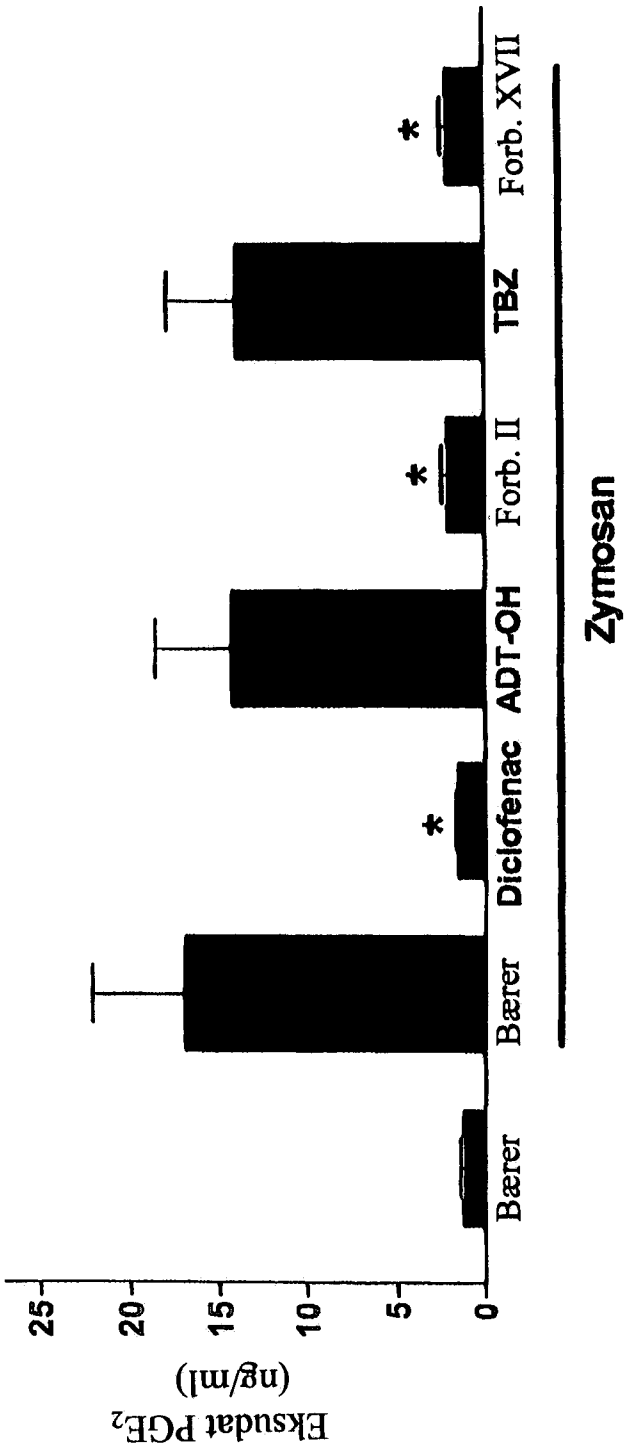
Figur 5


Tyntarms-sårdannelse (mm)
350
300
250
200
150
100
50
0
Bærer
Diclofenac
Forb. II
*

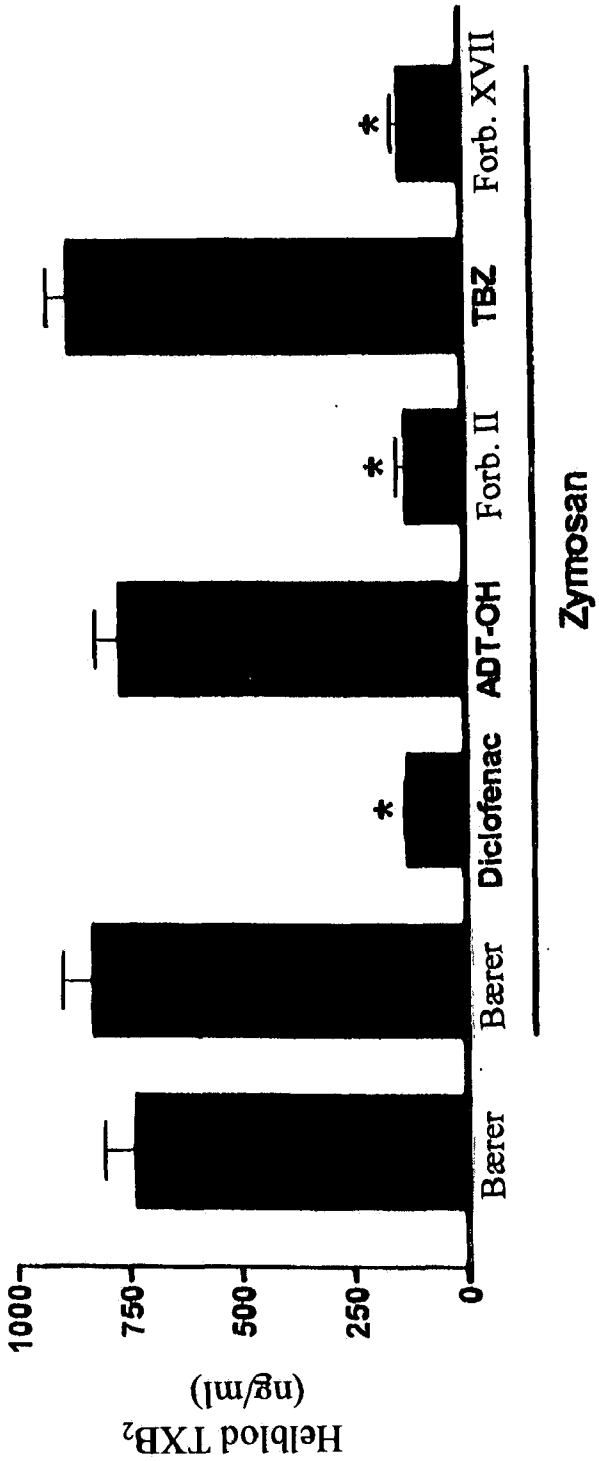
Figur 6


Før behandling
Etter behandling
Hematocrit (%)
50
40
30
20
10
0
*
Bærer
Diclofenac
Forb. II

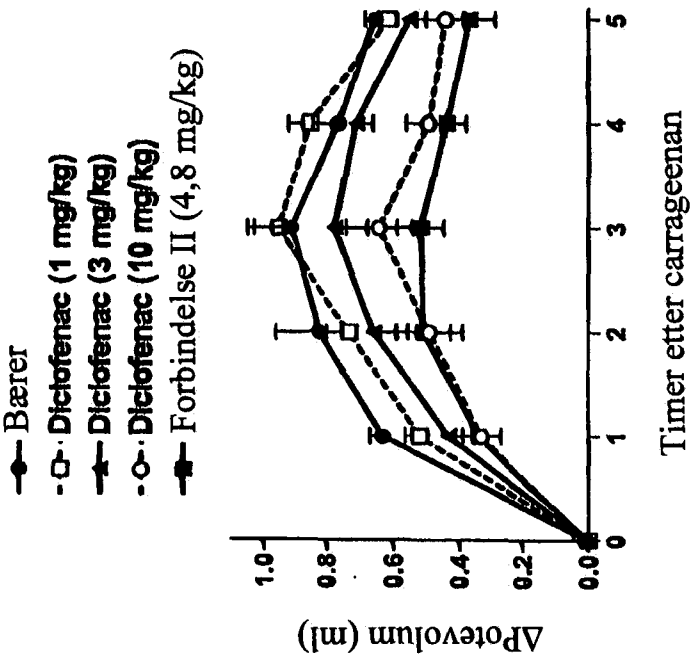
Figur 7


Eksudat PGE_2
(ng/ml)
25
20
15
10
5
0
Bærer
Bærer
Diclofenac
ADT-OH
Forb. II
TBZ
Forb. XVII
*
*
*
Zymosan

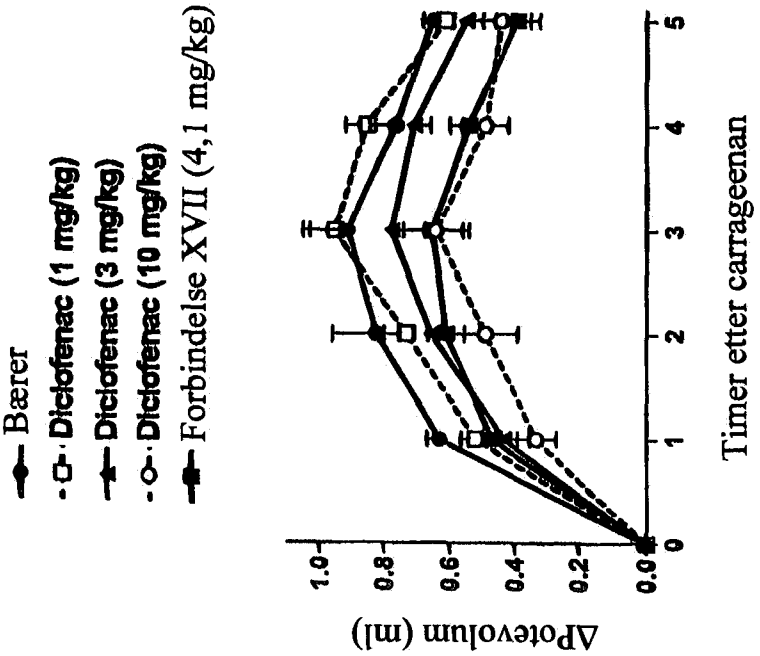
Figur 8


Helblod TXB2
(ng/ml)
1000
750
500
250
0
Bærer
Bærer
Diclofenac
ADT-OH
Forb. II
TBZ
Forb. XVII
*
*
*
Zymosan

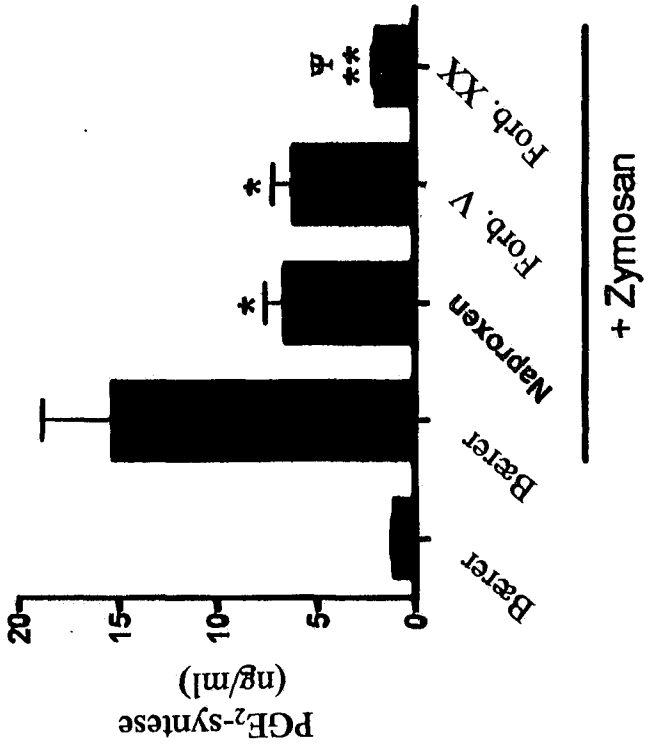
Figur 9


Bærer
Diclofenac (1 mg/kg)
Diclofenac (3 mg/kg)
Diclofenac (10 mg/kg)
Forbindelse II (4,8 mg/kg)
ΔPotevolum (ml)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0
1
2
3
4
5
Timer etter carrageenan

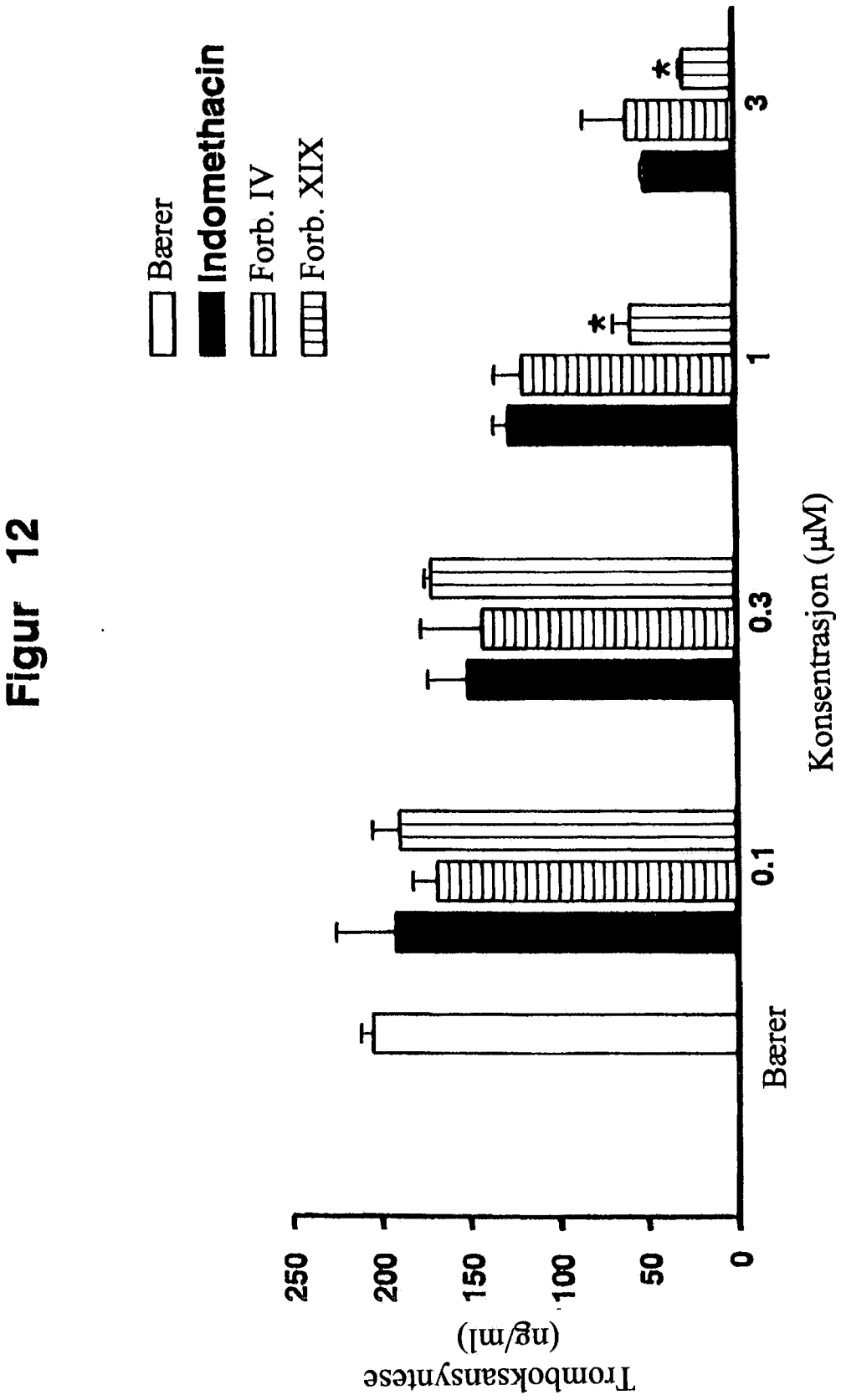
Figur 10


Bærer
Diclofenac (1 mg/kg)
Diclofenac (3 mg/kg)
Diclofenac (10 mg/kg)
Forbindelse XVII (4,1 mg/kg)
ΔPotevolum (ml)
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
0
1
2
3
4
5
Timer etter carrageenan

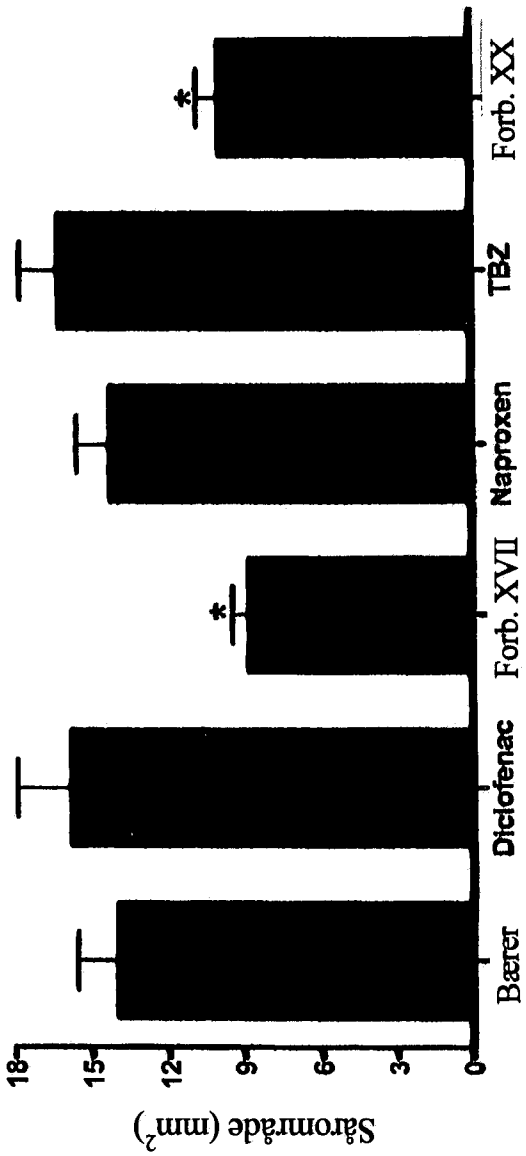
Figur 11


PGE2-syntese
(ng/ml)
20
15
10
5
0
Bæter
Bæter
Naproxen
Forb. V
Forb. XX
+ Zymosan
*
*
**

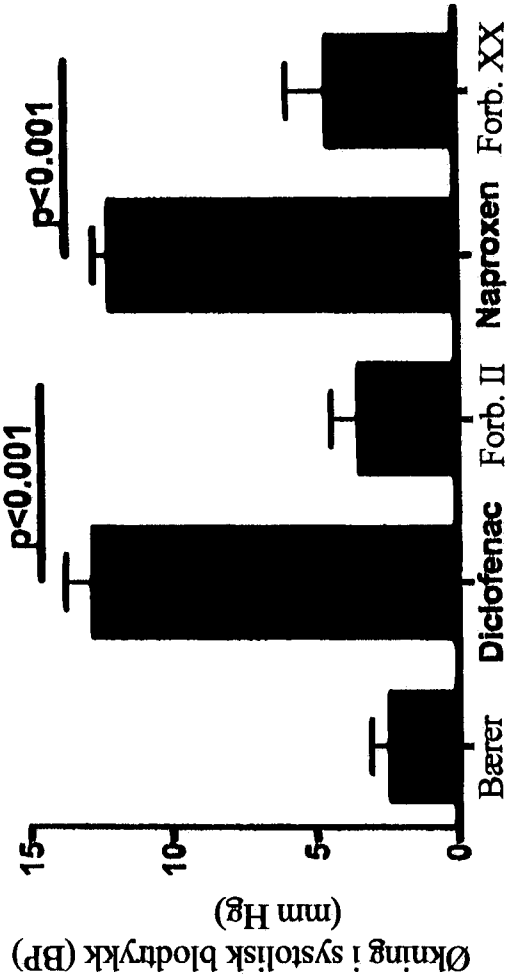
Figur 12


Bærer
Indomethacin
Forb. IV
Forb. XIX
Tromboksansyntese (ng/ml)
250
200
150
100
50
0
Bærer
0.1
0.3
1
3
Konsentrasjon (μM)
*
*

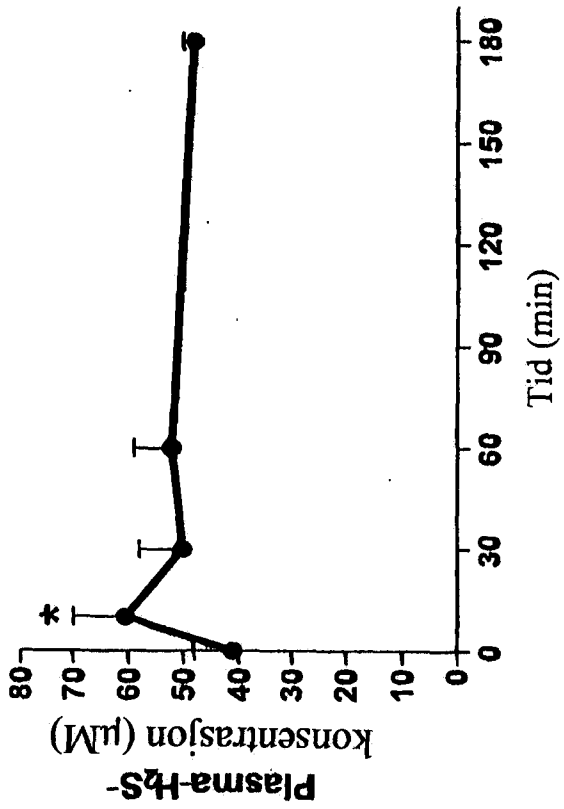
Figur 13


Sårområde (mm²)
0
3
6
9
12
15
18
Bærer
Diclofenac
Forb. XVII
Naproxen
TBZ
Forb. XX
*
*

Figur 14


Økning i systolisk blodtrykk (BP)
(mm Hg)
15
10
5
0
p<0.001
p<0.001
Bærer
Diclofenac
Forb. II
Naproxen
Forb. XX

Figur 15


Plasma-H2S-
konsentrasjon (μM)
80
70
60
50
40
30
20
10
0
*
0
30
60
90
120
150
180
Tid (min)

Figur 16

H2S-utvikling
(nmol/min)
100
75
50
25
0
ADT-OH
Forb. II
TBZ
Forb. XVII
ADT-OH
Forb. II
TBZ
Forb. XVII
Buffer
Homogenat
*
*
Ψ
Ψ