

ESCOBAR - URIBE ASOCIADOS

A B O G A D O S

Carrera 11A No. 94-76 Of. 305 - P.O. Box 9494*

Tels.: (571) 6162051 - 6162061

Fax: (571) 616

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00039578 00000001

Folios: 51

Fecha (AMD): 2000-07-25 14:08:17

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 329 COMPLEMEN

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

2343/P

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Re: Expediente No. 00039578

Solicitud de Patente en nombre de
NOVARTIS AG.

Yo, JIMENA ESCOBAR URIBE, identificada como aparece al pie de mi firma, domiciliada en Santafé de Bogotá, en la Carrera 11 A No. 94-76 Of. 305, obrando como apoderada de la sociedad NOVARTIS AG, solicitante de la patente de la referencia, anexo al presente memorial el siguiente documento:

Copia certificada de la solicitud de Patente Número 9913079.1 presentada en Gran Bretaña el día 4 de junio de 1999, con la debida traducción de lo pertinente, incluyendo el capítulo reivindicatorio.

Señor Superintendente,



JIMENA ESCOBAR URIBE

C.C.39.779.452 de usaquén

T.P. 68228

Cód. 5376



The
Patent
Office



INVESTOR IN PEOPLE

63

The Patent Office
Concept House
Cardiff Road
Newport
South Wales
NP10 8QQ

I, the undersigned, being an officer duly authorised in accordance with Section 74(1) and (4) of the Deregulation & Contracting Out Act 1994, to sign and issue certificates on behalf of the Comptroller-General, hereby certify that annexed hereto is a true copy of the documents as originally filed in connection with the patent application identified therein.

In accordance with the Patents (Companies Re-registration) Rules 1982, if a company named in this certificate and any accompanying documents has re-registered under the Companies Act 1980 with the same name as that with which it was registered immediately before re-registration save for the substitution as, or inclusion as, the last part of the name of the words "public limited company" or their equivalents in Welsh, references to the name of the company in this certificate and any accompanying documents shall be treated as references to the name with which it is so re-registered.

In accordance with the rules, the words "public limited company" may be replaced by p.l.c., plc, P.L.C. or PLC.

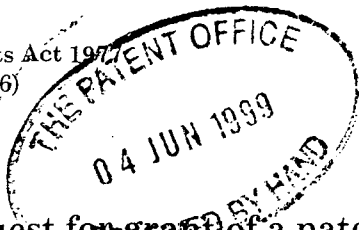
Re-registration under the Companies Act does not constitute a new legal entity but merely subjects the company to certain additional company law rules.

Signed

Andrew Henry

Dated 11 April 2000

Patents Act 1977
(Rule 16)



The
**Patent
Office**

1/77

07JUN99 E452422-1 D00524
F01/7700 0.00 - 9913079.1

Request for grant of a patent

(See the notes on the back of this form. You can also get an explanatory leaflet from the Patent Office to help you fill in this form)

The Patent Office

Cardiff Road
Newport
Gwent NP9 1RH

1. Your reference **4-30972/P1**

2. Patent application number
(The Patent Office will fill in this part)

9913079.1 04 JUN 1999

3. Full name, address and postcode of the or of each applicant
(underline all surnames)
**NOVARTIS AG
SCHWARZWALDALLEE 215
4058 BASEL
SWITZERLAND**

Patent ADP number (if you know it) **7125487002**
If the applicant is a corporate body, give the country/state of its incorporation **SWITZERLAND**

4. Title of invention **Organic compounds**

5. Name of your agent (If you have one)
"Address for service" in the United Kingdom to which all correspondence should be sent
(including the postcode)

**B.A. YORKE & CO.
CHARTERED PATENT AGENTS
COOMB HOUSE, 7 ST. JOHN'S ROAD
ISLEWORTH
MIDDLESEX TW7 6NH**

Patents ADP number (if you know it) **1800001**

6. If you are declaring priority from one or more earlier patent applications, give the country and the date of filing of the or of each of these earlier applications and (if you know it) the or each application number

Country	Priority application number (if you know it)	Date of filing (day/month/year)

7. If this application is divided or otherwise derived from an earlier UK application, give the number and the filing date of the earlier application

Number of earlier application	Date of filing (day/month/year)

8. Is a statement of inventorship and of right to grant of a patent required in support of this request? (Answer 'Yes' if:

a) any applicant named in part 3 is not an inventor, or

b) there is an inventor who is not named as an applicant, or

c) any named applicant is a corporate body.

(see note (d))

Yes

Patents Form 1/77

9. Enter the number of sheets for any of the following items you are filing with this form. Do not count copies of the same document

Continuation sheets of this form

Description	15
Claim(s)	2
Abstract	
Drawing(s)	

10. If you are also filing any of the following, state how many against each item.

Priority documents

Translations of priority documents

Statement of inventorship and right to grant of a patent (*Patents Form 7/77*)

Request for preliminary examination and search (*Patents Form 9/77*)

Request for substantive examination (*Patents Form 10/77*)

Any other documents
(please specify)

11.

I/We request the grant of a patent on the basis of this application

Signature

Date

B.A. Yorke & Co.

B.A. Yorke & Co.

04.06.99

12. Name and daytime telephone number of person to contact in the United Kingdom

Mrs. E. Cheetham
0181 560 5847

Warning

After an application for a patent has been filed, the Comptroller of the Patent Office will consider whether publication or communication of the invention should be prohibited or restricted under Section 22 of the Patents Act 1977. You will be informed if it is necessary to prohibit or restrict your invention in this way. Furthermore, if you live in the United Kingdom, Section 23 of the Patents Act 1977 stops you from applying for a patent abroad without first getting written permission from the Patent Office unless an application has been filed at least 6 weeks beforehand in the United Kingdom for a patent for the same invention and either no direction prohibiting publication or communication has been given, or any such direction has been revoked.

Notes

- If you need help to fill in this form or you have any questions, please contact the Patent Office on 0645 500505.*
- Write your answers in capital letters using black ink or you may type them.*
- If there is not enough space for all the relevant details on any part of this form, please continue on a separate sheet of paper and write "see continuation sheet" in the relevant part(s). Any continuation sheet should be attached to this form.*
- Once you have filled in the form you must remember to sign and date it.*
- For details of the fee and ways to pay please contact the Patent Office.*

4-30972/P1

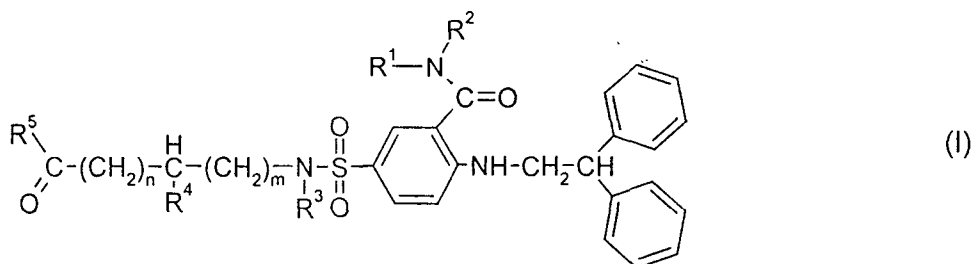
Organic Compounds

The present invention relates to novel benzoic acid amide derivatives, to processes for their production, their use as pharmaceuticals and to pharmaceutical compositions comprising them.

More particularly the present invention provides in a first aspect, a 2-(2,2-diphenylethyl-amino)-5-(4-aminocarbonyl-piperidine-1-sulfonyl)-benzoic acid amide or 5-(aminocarbonyl-C₂₋₄alkyleneaminosulfonyl)-benzoic acid amide, or salt thereof.

It will be understood that the above defined compounds may bear substituents within their structure, e.g. may bear appropriate phenyl ring or alkylene moiety substituents. The amino moiety of the defined aminocarbonyl or amide groupings can be any appropriate amino grouping, e.g. cyclic or aliphatic or may bear further substituent groupings.

Preferred compounds in accordance with the invention are those of formula I



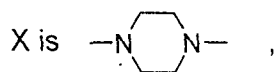
wherein

R¹ and R² independently are C₁-C₄alkyl or, together with the N-atom to which they are attached, represent a 5 to 7 membered heterocyclic ring;

(a) R³ and R⁴ together are ethylene and m is 2; or

(b) R³ is H, C₁-C₄alkyl, C₅-C₇cycloalkyl or phenyl-C₁-C₄alkyl, R⁴ is H and m is 1 or 2 or 3; n is zero or 1; and

R⁵ is -X-R⁶ or -N(R⁷)R⁸, wherein



R⁶ is C₁-C₄alkyl, C₃-C₄alkenyl, C₃-C₄alkinyl, C₁-C₄(alkoxyalkyl), C₁-C₄(carboxyalkyl), a C₅-C₇heterocyclic group or phenyl-C₁-C₄alkyl;

R^7 is amino- C_2 - C_4 alkyl or mono- or di- $(C_1$ - C_5 alkyl)amino- C_2 - C_5 alkyl, and
 R^8 is H, C_1 - C_4 alkyl or has the meanings as given for R^7 ;
and salts thereof.

Alkyl groups and moieties in the compounds of formula I may be branched or straight chain.
Alkyl groups are suitably straight chain.

Heterocyclic groups as $R^1 + R^2 + N$ may be saturated or unsaturated and may contain one or more additional heterocyclic atoms, e.g. oxygen or sulfur. Examples include piperidin-1-yl, morpholin-1-yl, 3,6-dihydro-2.H.pyridin-1-yl, thiamorpholin-1-yl and pyrrolin-1-yl.

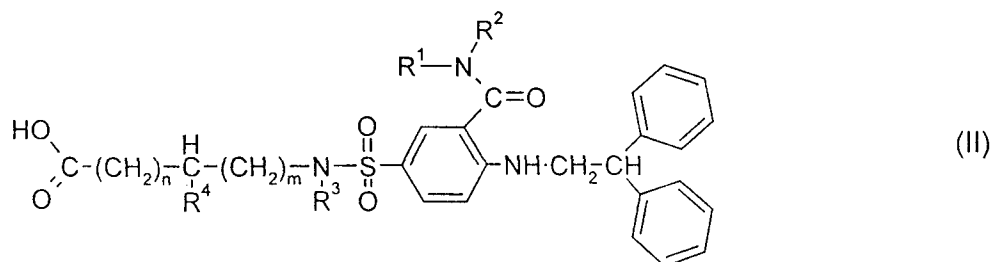
Compounds of the invention exist in free or salt, e.g. acid addition salt form. The invention is to be understood as including both the compounds of formula I in free as well as in salt form, e.g. as trifluoroacetate or hydrochloride salt. Suitable pharmaceutically acceptable acid addition salts for pharmaceutical use in accordance with the invention include in particular the hydrochloride salt.

In formula I the following significances are preferred independently, collectively or in any combination or sub-combination:

- (a¹) R^1 and R^2 are independently methyl or ethyl.
- (a²) R^1 and R^2 together with the N-atom to which they are attached are piperidin-1-yl, morpholin-1-yl, 3,6-dihydro-2.H.pyridin-1-yl, thiamorpholin-1-yl or pyrrolin-1-yl.
- (b¹) R^3 and R^4 together are ethylene and m is 2.
- (b²) R^3 is H, methyl, cyclohexyl or benzyl; R^4 is H and m is 1 or 2 or 3, especially 1.
- (c) n is zero or 1.
- (d¹) R^5 is $-X-R^6$, wherein R^6 is C_1 - C_4 alkyl (e.g. methyl, ethyl or isopropyl), 3-propenyl, methoxyethyl, carboxymethyl, 2-pyridyl, or benzyl, and X is as defined above.
- (d²) R^5 is $-N(R^7)R^8$, wherein R^7 is aminopropyl, aminobutyl, dipropylaminoethyl, dimethylaminopropyl, dimethylaminobutyl, diethylaminopropyl or dimethylaminopentyl; and R^8 is H, methyl, aminopropyl, aminobutyl, dimethylaminopropyl or dimethylaminobutyl.

In addition to the foregoing the present invention also provides a process for the production of a 2-(2,2-diphenylethylamino)- 5-(4-aminocarbonyl-piperidine-1-sulfonyl)-benzoic acid

amide or -5-(aminocarbonyl-C₂₋₄alkylene aminosulfonyl)-benzoic acid amide, for example a compound of formula I as defined above, or salt thereof, which process comprises reacting a 2-(2,2-diphenylethylamino)- 5-(4-carboxy-piperidine-1-sulfonyl)-benzoic acid amide or -5-(carboxy-C₂₋₄alkylene aminosulfonyl)-benzoic acid amide, for example a compound of formula II



wherein R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , m and n have the meanings given for formula I, with an amine, e.g. of formula III



wherein R^5 has the meanings given for formula I,

and recovering the obtained compound, e.g. of formula I, in free or in salt form, e.g. acid addition salt form.

The reaction may be carried out in accordance with standard procedures, for example by a first acid chloride formation step using e.g. thionyl chloride and catalytic DMF in an inert solvent, e.g. CH_2Cl_2 , at ambient temperature, followed by the coupling step involving addition of the acid chloride to a mixture of the amine and e.g. TEA, at a temperature of, e.g. -10°C . Aqueous workup followed by precipitation from, e.g. ethyl acetate gives the free base. The salt forms are made by standard procedures known to the skilled artisan.

In the examples the following abbreviations are used: DMF: dimethyl formamide; DMSO: dimethyl sulfoxide; EDTA: ethylenediamine-tetraacetic acid; EtOAc: ethylacetate; RT: room temperature; TBME: t-butyl methyl ether; TBTU: (O-(benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium tetrafluoroborate; TEA: triethylamine; TFA: trifluoroacetic acid; THF: tetrahydrofuran.

Example 1: Preparation of {2-(2,2-diphenyl-ethylamino)-5-[4-(4-isopropyl-piperazine-1-carbonyl)-piperidine-1-sulfonyl]-phenyl}-morpholin-4-yl-methanone

(formula I: $R^1 + R^2 + N = \text{morpholin-1-yl}$, $R^3 + R^4 = \text{ethylene}$, $m = 2$, $n = \text{zero}$, $R^5 = 4\text{-isopropyl-piperazin-1-yl}$)

(a) A 5 liter flask is charged with {2-(2,2-diphenyl-ethylamino)-5-[4-(4-carboxy)-piperidine-1-sulfonyl]-phenyl}-morpholin-4-yl-methanone (130.2 g), CH_2Cl_2 (1.3 l), DMF (0.82 g) and thionyl chloride (18.1 ml, 29.51 g). The suspension is stirred at ambient temperature (the solids dissolved after ~2 h). The volatiles are removed by rotary evaporation (30°C, house vacuum) and the crude acid chloride is redissolved in CH_2Cl_2 (300 ml). The solution of acid chloride is added to a mixture of isopropylpiperazine (47.60 g), TEA (98.09 g) and CH_2Cl_2 (1 l) at -10°C over 1 h. The reaction is worked up by removing volatiles via rotary evaporation. The residue is suspended in EtOAc (2.0 l) and washed with water (2 x 500 ml), brine (500 ml) and dried (Na_2SO_4). The volume is reduced by rotary evaporation (35°C, house vacuum) to ~500 ml and stirred at ambient temperature for 17 h. The suspension is filtered and dried (40°C, house vacuum) to give the title compound as free base.

(b) A 5 liter flask is charged with the above compound (121.3 g), CH_2Cl_2 (1.2 l), and 37 % HCl (17.38 g). After stirring for 30 min, the volatiles are removed by rotary evaporation and the residue is triturated with IPA (1 l). The suspension is filtered and dried (40°C, house vacuum) to give the crude HCl salt of the title compound.

(c) A 2 liter flask is charged with the above crude HCl salt (133.7 g), silica gel (13.0 g) and CH_2Cl_2 (1.3 l). The mixture is stirred for 15 min at ambient temperature and then filtered. This process is repeated twice more. The solvent is removed by rotary evaporation. The residue is suspended in a mixture of IPA (1.0 l) and water (100 ml) and heated to reflux. The solution is allowed to cool to ambient temperature and stir for 17 h. The resulting suspension is filtered and dried. The solid is suspended in acetone (1.0 l) and refluxed for 4.5 h. The suspension is cooled to ambient temperature and stirred for 3 days. The suspension is filtered and dried (60°C, house vacuum, 2 days) to give the title compound as HCl salt.

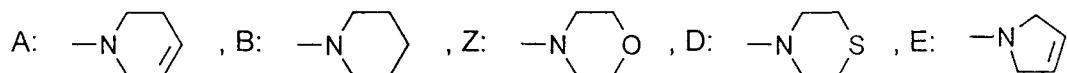
The following compounds of formula I wherein R^3 and R^4 together are ethylene, m is 2 and R^5 is $-\text{X}-R^6$ wherein X is as defined above, are prepared analogously to Example 1:

62
44

Example	$-NR^1R^2$	n	R^6
2*	Z	0	$-\text{CH}_3$
3*	A	0	$-\text{CH}_3$
4	B	0	$-\text{CH}_3$
5*	Z	0	$-\text{CH}_2\text{CH}_3$
6	D	0	$-\text{CH}_3$
7*	Z	0	benzyl
8	$-\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$	0	$-\text{CH}_3$
9*	Z	0	$-\text{CH}_2\text{CHCH}_2$
10*	Z	0	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$
11*	A	0	$-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$
12*	Z	0	2-pyridinyl
13	E	0	$-\text{CH}_3$
14	A	1	$-\text{CH}_3$
15	Z	0	$-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OH}$

* as trifluoroacetate

In the above and following table A, B, Z, D and E have the following meanings:



The following compounds of formula I wherein R^3 and R^4 together are ethylene, m is 2 and R^5 is $-\text{N}(\text{R}^7)\text{R}^8$ are prepared analogously to Example 1: please indicate whether any of the following compounds are salts

Example	$-NR^1R^2$	n	R^7	R^8
16	A	0	$-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_3)_2$	$-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_3)_2$
17	Z	0	$-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$	$-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$
18	Z	0	$-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_3)_2$	$-(\text{CH}_2)_4\text{N}(\text{CH}_3)_2$
19	Z	0	$-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_3)_2$	$-\text{CH}_3$
20	Z	0	$-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$	$-\text{H}$
21	Z	0	$-(\text{CH}_2)_2\text{N}[(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2)_2]$	$-\text{H}$
22	Z	0	$-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$	$-\text{H}$

The following compounds of formula I wherein R^1 and R^2 together with the N-atom to which they are attached are morpholinyl, R^4 is H and R^5 is $-X-R^6$ wherein X is as defined above, are prepared analogously to Example 1:

Example	R^3	m	n	R^6
23	$-\text{CH}_3$	1	1	$-\text{CH}_3$
24*	$-\text{CH}_3$	1	1	$-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$
25*	benzyl	1	0	$-\text{CH}_3$
26*	cyclohexyl	1	0	$-\text{CH}_3$
27*	$-\text{CH}_3$	1	0	$-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$
28*	benzyl	1	1	$-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$
29	$-\text{H}$	2	1	$-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$
30	$-\text{CH}_3$	3	1	$-\text{CH}_3$

CHARACTERISING DATA

Compounds 1 to 30 are found to exhibit the following HPLC retention data [min]:

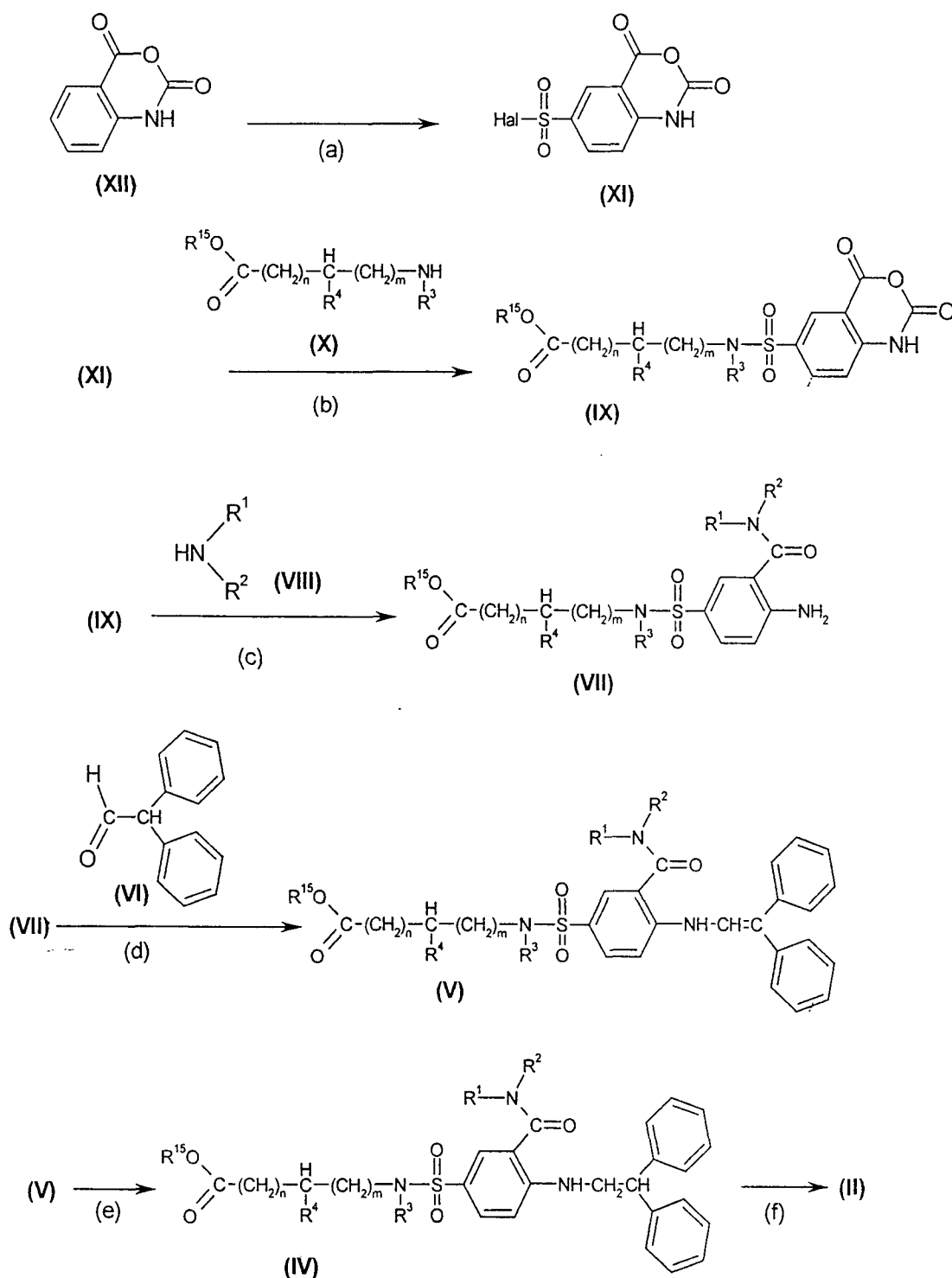
Compound	[min]	Compound	[min]	Compound	[min]
2	5.68*	11	6.37*	21	27.57***
1	5.91*	12	23.68***	22	22.9***
3	6.22*	13	5.10**	23	5.57*
4	5.43**	14	6.17****	24	5.9*
5	23.55***	15	5.28****	25	23.82***
6	5.24**	16	24.03***	26	24.95***
7	25.93***	17	4.6****	27	5.90*
8	5.09**	18	20.1***	28	6.23*
9	23.98***	19	22.6***	29	5.35*
10	23.89***	20	22.58***	30	5.75*

HPLC conditions:

- *: Hypersil 3 micron C 18 BDS column. Gradient elution 10-100% MeCN in water (+0.1% TFA) over 10 min
- ** : Kingsorb 50x4.6mm C18 column, 3micron particle size; flow rate 3ml/min; 90% water (+10mM NH_4OAc 0.3% HCOOH) 10% MeCN to 100% MeCN over 10min
- ***: Nucleosil 5 micron C18 column, 25cm x 4.6mm. Gradient elution 10-100% MeCN in water (+0.1% TFA) over 40 min

****: Waters Symmetry 3 micron C18 column; 5 x 0.46 cm. Gradient elution, 10% to 100% MeCN in water (+ 0.1% TFA) over 10 min

Compounds of formula II may be prepared applying known techniques, e.g. in accordance with the following reaction scheme:



wherein Hal is halogen, e.g. chlorine, R^{15} is C_1 - C_4 alkyl, e.g. ethyl, and R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , m and n are as defined for formula I.

Each of the above reaction steps may be carried out in accordance with conventional procedures as known in the art, e.g. as illustrated in the following examples or analogously thereto. For example in step (a) the compound of formula XII may conveniently be reacted with e.g. chlorosulfonic acid or with chlorosulfonic acid followed by thionyl chloride. In step (b) the compound of formula XI is reacted with the compound of formula X and e.g. triethylamine in the presence of a solvent like acetonitrile and acetone at 0°C . In step (c) the sulfonamide of formula IX is reacted with the compound of formula VIII at room temperature in the presence of a solvent like acetonitrile, acetone or ethyl acetate, ethyl acetate being preferred. Preferably an excess of the compound of formula VIII may be used, e.g. a 10 % excess. In step (d) the compound of formula VII may be reacted with an excess of the compound of formula VI, e.g. a 10 % excess in the presence of, e.g. trifluoroacetic acid and a desiccant, e.g. trimethyl orthoacetate. The reduction of step (e) may for example be accomplished via hydrogenation over 10 % palladium on carbon in the presence of a solvent, e.g. tetrahydrofuran. The hydrolysis of the ester of formula IV [step (f)] may be accomplished in the presence of a base like NaOH, in a solvent like ethanol, methanol, acetone or tetrahydrofuran, preferably tetrahydrofuran. In some of the above steps the reactants may be warmed prior to reaction.

Starting compounds of formula III, VI, VIII, X and XII are known or may be prepared from corresponding known compounds.

Example S1: Preparation of {2-(2,2-diphenyl-ethylamino)-5-[4-(4-carboxy)-piperidine-1-sulfonyl]-phenyl}-morpholin-4-yl-methanone (formula II: $R^1 + R^2 + N =$ morpholin-1-yl, $R^3 + R^4 =$ ethylene, $m = 2$, $n = \text{zero}$)

(a) A 2 liter flask is charged with isatoic anhydride (180.3 g) and chlorosulfonic acid (367 ml, 643.9 g). The mixture is stirred at ambient temperature for 21 h. Thionyl chloride (80.6 ml, 131.5 g) is added over 2 h and the mixture is stirred at ambient temperature for 16 h. The reaction is worked up by slowly pouring the reaction mixture over ice (4.5 kg) with stirring. The resulting suspension is filtered and the filtercake is washed with water (2 x 500 ml). The solid is dried (40°C , house vacuum, 48 h) to give compound 2.

(b) A 5 liter flask is charged with 2 (270.2 g) and acetone (2.0 l). The suspension is cooled in an ice/methanol bath and a solution of ethyl isonipecotate (165.7 g) and TEA (156.8 g) in

acetone (700 ml) is added over 1.43 h. After the addition is complete, the cooling bath is removed and the mixture is stirred for 2 h. The reaction is worked up by removing volatiles via rotary evaporation (35°C, house vacuum). The solid is triturated with 0.5 N HCl (1763 ml). The suspension is filtered and the filtercake is washed with water (1.0 l). The solid is dried (40°C, house vacuum, 3 days) to give compound 4.

(c) A 12 liter flask is charged with 4 (342.4 g) and EtOAc (3.4 l). A solution of morpholine (85.80 g) in EtOAc (340 ml) is added at ambient temperature over 1.5 h. The mixture is stirred for 30 min. The reaction is worked up by adding charcoal (35.2 g) and filtering through Celite. The solids are washed with EtOAc and the filtrate is reduced to ~2 l by rotary evaporation. Heptane (1.7 l) is added at ambient temperature over 2 h and the resulting suspension is stirred overnight. The suspension is filtered, washed with mother liquor, and dried overnight (40°C, house vacuum) to give 6.

(d) A 12 liter flask is charged with compound 6 (324.7 g) and EtOAc (4.4 l). The mixture is heated until all of the solids dissolved (~35°C). 2,2-diphenyl ethanal (164.7 g), trimethyl orthoacetate (100.8 g), and TFA (4.35 g) are added and the mixture is stirred at ambient temperature for 3 days. The reaction is worked up by removing EtOAc via rotary evaporator. The residue is triturated with TBME (3.2 l). The resulting suspension is filtered, the filtercake is washed with TBME (320 ml) and dried (40°C, house vacuum, N₂ purge) to give compound 8.

(e) A 2.5 liter Parr bottle is charged with compound 8 (118.8 g) and THF (1.2 l). The mixture is heated with stirring until all of the solids are dissolved (~55°C). Palladium on carbon (10 %, anhydrous, 10.47 g) is added and the mixture is shaken under a hydrogen atmosphere (50 psi) at ambient temperature for 24 h. The reaction is worked up by filtering the mixture through Celite. THF is removed by rotary evaporator. The residue is triturated with TBME (1.1 l). The resulting suspension is filtered, the filtercake is washed with TBME (110 ml) and dried (40°C, house vacuum, N₂ purge) to give compound 9.

(f) A 12 liter flask is charged with 9 (326.8 g), THF (3.3 l), and 1.0 N NaOH (540 ml). The biphasic solution is stirred at ambient temperature for 24 h. The reaction is worked up by removing THF via rotary evaporator. Water (1.0 l) is added to the remaining aqueous portion and 1.0 N HCl (600 ml) is added with stirring at ambient temperature over 2 h. The resulting suspension is filtered, the filtercake is washed with water (1 l) and dried (40°C, house vacuum, N₂ purge) to give the title compound.

Compounds of formula II, IV, V, VII and IX are new and also an embodiment of the present invention.

The following compounds of formula II wherein R^3 and R^4 together are ethylene and m is 2 are prepared analogously to Example S1:

Example	$-NR^1R^2$	n	Example	$-NR^1R^2$	n
II.2	Z	0	II.13	E	0
II.3	A	0	II.14	A	1
II.4	B	0	II.15	Z	0
II.5	Z	0	II.16	A	0
II.6	D	0	II.17	Z	0
II.7	Z	0	II.18	Z	0
II.8	$-N(CH_3)CH_2CH_3$	0	II.19	Z	0
II.9	Z	0	II.20	Z	0
II.10	Z	0	II.21	Z	0
II.11	A	0	II.22	Z	0
II.12	Z	0			

In the above table A, B, Z, D and E have the following meanings as defined hereinbefore.

The following compounds of formula II wherein R^1 and R^2 together with the N-atom to which they are attached are morpholinyl, and R^4 is H are prepared analogously to Example S1:

Example	R^3	m	n	Example	R^3	m	n
II.23	$-CH_3$	1	1	II.27	$-CH_3$	1	0
II.24	$-CH_3$	1	1	II.28	benzyl	1	1
II.25	benzyl	1	0	II.29	$-H$	2	1
II.26	cyclohexyl	1	0	II.30	$-CH_3$	3	1

The compounds of the invention and their pharmaceutically acceptable acid addition salts (hereinafter: Pharmaceutical Compounds) have pharmacological activity and are useful as pharmaceuticals. In particular Pharmaceutical Compounds exhibit bradykinin antagonist activity. In particular Pharmaceutical Compounds, e.g. compounds B1 and B2, are active at the human B_1 bradykinin receptor.

Bradykinin receptor interaction of the Pharmaceutical Compounds is demonstrated by their ability to displace bradykinin at human bradykinin receptor sites, e.g. as demonstrated in accordance with the following test method.

Test I: Bradykinin receptor binding assay

Cloning of the human bradykinin B1 receptor cDNA: The human bradykinin B1 receptor is cloned from WI38 human foetal lung cell fibroblast cells by expression cloning in *Xenopus laevis* oocytes, which do not express bradykinin B1 receptors normally. A cDNA library is prepared in bacteriophage lambda ZAP express and grown in pools of approximately 10,000 clones per pool. Bacteriophage DNA is prepared from these pools and copy RNA is synthesised with T3 RNA polymerase and after phenol extraction and precipitation, the RNA is injected into *Xenopus* oocytes and allowed to be expressed for 3 days. The oocytes are then assayed electrophysiologically using two electrode voltage clamp, for a response in an endogenous chloride channel that can be activated by endogenous heterotrimeric GTP binding proteins of the Gq/G11 type that can couple to bradykinin receptors. A positive clone is isolated from a positive pool by several stages of splitting the pool into smaller pools and assaying, until a single clone is isolated. This cDNA is sequenced and subcloned into pcDNA3 (Clontech) and used to generate a cell-line which expresses the human bradykinin B1 receptor.

Making the HEK cells: The human bradykinin B1 receptor cDNA is subcloned into the Kpn1 and Not1 sites of pcDNA3 (HB1-pcDNA3), is grown up and transfected into human embryonic kidney fibroblast cell line, HEK 293 using the Calcium phosphate method. Cells are grown in Minimum Essential Medium with Earle's Salts (GIBCO) supplemented with 2 mM L-glutamine, 100 units/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin, 1 % nonessential amino acids and 10 % myoclonal foetal calf serum (GIBCO) in a humidified atmosphere with 5 % CO₂ at 37°C.

The 293Hek cells are split 1:2 the day prior to transfection. One 175 cm² flask with approximately 50 % confluent cells is transfected with approximately 30 µg/ml HB1-pcDNA3 DNA using the calcium phosphate precipitate method of transfection. The flask of transfected cells is split 1:3 on day 2 post transfection to prevent overgrowth. The following day the cells are split 1:5 and selection in 700 µg/ml G418 begins. The selective medium is changed every 3-4 days. When distinct G418 resistant colonies of transfected cells are seen, approximately 4 weeks after transfection, the cells are cloned by limiting dilution and assayed for binding of [³H]desArg¹⁰-kallidin. The clone with the highest binding is chosen for further use. Care is

taken not to allow the cells to overgrow and to maintain G418 in the growth medium.

These HEK 293 cells expressing the human bradykinin B₁ receptor are used to prepare membranes. Cells are homogenised in 50 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA pH 7.4 at 10,000 rpm for 30 sec in a Polytron homogeniser. All subsequent operations are carried out at 4°C. The resultant suspension is centrifuged for 30 min at 28,000 x g. The pellet is washed a further two times by resuspension in Tris-HCl (50 mM, pH 7.4) and recentrifugation. The final pellet is resuspended in Tris-HCl (50 mM, pH 7.4), containing 5 % glycerol and frozen rapidly on dry ice in 500 µl aliquots and stored at -80°C.

For use in the binding assay, membranes are thawed, homogenised, and diluted with physiological binding buffer (10 mM HEPES, HBSS {137 mM NaCl, 5.4 mM KCl, 1.3 mM CaCl₂, 0.4 mM KH₂PO₄, 0.3 mM NaHPO₄, 0.5 mM MgCl₂, 0.4 mM MgSO₄, 5.6 mM glucose, pH 7.4} containing 1 mM 1-10 phenanthroline and 0.14 g/l bacitracin. Binding assays are performed in 1.2 ml polypropylene assay tubes (incorporated into a deep well block of 96 or individual Micronics tubes) containing a final volume of 0.5 ml. The assay composition is 425 µl membrane suspension (approximately 20 µg protein per tube) in physiological binding buffer, 50 µl [³H]desArg¹⁰-kallidin (specific activity 95 Ci/mMol; 6.0 ± 0.5 nM), 25 µl of either DMSO, or unlabelled desArg¹⁰ kallidin (20 µM) or different concentrations of test compounds made up in DMSO. Specific binding to the bradykinin B₁ receptor is defined as the difference between that found in total bound tubes and that found in non-specific binding tubes. The reaction is initiated with the addition of membranes and incubated at 4°C for 60 min. The reaction is terminated by rapid filtration of the assay mixture through Canberra Packard Unifilter-96 GF/B filterplates (which have been pre-soaked in 0.6% polyethyleneimine for 2 to 3 h at RT). The filters are washed 4 times with 1 ml aliquots of ice cold wash buffer. Microscintillant-40 liquid scintillant is added to the filters and radioactivity bound is determined in a Canberra Packard Topcount scintillation counter. Binding parameters are derived from non-linear iterative curve fitting of three or four data sets simultaneously, using a logistic model in MicrocalTM Origin.

K_i values are 0.063 µM for the peptide antagonist desArg¹⁰HOE [(D-Arg-[Hyp³, Thi⁵, D-Tic⁷, Oic⁸]desArg⁹ bradykinin) = (D-Arginine-[hydroxyproline³, thienylamine⁵, D-tetrahydroxyquinoline-3-carboxylic acid⁷, octahydroindole-2-carboxylic acid⁸]desArginine⁹ bradykinin)] and in the range of 0.5 nM to 2 µM for pharmaceutical compounds.

Pharmaceutical Compounds are accordingly useful as bradykinin B₁ receptor antagonists, e.g. in the treatment of diseases and conditions in which B₁ receptor activation plays a role or is

71/46

implicated. Such conditions include in particular pain, in particular chronic pain, especially inflammatory, e.g. chronic inflammatory pain, inflammatory diseases for example inflammatory airways disease, e.g. COPD, or in asthma, rhinitis, inflammatory bowel disease, cystitis, e.g. interstitial cystitis, pancreatitis, uveitis, inflammatory skin disorders and rheumatoid arthritis.

Pharmaceutical Compounds are thus useful as bradykinin BK₁ receptor antagonists, e.g. for the treatment of pain of various genesis or aetiology and as anti-inflammatory and/or anti-oedemic agents for the treatment of inflammatory reactions, diseases or conditions, as well as for the treatment of allergic responses mediated by bradykinin. Having regard to their analgesic/anti-inflammatory profile they are useful for the treatment of inflammatory pain, for the treatment of hyperalgesia and, in particular, for the treatment of severe chronic pain. They are, for example, useful for the treatment of pain, inflammation and/or oedema consequential to trauma, e.g. associated with burns, sprains, fracture or the like, subsequent to surgical intervention, e.g. as post-operative analgesics, as well as for the treatment of inflammatory pain of diverse genesis, e.g. for the treatment of osteo and rheumatoid arthritis and rheumatic disease, teno-synovitis and gout. They are further suitable as analgesics for the treatment of pain associated with, e.g., angina, menstruation or cancer. As anti-inflammatory/anti-oedema agents, they are further useful, e.g., for the treatment of inflammatory skin disorders, for example psoriasis and eczema.

As bradykinin BK₁ receptor antagonists Pharmaceutical Compounds are also useful as smooth muscle relaxants, e.g. for the treatment of spasm of the gastro-intestinal tract or uterus, e.g. in the therapy of Crohn's disease, ulcerative colitis or pancreatitis.

Pharmaceutical Compounds are in particular useful as agents for the therapy of airways hyperreactivity and for the treatment of inflammatory events associated with airways disease, in particular asthma. In addition, Pharmaceutical Compounds may, for example, be used for the control, restriction or reversal of airways hyperreactivity in asthma.

Inflammatory or obstructive airways diseases to which the present invention is applicable include asthma of whatever type or genesis including both intrinsic and, especially, extrinsic asthma. Thus, Pharmaceutical Compounds are useful for the treatment of allergic asthma, whether atopic (i.e. IgE-mediated) or non-atopic, as well as, for example, exercise induced

asthma, occupational asthma, asthma induced following bacterial infection, other non-allergic asthmas and "wheezy-infant syndrome".

Efficacy in the treatment of asthma will be evidenced by reduced frequency or severity of symptomatic attack, e.g. of acute asthmatic or bronchoconstrictor attack and by reduced requirement for other, symptomatic therapy, for example anti-inflammatory (e.g. corticosteroid) or bronchodilator (e.g. β_2 adrenergic) therapy.

Inflammatory or obstructive airways diseases to which the present invention is applicable further include pneumoconiosis (an inflammatory, commonly occupational, disease of the lungs, frequently accompanied by repeated inhalation of dusts) of whatever type or genesis, including, for example, aluminosis, anthracosis, asbestosis, chalicosis, ptilosis, siderosis, silicosis, tabacosis and, in particular, byssinosis.

Further inflammatory or obstructive airways diseases and conditions for which Pharmaceutical Compounds may be used include adult respiratory distress syndrome (ARDS), chronic obstructive pulmonary or airways disease (COPD or COAD), and bronchitis. Pharmaceutical Compounds may also be used for the treatment of allergic and vasomotor rhinitis (add "whatever is in Dorland's" (Gordon's input)).

In addition to the foregoing Pharmaceutical Compounds are also indicated for use in the therapy of septic shock, e.g. as anti-hypovolaemic and/or anti-hypotensive agents, in the treatment of inflammatory bowel disease cerebral oedema, headache, migraine and inflammatory skin disease such as eczema and psoriasis, and inflammatory disorders of the gut, e.g. irritable bowel syndrome, Crohn's disease, ulcerative colitis, cystitis, e.g. interstitial cystitis, nephritis, uveitis. Pharmaceutical compounds are also indicated for use in the treatment of Alzheimer's disease and as anti-proliferative agents for the treatment of cancer.

For the above indications the appropriate dosage of Pharmaceutical Compounds will, of course, vary depending upon, for example, the host, the mode of administration and the nature and severity of the condition being treated as well as the relative potency of the particular Pharmaceutical Compound employed. However, in general, satisfactory results in animals are indicated to be obtained at daily dosages of from about 0.01 to about 20.0 mg/kg p.o. In humans, an indicated daily dosage is in the range of from about 7.0 to about 1400 mg/day p.o.,

conveniently administered once or in divided doses up to 4 x per day or in sustained release form. Oral dosage forms accordingly suitably comprise from about 1.75 or 2.0 to about 700 or 1400 mg Pharmaceutical Compound admixed with an appropriate pharmaceutically acceptable diluent or carrier therefor.

Pharmaceutical Compounds may alternatively be administered e.g. topically in the form of a cream, gel or the like for example for the treatment of conditions of the skin as hereinbefore described or by inhalation, e.g. in dry powder form, for example for the treatment of asthma.

Pharmaceutical Compounds are also useful as research chemicals.

In accordance with the foregoing the present invention also provides:

- (1) A pharmaceutical compound for use as a bradykinin BK₁ receptor antagonist, for example for use in any of the particular indications hereinbefore set forth;
- (2) A pharmaceutical composition comprising a pharmaceutical compound as under (1) as active ingredient together with a pharmaceutically acceptable diluent or carrier therefor;
- (3) A method for the treatment of any of particular indication hereinbefore set forth in a subject in need thereof which comprises administering an effective amount of a pharmaceutical compound as under (1); and
- (4) A process for the preparation of a compound as under (1).

The preferred Pharmaceutical Compounds for use in accordance with the invention are those of Examples 1 and 2.

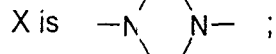
i

- 4



R¹ and R² independently are C₁-C₄alkyl or, together with the N-atom to which they are attached, represent a 5 to 7 membered heterocyclic ring;

- n is zero or 1: and



C₅-C₇heterocyclic group or phenyl-C₁-C₄alkyl;

R⁷ is amino-C₂-C₄alkyl or mono- or di-(C₁-C₅alkyl)amino-C₂-C₅alkyl, and

R⁸ is H, C₁-C₄alkyl or has the meanings as given for R⁷;

and salts thereof.

3. Pharmaceutical composition comprising, or use of, a 2-(2,2-diphenylethylamino)-5-(4-aminocarbonyl-piperidine-1-sulfonyl)-benzoic acid amide or -5-(aminocarbonyl-C₂₋₄alkylene aminosulfonyl)-benzoic acid amide, or pharmaceutically acceptable salt according to claim 1 substantially as hereinbefore described.

73-40

4. 2-(2,2-diphenylethylamino)-5-(4-aminocarbonyl-piperidine-1-sulfonyl)-benzoic acid amide or -5-(aminocarbonyl-C₂₋₄alkylene aminosulfonyl)-benzoic acid amide, or pharmaceutically acceptable salt according to claim 1 for any use substantially as hereinbefore described.

74-49

(Emblema)

(Logotipo)

INVERSIONISTA EN LA GENTE

LA OFICINA DE PATENTES

La Oficina de Patentes
Concept House
Cardiff Road
Newport
Gales del Sur
NP10 8QQ

Yo, el suscrito, siendo un funcionario debidamente autorizado de acuerdo con la Sección 74(1) y (4) de la Ley de Desregulación y Contratación Externa de 1994, para firmar y expedir certificados a nombre del Contralor General, mediante la presente certifico que el anexo es una copia fiel de los documentos tal como se presentaron originalmente en relación con la Solicitud de Patente identificada en los mismos.

De acuerdo con las Reglas de Patentes (Re-registro de Sociedades) de 1982, si una sociedad nombrada en este certificado y en cualesquiera documentos acompañantes, se ha re-registrado, de acuerdo con la Ley de Sociedades de 1980, con el mismo nombre que aquél con el que se registró inmediatamente antes del re-registro, salvo por la sustitución

como, o la inclusión como, la última parte del nombre con las palabras "sociedad pública limitada" o sus equivalentes en Galo, las referencias al nombre de la sociedad en este certificado y en cualesquiera documentos acompañantes, se tratarán como referencias al nombre con el cual así se re-registró.

De acuerdo con las reglas, las palabras "sociedad pública limitada" pueden ser reemplazadas por s.p.l., spl, S.P.L., ó SPL.

El re-registro según la Ley de Sociedades no constituye una nueva entidad legal, sino que meramente sujeta a la sociedad a ciertas reglas adicionales de la ley de sociedades.

Firma: (Firmado)

Fecha: 11 de abril de 2000.

Una Agencia Ejecutiva del Departamento
de Comercio e Industria

(Aparece un sello móvil de la Oficina de Patentes).

76
1/77

07jun99 e452422-1 d00524-----

P01/7700 0.00 - 9913079.1

Ley de Patentes de 1977

(Regla 16)

(Aparece un sello ovalado impreso con la siguiente leyenda:

LA OFICINA DE PATENTES

04 DE JUNIO DE 1999

RECIBIDO PERSONALMENTE) .

LA OFICINA DE PATENTES

La Oficina de Patentes

Cardiff Road

Newport

Gwent NP9 1RH

SOLICITUD PARA LA CONCESION DE UNA PATENTE

(Ver las notas al reverso de esta forma. También puede obtener un folleto de explicaciones en la Oficina de Patentes, para ayudarle a llenar esta forma).

1. Su referencia: 4-30972/P1

2. Número de Solicitud de Patente:

(La Oficina de Patentes llenará esta parte)

9913079.1

04 DE JUNIO DE 1999

3. Nombre completo, domicilio, y código postal de cada solicitante (*subraye todos los apellidos*):

NOVARTIS AG

SCHWARZWALDALLEE 215

4058 BASILEA

SUIZA

Número ADP de Patentes (*si lo conoce*):

7125487002

Si el solicitante es un cuerpo corporativo, dé el país/estado de su incorporación:

SUIZA

4. Título de la invención:

Compuestos Orgánicos

5. Nombre de su agente (*si tiene alguno*):

B. A. YORKE & CO.

AGENTES DE PATENTES AUTORIZADOS

"Dirección para notificaciones" en el Reino Unido, a donde se debe enviar toda la correspondencia (*incluyendo el código postal*):

COOMB HOUSE, 7 ST. JOHN'S ROAD

ISLEWORTH

MIDDLESEX TW7 6NH

Número ADP de Patentes (si lo conoce):

1800001

6. Si está declarando prioridad a partir de una o más solicitudes de patente anteriores, dé el país y la fecha de presentación de cada una de estas solicitudes anteriores, y (si lo conoce) cada número de solicitud:

País: - - -

Número de solicitud de prioridad (si lo sabe): - - -

Fecha de presentación (día/mes/año): - - -

7. Si esta solicitud está dividida o se deriva de otra manera de una solicitud anterior del Reino Unido, dé el número y la fecha de presentación de la solicitud anterior:

Número de solicitud anterior: - - -

Fecha de presentación (día/mes/año): - - -

8. ¿Es una declaración de invención y del derecho de otorgar una patente requerida en apoyo de esta solicitud? (Conteste "Sí" en el caso de que:

- a) cualquier solicitante nombrado en la parte 3 no sea un inventor, ó
- b) haya un inventor que no esté nombrado como un solicitante, ó

c) cualquier solicitante nombrado sea un cuerpo corporativo.

Ver la nota (d)): Sí

9. Anote el número de páginas para cualquiera de los siguientes artículos que esté presentando con esta forma. No cuente las copias del mismo documento.

Páginas de continuación de esta forma --

Descripción 15

Reivindicaciones 2

Resumen --

Dibujo(s) --

10. Si también está presentando cualquiera de los siguientes, informe cuántas en cada uno de los puntos.

Documentos de prioridad: --

Traducción de documentos de prioridad: --

Declaración de invención y derecho a la concesión de una patente (*Forma de Patentes 7/77*): --

Solicitud de examen preliminar y búsqueda (*Forma de Patentes 9/77*): --

Solicitud de examen sustantivo (*Forma de Patentes 10/77*): --

Cualesquiera otros documentos (por favor especifique): --

11. Solicitamos la concesión de una patente con base en esta solicitud.

Firma: B. A. Yorke & Co.
(Firmado)

Fecha: 04 de junio de 99

12. Nombre y número telefónico diurno de la persona para hacer contacto en el Reino Unido:

SRA. E. CHEETHAM

0181 560 5847

Advertencia

Después de que se haya presentado una solicitud de patente, el Contralor de la Oficina de Patentes considerará si se debe prohibir o restringir la publicación o comunicación de la invención, de acuerdo con la Sección 22 de la Ley de Patentes de 1977. Se le informará si es necesario prohibir o restringir su invención de esta manera. Además, si usted vive en el Reino Unido, la Sección 23 de la Ley de Patentes de 1977 le impide solicitar una patente en el extranjero sin obtener primero un permiso por escrito de la Oficina de Patentes, a menos que se haya presentado una solicitud cuando menos 6 semanas antes en el Reino Unido para una patente para la misma invención, y no se hayan dado instrucciones que prohíban la publicación o la comunicación, o se hayan revocado dichas instrucciones.

Notas

- a) Si necesita ayuda para llenar esta forma, o tiene alguna pregunta, por favor haga contacto con la Oficina de Patentes al 0645 500505.
- b) Escriba sus respuestas en letras mayúsculas, utilizando tinta negra, o puede mecanografiarlas.
- c) Si no hay suficiente espacio para todos los detalles pertinentes en cualquier parte de esta forma, por favor continúe en una hoja de papel separada, y escriba "ver página de continuación" en las partes pertinentes. Cualquier página de continuación se debe adjuntar a esta forma.
- d) Una vez que haya llenado la forma, debe recordar firmarla y fecharla.
- e) Para los detalles de los derechos y de las maneras de pagar, por favor haga contacto con la Oficina de Patentes.

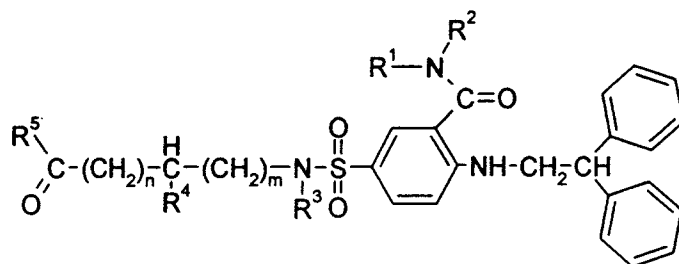
Compuestos Orgánicos

La presente invención se refiere a novedosos derivados de amina de ácido benzoico, a procesos para su producción, a su uso como productos farmacéuticos, y a composiciones farmacéuticas que los comprenden.

De una manera más particular, la presente invención proporciona, en un primer aspecto, una amida de ácido 2-(2,2-difeniletilamino)-5-(4-aminocarbonil-piperidin-1-sulfonil)-benzoico, o amida de ácido 2-(2,2-difeniletilamino)-5-aminocarbonil-alquileo de 2 a 4 átomos de carbono-aminosulfonil)-benzoico, o sales de las mismas.

Se entenderá que los compuestos anteriormente definidos pueden llevar sustituyentes dentro de su estructura, por ejemplo, pueden llevar sustituyentes de anillo de fenilo o de fracción de alquileo apropiados. La fracción de amino de las agrupaciones definidas de aminocarbonilo o amida, puede ser cualquier agrupación de amino apropiada, por ejemplo cíclica o alifática, o puede llevar agrupaciones de sustituyentes adicionales.

Los compuestos preferidos de acuerdo con la invención son aquellos de la fórmula I:



(I)

en donde:

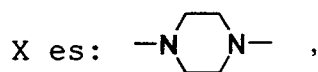
R^1 y R^2 son independientemente alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, o junto con el átomo de N con el que están unidos, representan un anillo heterocíclico de 5 a 7 miembros;

(a) R^3 y R^4 son juntos etileno, y m es 2; ó

(b) R^3 es H, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, cicloalquilo de 5 a 7 átomos de carbono, o fenilalquilo de 1 a 4 átomos de carbono, R^4 es H, y m es 1 ó 2 ó 3;

n es 0 ó 1; y

R^5 es $-X-R^6$ ó $-N(R^7)R^8$, en donde:



R^6 es alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alqueno de 3 a 4 átomos de carbono, alquino de 3 a 4 átomos de carbono, (alcoxialquilo) de 1 a 4 átomos de carbono, (carboxialquilo) de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo heterocíclico de 5 a 7 átomos de carbono, o fenilalquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

R^7 es aminoalquilo de 2 a 4 átomos de carbono, o mono- ó di-(alquilo de 1 a 5 átomos de carbono)aminoalquilo de 2

a 5 átomos de carbono, y

R^8 es H, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, o tiene los significados dados para R^7 ;

y sales de los mismos.

Los grupos y fracciones de alquilo en los compuestos de la fórmula I pueden ser de cadena ramificada o recta. Los grupos alquilo son adecuadamente de cadena recta.

Los grupos heterocíclicos como R^1+R^2+N pueden estar saturados o insaturados, y pueden contener uno o más átomos heterocíclicos adicionales, por ejemplo oxígeno o azufre. Los ejemplos incluyen piperidin-1-ilo, morfolin-1-ilo, 3,6-dihidro-2.H.piridin-1-ilo, tiomorfolin-1-ilo, pirrolin-1-ilo.

Los compuestos de la invención existen en forma libre o de sal, por ejemplo de sal de adición de ácido. Se debe entender que la invención incluye tanto a los compuestos de la fórmula I en forma libre, así como en forma de sal, por ejemplo como sal de trifluoroacetato o clorhidrato. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables adecuadas para uso farmacéutico de acuerdo con la invención incluyen, en particular, la sal de clorhidrato.

En la fórmula I, se prefieren los siguientes significados de una manera independiente, colectiva, o en cualquier combinación o sub-combinación:

(a¹) R^1 y R^2 son independientemente metilo o etilo.

(a²) R¹ y R², junto con el átomo de N con el que están unidos, son piperidin-1-ilo, morfolin-1-ilo, 3,6-dihidro-2.H.piridin-1-ilo, tiomorfolin-1-ilo, ó pirrolin-1-ilo.

(b¹) R³ y R⁴ son juntos etileno, y m es 2.

(b²) R³ es H, metilo, ciclohexilo, o bencilo; R⁴ es H, y m es 1 ó 2 ó 3, especialmente 1.

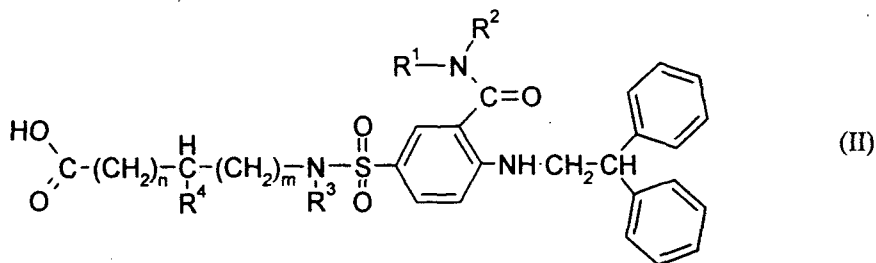
(c) n es 0 ó 1.

(d¹) R⁵ es -X-R⁶, en donde R⁶ es alquilo de 1 a 4 átomos de carbono (por ejemplo metilo, etilo, o isopropilo), 3-propenilo, metoxietilo, carboximetilo, 2-piridilo, ó bencilo, y X es como se define anteriormente.

(d²) R⁵ es -N(R⁷)R⁸, en donde R⁷ es aminopropilo, aminobutilo, dipropilaminoetilo, dimetilaminopropilo, dimetilaminobutilo, dietilaminopropilo, ó dimetilaminopentilo; y R⁸ es H, metilo, aminopropilo, aminobutilo, dimetilaminopropilo, o dimetilaminobutilo.

En adición a lo anterior, la presente invención también proporciona un proceso para la producción de una amida de ácido 2-(2,2-difeniletilamino)-5-(4-aminocarbonil-piperidin-1-sulfonil)-benzoico, o amida de ácido 2-(2,2-difeniletilamino)-5-aminocarbonil-alquileo de 2 a 4 átomos de carbono-aminosulfonil)-benzoico, por ejemplo un compuesto de la fórmula I como se define anteriormente, o una sal del mismo, cuyo proceso comprende hacer reaccionar una amida de ácido 2-(2,2-

difeniletilamino)-5-(4-carboxi-piperidin-1-sulfonil)-benzoico, o una amida de ácido 2-(2,2-difeniletilamino)-5-(carboxi-alquileno de 2 a 4 átomos de carbono-aminosulfonil)-benzoico, por ejemplo un compuesto de la fórmula II:



en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , m , y n tienen los significados dados para la fórmula I,

con una amina, por ejemplo de la fórmula III:



en donde R^5 tiene los significados dados para la fórmula I,

y recuperar el compuesto obtenido, por ejemplo de la fórmula I, en forma libre o de sal, por ejemplo en forma de sal de adición de ácido.

La reacción se puede realizar de acuerdo con los procedimientos convencionales, por ejemplo mediante un primer paso de formación de cloruro de ácido, utilizando, por ejemplo, cloruro de tionilo y dimetilformamida catalítica en un solvente inerte, por ejemplo CH_2Cl_2 , a temperatura ambiente, seguido por el paso de acoplamiento que involucra la adición del cloruro de

ácido a una mezcla de la amina y, por ejemplo, TEA, a una temperatura, por ejemplo, de -10°C . El procesamiento acuoso seguido por precipitación a partir de, por ejemplo, acetato de etilo, da la base libre. Las formas de sal se hacen mediante procedimientos convencionales conocidos por el experto.

En los ejemplos, se utilizan las siguientes abreviaturas: DMF: dimetilformamida; DMSO: sulfóxido de dimetilo; EDTA: ácido etilendiamina-tetra-acético; EtOAc: acetato de etilo; TA: temperatura ambiente; TBME: metiléter de butilo terciario; TBTU: tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio; TEA: trietilamina; TFA: ácido trifluoroacético; THF: tetrahidrofurano.

Ejemplo 1: Preparación de {2-(2,2-difenil-etilamino)-5-[4-(4-isopropil-piperazin-1-carbonil)-piperidin-1-sulfonil]-fenil}-morfolin-4-il-metanona (fórmula I: $R^1 + R^2 + N = \text{morfolin-4-ilo}$, $R^3 + R^4 = \text{etileno}$, $m = 2$, $n = 0$, $R^5 = 4\text{-isopropil-piperazin-1-ilo}$)

(a) Un matraz de 5 litros se carga con {2-(2,2-difenil-etilamino)-5-[4-(4-carboxi)-piperidin-1-sulfonil]-fenil}-morfolin-4-il-metanona (130.2 gramos), CH_2Cl_2 (1.3 litros), dimetilformamida (0.82 gramos), y cloruro de tionilo (18.1 mililitros, 29.51 gramos). La suspensión se agita a temperatura ambiente (los sólidos se disuelven después de aproximadamente 2 horas). Los volátiles se remueven mediante evapora-

ción giratoria (30°C, aspiración), y el cloruro de ácido crudo se vuelve a disolver en CH₂Cl₂ (300 mililitros). La solución de cloruro de ácido se agrega a una mezcla de isopropilpiperazina (47.60 gramos), TEA (98.09 gramos), y CH₂Cl₂ (1 litro) a -10°C durante 1 hora. La reacción se procesa removiendo los volátiles por medio de evaporación giratoria. El residuo se suspende en EtOAc (2.0 litros), y se lava con agua (2 x 500 mililitros), salmuera (500 mililitros), y se seca (Na₂SO₄). El volumen se reduce mediante evaporación giratoria (35°C, aspiración) hasta aproximadamente 500 mililitros, y se agita a temperatura ambiente durante 17 horas. La suspensión se filtra y se seca (40°C, aspiración), para dar el compuesto del título como la base libre.

(b) Un matraz de 5 litros se carga con el compuesto anterior (121.3 gramos), CH₂Cl₂ (1.2 litros), y HCl al 37 por ciento (17.38 gramos). Después de agitar durante 30 minutos, se remueven los volátiles mediante evaporación giratoria, y el residuo se tritura con IPA (1 litro). La suspensión se filtra y se seca (40°C, aspiración), para dar la sal de HCl cruda del compuesto del título.

(c) Un matraz de 2 litros se carga con la sal de HCl cruda anterior (133.7 gramos), gel de sílice (13.0 gramos), y CH₂Cl₂ (1.3 litros). La mezcla se agita durante 15 minutos a temperatura ambiente, y luego se filtra. Este proceso se repite

dos veces más. El solvente se remueve mediante evaporación giratoria. El residuo se suspende en una mezcla de IPA (1.0 litros) y agua (100 mililitros), y se calienta a reflujo. La solución se deja enfriar a temperatura ambiente, y se agita durante 17 horas. La suspensión resultante se filtra y se seca. El sólido se suspende en acetona (1.0 litros), y se pone a reflujo durante 4.5 horas. La suspensión se enfría a temperatura ambiente, y se agita durante 3 días. La suspensión se filtra y se seca (60°C, aspiración, 2 días), para dar el compuesto del título como sal de HCl.

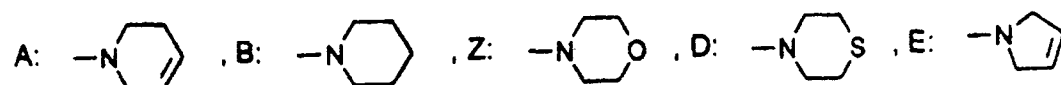
En los siguientes ejemplos, se preparan compuestos de la fórmula IA, en donde R^{3A} y R^{4A} son juntos etileno, m es 2, X^3 es CH, y R^{5A} es $-X^A-R^{6A}$, en donde X^A es piperazin-1,4-ileno, de una manera análoga al Ejemplo 1:

Ej.	$-NR^1R^2$	n	R^6
2*	Z	0	$-\text{CH}_3$
3*	A	0	$-\text{CH}_3$
4	B	0	$-\text{CH}_3$
5*	Z	0	$-\text{CH}_2\text{CH}_3$
6	D	0	$-\text{CH}_3$
7*	Z	0	bencilo
8	$-\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$	0	$-\text{CH}_3$
9*	Z	0	$-\text{CH}_2\text{CHCH}_2$

10*	Z	0	-CH ₂ CH ₂ OCH ₃
11*	A	0	-CH(CH ₃)CH ₃
12*	Z	0	2-piridinilo
13	E	0	-CH ₃
14	A	1	-CH ₃
15	Z	0	-CH ₂ C(O)OH

* como trifluoroacetato.

En las tablas anterior y siguiente, A, B, Z, D, y E, tienen el mismo significado:



Los siguientes compuestos de la fórmula I, en donde R³ y R⁴ son juntos etileno, m es 2, y R⁵ es -N(R⁷)R⁸, se preparan de una manera análoga al Ejemplo 1: por favor indique si cualquiera de los siguientes compuestos son sales.

Ej.	-NR ¹ R ²	n	R ⁷	R ⁸
16	A	0	-(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂	-(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂
17	Z	0	-(CH ₂) ₄ NH ₂	-(CH ₂) ₃ NH ₂
18	Z	0	-(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂	-(CH ₂) ₄ N(CH ₃) ₂
19	Z	0	-(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂	-CH ₃
20	Z	0	-(CH ₂) ₃ N(CH ₂ CH ₃) ₂	-H
21	Z	0	-(CH ₂) ₂ N[(CH ₂ CH(CH ₃) ₂) ₂]	-H
22	Z	0	-CH ₂ C(CH ₃) ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂	-H

91. ~~96~~

Los siguientes compuestos de la fórmula I, en donde R^1 y R^2 , junto con el átomo de N con el que están unidos son morfolinilo, R^4 es H, y R^5 es $-X-R^6$, en donde X es como se describió anteriormente, de una manera análoga al Ejemplo 1:

Ej.	R^3	m	n	R^6
23	$-\text{CH}_3$	1	1	$-\text{CH}_3$
24*	$-\text{CH}_3$	1	1	$-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$
24*	bencilo	1	0	$-\text{CH}_3$
26*	ciclohexilo	1	0	$-\text{CH}_3$
27*	$-\text{CH}_3$	1	0	$-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$
28*	bencilo	1	1	$-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$
29	$-\text{H}$	2	1	$-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$
30	$-\text{CH}_3$	3	1	$-\text{CH}_3$

DATOS DE CARACTERIZACION

Se encuentra que los compuestos 1 a 30 exhiben los siguientes datos de retención en cromatografía de líquidos de alto rendimiento [minutos]:

[min]	[min]	[min]
5.68*	6.37*	27.57***
5.91*	23.68***	22.9***
6.22*	5.10**	5.57*

4	5.43**	14	6.17****	24	5.9*
5	23.55***	15	5.28****	25	23.82***
6	5.24**	16	24.03***	26	24.95***
7	25.93***	17	4.6****	27	5.90*
8	5.09**	18	20.1***	28	6.23*
9	23.98***	19	22.6***	29	5.35*
10	23.89***	20	22.58***	30	5.75*

Condiciones de la Cromatografía de Líquidos de Alto Rendimiento:

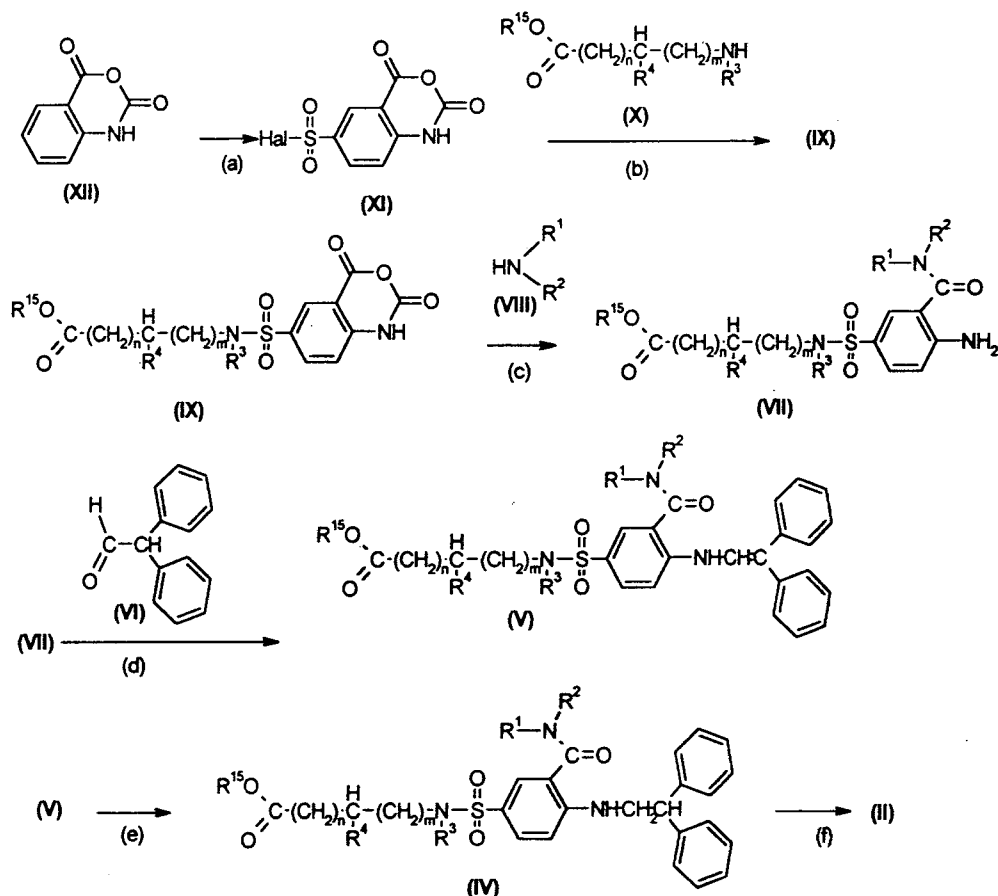
*: Columna Hypersil, 3 micras, C 18 BDS. Elución en gradiente del 10 al 100 por ciento de MeCN en agua (TFA al +0.1 por ciento) durante 10 minutos.

**: Columna Kingsorb 50x4.6 milímetros, C18, tamaño de partículas de 3 micras; velocidad de flujo de 3 mililitros/minuto; agua al 90 por ciento (NH₄OAc +10mM, HCOOH al 0.3 por ciento), MeCN al 10 por ciento, hasta MeCN al 100 por ciento durante 10 minutos.

***: Columna Nucleosil, 5 micras, C18, 25 centímetros x 4.6 milímetros. Elución en gradiente del 10 al 100 por ciento de MeCN en agua (TFA al +0.1 por ciento) durante 40 minutos.

****: Columna Waters Symmetry, 3 micras, C18; 5 x 0.46 centímetros. Elución en gradiente, del 10 al 100 por ciento de MeCN en agua (TFA al +0.1 por ciento) durante 10 minutos.

Los compuestos de la fórmula II se pueden preparar aplicando técnicas conocidas, por ejemplo de acuerdo con el siguiente esquema de reacción:



en donde Hal es halógeno, por ejemplo, cloro, R^{15} es alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, por ejemplo etilo, y R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , m y n son como se definen para la fórmula I.

Cada uno de los pasos de reacción anteriores se puede realizar de acuerdo con los procedimientos convencionales conocidos en la técnica, por ejemplo como se ilustra en los siguientes ejemplos, o de una manera análoga a los mismos. Por

ejemplo, en el paso (a), el compuesto de la fórmula XII convenientemente se puede hacer reaccionar con, por ejemplo, ácido clorosulfónico, o con ácido clorosulfónico seguido por cloruro de tionilo. En el paso (b), el compuesto de la fórmula XI se hace reaccionar con el compuesto de la fórmula X y, por ejemplo, trietilamina, en la presencia de un solvente como acetonitrilo y acetona, a 0°C. En el paso (c), la sulfonamida de la fórmula IX se hace reaccionar con el compuesto de la fórmula VIII a temperatura ambiente, en la presencia de un solvente como acetonitrilo, acetona, o acetato de etilo, prefiriéndose el acetato de etilo. De preferencia, se puede utilizar un exceso del compuesto de la fórmula VIII, por ejemplo un exceso del 10 por ciento. En el paso (d), el compuesto de la fórmula VII se puede hacer reaccionar con un exceso del compuesto de la fórmula VI, por ejemplo un exceso del 10 por ciento, en la presencia de, por ejemplo, ácido trifluoroacético y un desecante, por ejemplo ortoacetato de trimetilo. La reducción del paso (e), por ejemplo, se puede realizar por medio de hidrogenación sobre paladio sobre carbón al 10 por ciento en la presencia de un solvente, por ejemplo tetrahidrofurano. La hidrólisis del éster de la fórmula IV [paso (f)] se puede realizar en la presencia de una base como NaOH, en un solvente como etanol, metanol, acetona, o tetrahidrofurano, de preferencia tetrahidrofurano. En algunos de los pasos anteriores, los reactivos se pueden calentar antes de reaccionar.

Los compuestos de partida III, VI, VIII, X y XII son conocidos, o se pueden preparar a partir de los compuestos conocidos correspondientes.

Ejemplo S1: Preparación de {2-(2,2-difenil-etilamino)-5-[4-(4-carboxi)-piperidin-1-sulfonil]-fenil}-morfolin-4-il-metanona (fórmula II: $R^1 + R^2 + N = \text{morfolin-1-ilo}$, $R^3 + R^4 = \text{etileno}$, $m = 2$, $n = 0$)

(a) Un matraz de 2 litros se carga con anhídrido isatoico (180.3 gramos) y ácido clorosulfónico (367 mililitros, 643.9 gramos). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 21 horas. Se agrega cloruro de tionilo (80.6 mililitros, 131.5 gramos) durante 2 horas, y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 16 horas. La reacción se procesa vertiendo lentamente la mezcla de reacción sobre hielo (4.5 kilogramos) con agitación. La suspensión resultante se filtra, y la torta del filtro se lava con agua (2 x 500 mililitros). El sólido se seca (40°C, aspiración, 48 horas), para dar el compuesto 2.

(b) Un matraz de 5 litros se carga con el 2 (270.2 gramos) y acetona (2.0 litros). La suspensión se enfría en un baño de hielo/metanol, y se agrega una solución de isonipectoato de etilo (165.7 gramos) y TEA (156.8 gramos) en acetona (700 mililitros) durante 1.43 horas. Después de que se termina la

adición, se remueve el baño de enfriamiento, y la mezcla se agita durante 2 horas. La reacción se procesa removiendo los volátiles mediante evaporación giratoria (35°C, aspiración). El sólido se tritura con HCl 0.5N (1,763 mililitros). La suspensión se filtra, y la torta del filtro se lava con agua (1.0 litros). El sólido se seca (40°C, aspiración, 3 días) para dar el compuesto **4**.

(c) Un matraz de 12 litros se carga con el **4** (342.4 gramos) y EtOAc (3.4 litros). Se agrega una solución de morfina (85.80 gramos) en EtOAc (340 mililitros) a temperatura ambiente durante 1.5 horas. La mezcla se agita durante 30 minutos. La reacción se procesa mediante la adición de carbón (35.2 gramos), y filtración a través de Celite. Los sólidos se lavan con EtOAc, y el filtrado se reduce a aproximadamente 2 litros mediante evaporación giratoria. Se agrega heptano (1.7 litros) a temperatura ambiente durante 2 horas, y la suspensión resultante se agita durante la noche. La suspensión se filtra, se lava con el licor madre, y se seca durante la noche (40°C, aspiración) para dar el **6**.

(d) Un matraz de 12 litros se carga con el compuesto **6** (324.7 gramos) y EtOAc (4.4 litros). La mezcla se calienta hasta que se disuelven todos los sólidos (aproximadamente 35°C). Se agregan 2,2-difenil-etanal (164.7 gramos), ortoaceta-

to de trimetilo (100.8 gramos), y TFA (4.35 gramos), y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 3 días. La reacción se procesa removiendo EtOAc mediante evaporador giratorio. El residuo se tritura con TBME (3.2 litros). La suspensión resultante se filtra, la torta del filtro se lava con TBME (320 mililitros), y se seca (40°C), aspiración, purga con N₂), para dar el compuesto 8.

(e) Un frasco Parr de 2.5 litros se carga con el compuesto 8 (118.8 gramos) y tetrahidrofurano (1.2 litros). La mezcla se calienta con agitación hasta que se disuelven todos los sólidos (aproximadamente 55°C). Se agrega paladio sobre carbón (al 10 por ciento, anhidro, 10.47 gramos), y la mezcla se agita bajo una atmósfera de hidrógeno (3.5 kg/cm²) a temperatura ambiente durante 24 horas. La reacción se procesa filtrando la mezcla a través de Celite. El tetrahidrofurano se remueve mediante evaporador giratorio. El residuo se tritura con TBME (1.1 litros). La suspensión resultante se filtra, la torta del filtro se lava con TBME (110 mililitros), y se seca (40°C, aspiración, purga con N₂), para dar el compuesto 9.

(f) Un matraz de 12 litros se carga con el 9 (326.8 gramos), tetrahidrofurano (3.3 litros), y NaOH 1.0 N (540 mililitros). La solución bifásica se agita a temperatura ambiente durante 24 horas. La reacción se procesa removiendo el tetrahidrofurano por medio de un evaporador giratorio. Se agrega agua

(1.0 litros) a la porción acuosa restante, y se agrega HCl 1.0N (600 mililitros) con agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. La suspensión resultante se filtra, la torta del filtro se lava con agua (1 litro), y se seca (40°C, aspiración, purga con N₂), para dar el compuesto del título.

Los compuestos de las fórmulas II, IV, V, VII, y IX son nuevos, y también son una modalidad de la presente invención.

Los siguientes ejemplos para los compuestos de la fórmula II, en donde R³ y R⁴ son juntos etileno, y *m* es 2, se preparan de una manera análoga al Ejemplo S1:

Ejemplo	-NR ¹ R ²	n	Ejemplo	-NR ¹ R ²	n
II.2	Z	0	II.13	E	0
II.3	A	0	II.14	A	1
II.4	B	0	II.15	Z	0
II.5	Z	0	II.16	A	0
II.6	D	0	II.17	Z	0
II.7	Z	0	II.18	Z	0
II.8	-N(CH ₃)CH ₂ CH ₃	0	II.19	Z	0
II.9	Z	0	II.20	Z	0
II.10	Z	0	II.21	Z	0
II.11	A	0	II.22	Z	0
II.12	Z	0			

En la tabla anterior A, B, Z, D, y E tienen los siguientes significados como se definieron anteriormente en la presente.

Los siguientes ejemplos para los compuestos de la fórmula II, en donde R^1 y R^2 , junto con el átomo de N con el que están unidos son morfolinilo, y R^4 es H, se preparan de una manera análoga al Ejemplo S1:

Ej.	R^3	m	n	Ej.	R^3	m	n
II.23	-CH ₃	1	1	II.27	-CH ₃	1	0
II.24	-CH ₃	1	1	II.28	bencilo	1	1
II.25	bencilo	1	0	II.29	-H	2	1
II.26	ciclohexilo	1	0	II.30	-CH ₃	3	1

Los compuestos de la invención, y sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables (posteriormente en la presente: Compuestos Farmacéuticos) tienen actividad farmacológica, y son útiles como productos farmacéuticos. En particular, los Compuestos Farmacéuticos exhiben actividad antagonista de bradiquinina. En particular, los Compuestos Farmacéuticos, por ejemplo los compuestos B1 y B2, son activos en el receptor de bradiquinina B₁ humano.

La interacción con el receptor de bradiquinina de los

Compuestos Farmacéuticos se demuestra por su capacidad para desplazar la bradiquinina en los sitios del receptor de bradiquinina humano, por ejemplo, como se demuestra de acuerdo con el siguiente método de prueba.

Prueba I: Ensayo de Enlace de Receptor de Bradiquinina

Clonación del ADNc del receptor B1 de bradiquinina humano: El receptor B1 de bradiquinina humano se clona a partir de células de fibroblasto celular de pulmón fetal humano WI38, mediante clonación de expresión en oocitos de *Xenopus laevis*, que no expresen los receptores B1 de bradiquinina normalmente. Se prepara una biblioteca de ADNc en la expresión del bacteriófago lambda ZAP, y se cultiva en grupos de aproximadamente 10,000 clones por grupo. Se prepara ADN de bacteriófago a partir de estos grupos, y se sintetiza ARN de copia con polimerasa de ARN T3, y después de la extracción con fenol y de la precipitación, se inyecta el ARN en los oocitos de *Xenopus*, y se le permite expresarse durante 3 días. Luego se ensayan los oocitos electrofisiológicamente utilizando un foco de voltaje de 2 electrodos, para una respuesta en un canal de cloruro endógeno que se puede activar mediante las proteínas de enlace de GTP heterotriméricas endógenas del tipo Gq/G11, que pueden acoplarse con los receptores de bradiquinina. Se aísla un clon positivo a partir de un grupo positivo por varias etapas de división del grupo hasta grupos más pequeños, y ensayando hasta que se

aísla un solo clon. Este ADNc se secuencia y se subclona en ADNpc3 (Clontech), y se utiliza para generar una línea celular que expresa el receptor B1 de bradiquinina humano.

Haciendo las células HEK: El ADNc del receptor B1 de bradiquinina humano se subclona en los sitios Kpn1 y Not1 del ADNpc3 (HB1-ADNpc3), se cultiva, y se transfecta a la línea celular de fibroblasto de riñón embrionario humano, HEK 293, utilizando el método de fosfato de calcio. Las células se cultivan en un Medio Esencial Mínimo con Sales de Earle (GIBCO), complementado con L-glutamina 2 mM, 100 unidades/mililitro de penicilina, 100 microgramos/mililitro de estreptomycin, aminoácidos no esenciales al 1 por ciento, y suero fetal de becerro de mioclon al 10 por ciento (GIBCO), en una atmósfera humidificada con CO₂ al 5 por ciento a 37°C.

Las células 293 Hek se dividen a 1:2 el día anterior a la transfección. Un matraz de 175 centímetros cuadrados con aproximadamente el 50 por ciento de células confluentes, se transfecta con aproximadamente 30 microgramos/mililitro del ADN HB1-ADNpc3, utilizando el método de transfección de precipitado en fosfato de calcio. El matraz de células transfectadas se divide a 1:3 en el día 2 después de la transfección, para impedir el sobre-crecimiento. Al día siguiente, las células se dividen a 1:5, y empieza la selección en 700 microgramos/mililitro de G418. El medio selectivo se cambia cada 3 a 4 días. Cuando se ven colonias resistentes a G418 distintas de células transfec-

102
101

tadas, aproximadamente 4 semanas después de la transfección, las células se clonan limitando la dilución, y se ensayan para determinar el enlace de [^3H]-desArg ^{10} -calidina. Se selecciona el clon con el enlace más alto para su uso posterior. Se tiene cuidado de no permitir que las células sobre-crezcan, y de mantener el G418 en el medio de cultivo.

Estas células HEK 293 que expresan el receptor B1 de bradiquinina humano, se utilizan para preparar membranas. Las células se homogeneizan en Tris-HCl 50 mM, EDTA 1 mM, pH de 7.4, a 10,000 rpm durante 30 segundos en un homogeneizador Polytron. Todas las operaciones subsecuentes se realizan a 4°C. La suspensión resultante se centrifuga durante 30 minutos a 28,000 x g. El gránulo se lava dos veces más mediante resuspensión en Tris-HCl (50 mM, pH 7.4) y recentrifugación. El gránulo final se vuelve a suspender en Tris-HCl (50 mM, pH 7.4), conteniendo glicerol al 5 por ciento, y se congela rápidamente sobre hielo seco en alícuotas de 500 microlitros, y se almacena a -80°C.

Para utilizarse en el ensayo de enlace, las membranas se descongelan, se homogeneizan, y se diluyen con regulador de enlace fisiológico (HEPES 10 mM, HBSS {NaCl 137 mM, KCl 5.4 mM, CaCl $_2$ 1.3 mM, KH $_2$ PO $_4$ 0.4 mM, NaHPO $_4$ 0.3 mM, MgCl $_2$ 0.5 mM, MgSO $_4$ 0.4 mM, glucosa 5.6 mM, pH de 7.4} conteniendo fenantrolina 1-10, 1 mM, y 0.14 gramos/litro de bacitracina. Los ensayos de enlace se realizan en tubos de ensayo de polipropileno de 1.2

mililitros (incorporados en un bloque de pozo profundo de 96, o tubos Micronics individuales) conteniendo un volumen final de 0.5 mililitros. La composición del ensayo es de 425 microlitros de suspensión de membrana (aproximadamente 20 microgramos de proteína por tubo) en regulador de enlace fisiológico, 50 microlitros de [^3H]-desArg¹⁰-calidina (actividad específica de 95 Ci/mMol; 6.0 ± 0.5 nM), 25 microlitros de sulfóxido de dimetilo, o bien de desArg¹⁰-calidina no marcada (20 μM), o diferentes concentraciones de los compuestos de prueba hechos en sulfóxido de dimetilo. El enlace específico con el receptor B1 de bradiquinina se define como la diferencia entre aquél encontrado en los tubos enlazados totales, y aquél encontrado en los tubos de enlace no específico. La reacción se inicia con la adición de membranas, y se incuban a 4°C durante 60 minutos. La reacción se termina mediante filtración rápida de la mezcla del ensayo a través de placas de filtro Canberra Packard Unifilter-96 GF/B (que se han remojado previamente en polietilenimina al 0.6 por ciento durante 2 a 3 horas a temperatura ambiente). Los filtros se lavan cuatro veces con alícuotas de 1 mililitro de regulador de lavado helado. Se agrega cintilante líquido Microscintillant-40 a los filtros, y se determina la radioactividad enlazada en un contador de cintilación Canberra Packard Topcount. Los parámetros de enlace se derivan a partir de un ajuste de curva iterativa no lineal de 3 ó 4 conjuntos de datos de una manera simultánea, utilizando un modelo logístico en Mi-

crococal^{MR} Origin.

Los valores K_i son de 0.063 μM para el antagonista de péptido desArg¹⁰HOE[(D-Arg-[Hyp³, Thi⁵, D-Tic⁷, Oic⁸]desArg⁹-bradiquinina) = (D-Arginina-[hidroxiprolina³, tieniamina⁵, ácido D-tetrahidroxiquinolin-3-carboxílico⁷, ácido octahidroindol-2-carboxílico⁸]desArginina⁹-bradiquinina)], y en la escala de 0.5 nM a 2 μM para los Compuestos Farmacéuticos.

De acuerdo con lo anterior, los Compuestos Farmacéuticos son útiles como antagonistas del receptor B1 de bradiquinina, por ejemplo, en el tratamiento de enfermedades y condiciones en donde tenga un papel o esté implicada la activación del receptor B1. Estas condiciones incluyen en particular dolor, en particular, dolor crónico, especialmente inflamatorio, por ejemplo dolor inflamatorio crónico, enfermedades inflamatorias, por ejemplo enfermedad inflamatoria de las vías aéreas, por ejemplo COPD, o en asma, rinitis, enfermedad inflamatoria del intestino, cistitis, por ejemplo cistitis intersticial, pancreatitis, uveitis, desórdenes inflamatorios de la piel, y artritis reumatoide.

Por consiguiente, los Compuestos Farmacéuticos son útiles como antagonistas del receptor BK₁ de bradiquinina, por ejemplo para el tratamiento de dolor de diferente génesis o etiología, y como agentes anti-inflamatorios y anti-edémicos, para el tratamiento de reacciones, enfermedades, o condiciones inflamatorias, así como para el tratamiento de respuestas alér-

gicas mediadas por bradiquinina. Considerando su perfil analgésico/anti-inflamatorio, son útiles para el tratamiento de dolor inflamatorio, para el tratamiento de hiperalgesia, y en particular, para el tratamiento de dolor crónico severo. Por ejemplo, son útiles para el tratamiento de dolor, inflamación, y/o edema a consecuencia de trauma, por ejemplo asociado con quemaduras, dislocaciones, fracturas, o similares, subsecuente a intervención quirúrgica, por ejemplo como analgésicos post-operativos, así como para el tratamiento de dolor inflamatorio de diversa génesis, por ejemplo para el tratamiento de osteoartritis y artritis reumatoide, y enfermedad reumática, tenosinovitis, y gota. Además, son adecuados como analgésicos para el tratamiento de dolor asociado con, por ejemplo, angina, menstruación, o cáncer. Como agentes anti-inflamatorios/anti-edema, son además útiles, por ejemplo, para el tratamiento de desórdenes inflamatorios de la piel, por ejemplo psoriasis y eczema.

Como antagonistas del receptor BK1 de bradiquinina, los Compuestos Farmacéuticos también son útiles como relajantes del músculo liso, por ejemplo para el tratamiento de espasmo del tracto gastrointestinal o del útero, por ejemplo en la terapia de enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, o pancreatitis.

Los Compuestos Farmacéuticos son en particular útiles como agentes para la terapia de la hiperreactividad de las vías

aéreas, y para el tratamiento de eventos inflamatorios asociados con enfermedad de las vías aéreas, en particular asma. En adición, los Compuestos Farmacéuticos, por ejemplo, se pueden utilizar para el control, la restricción, o la reversión de hiperreactividad de las vías aéreas en asma.

Las enfermedades inflamatorias u obstructivas de las vías aéreas a las que es aplicable la presente invención incluyen asma de cualquier tipo o génesis, incluyendo tanto intrínseca como especialmente asma extrínseca. Por consiguiente, los Compuestos Farmacéuticos son útiles para el tratamiento de asma alérgica, ya sea atópica (es decir, mediada por IgE) o no atópica, así como, por ejemplo, asma inducida por ejercicio, asma ocupacional, asma inducida en seguida de infección bacteriana, otras asmas no alérgicas, y "síndrome de bebé jadeante".

La eficacia en el tratamiento de asma será evidenciada por una frecuencia o severidad reducida del ataque sintomático, por ejemplo del ataque asmático agudo o broncoconstrictor, y por un requerimiento reducido de otra terapia sintomática, por ejemplo una terapia anti-inflamatoria (por ejemplo, corticosteroide) o broncodilatadora (por ejemplo, β_2 -adrenérgica).

Las enfermedades inflamatorias u obstructivas de las vías aéreas a las que es aplicable la presente invención incluyen además neumoconiosis (una enfermedad inflamatoria, comúnmente ocupacional, de los pulmones, frecuentemente acompañada

por inhalación repetida de polvos) de cualquier tipo o génesis, incluyendo, por ejemplo, aluminosis, antracosis, asbestosis, calicosis, ptilosis, siderosis, silicosis, tabacosis, y en particular bisinosis.

Otras enfermedades o condiciones inflamatorias u obstructivas de las vías aéreas para las que se pueden utilizar los Compuestos Farmacéuticos incluyen síndrome de insuficiencia respiratoria de adultos (ARDS), enfermedad pulmonar o de las vías aéreas crónica (COPD ó COAD), y bronquitis. Los Compuestos Farmacéuticos también se pueden utilizar para el tratamiento de rinitis alérgica y vasomotora (agregar "lo que esta en Dorland's (comentario de Gordon)).

En adición, los Compuestos Farmacéuticos anteriores también se indican para utilizarse en la terapia de choque séptico, por ejemplo como agentes anti-hipovolémicos y/o anti-hipotensivos, en el tratamiento de enfermedad inflamatoria del intestino, edema cerebral, dolor de cabeza, migraña, y enfermedad inflamatoria de la piel, tal como eczema y psoriasis, y de síndenes inflamatorios del intestino, por ejemplo síndrome de intestino irritable, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, cistitis, por ejemplo cistitis intersticial, nefritis, uveitis. Los compuestos Farmacéuticos se indican también para uso en el tratamiento de enfermedad de Alzheimer y como agentes anti-proliferativos para el tratamiento de cáncer.

Para las indicaciones anteriores, la dosificación

apropiada de los Compuestos Farmacéuticos, por supuesto, variará dependiendo, por ejemplo, del huésped, del modo de administración, y de la naturaleza y severidad de la condición que se esté tratando, así como de la potencia relativa del Compuesto Farmacéutico particular empleado. Sin embargo, en general, se indica que se obtienen resultados satisfactorios en animales en dosificaciones diarias de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 20.0 miligramos/kilogramo oralmente. En seres humanos, una dosificación diaria indicada está en la escala de aproximadamente 0.7 a aproximadamente 1,400 miligramos/día oralmente, convenientemente administrados una vez o en dosis divididas hasta cuatro veces al día, o en una forma de liberación sostenida. Las formas de dosificación oral de acuerdo con lo anterior, comprenden adecuadamente de aproximadamente 1.75 ó 2.0 a aproximadamente 700 ó 1,400 miligramos del Compuesto Farmacéutico mezclado con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable apropiado para el mismo.

De una manera alternativa, los Compuestos Farmacéuticos se pueden administrar, por ejemplo, tópicamente en la forma de una crema, gel, o similar, por ejemplo, para el tratamiento de condiciones de la piel como se describen anteriormente en la presente, o mediante inhalación, por ejemplo en forma de polvo seco, por ejemplo para el tratamiento de asma.

Los Compuestos Farmacéuticos también son útiles como productos químicos de investigación.

De acuerdo con lo anterior, la presente invención también proporciona:

(1) Un compuesto farmacéutico para utilizarse como un antagonista del receptor BK1 de bradiquinina, por ejemplo para utilizarse en cualquiera de las indicaciones particulares estipuladas anteriormente en la presente;

(2) una composición farmacéutico que comprende un compuesto farmacéutico como en (1) como ingrediente activo, junto con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para el mismo;

(3) Un método para el tratamiento de cualquier indicación particular estipulada anteriormente en la presente en un sujeto que lo necesite, el cual comprende administrar una cantidad efectiva de un compuesto farmacéutico como en (1);

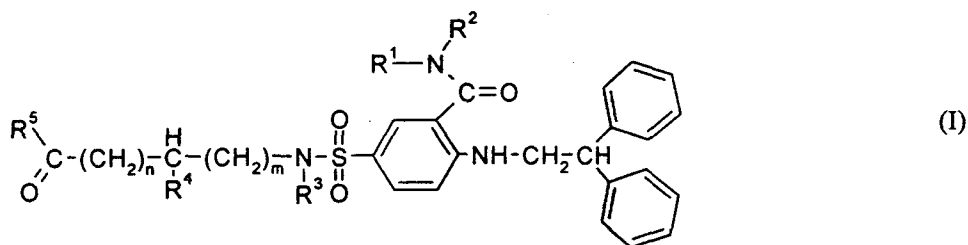
(4) un proceso para la preparación de un compuesto como en (1).

Los Compuestos Farmacéuticos preferidos para utilizarse de acuerdo con la invención, son aquéllos de los ejemplos 1 y 2.

REIVINDICACIONES

1. Una amida de ácido 2-(2,2-difeniletilamino)-5-(4-aminocarbonil-piperidin-1-sulfonil)-benzoico o una amida de ácido 2-(2,2-difeniletilamino)-5-(aminocarbonil-alquilenos de 2 a 4 átomos de carbono-aminosulfonil)-benzoico, o una sal de las mismas.

2. Un compuesto de la fórmula I:



en donde:

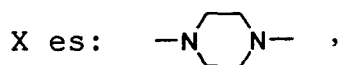
R^1 y R^2 son independientemente alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, o junto con el átomo de N con el que están unidos, representan un anillo heterocíclico de 5 a 7 miembros;

(a) R^3 y R^4 son juntos etileno, y m es 2; ó

(b) R^3 es H, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, cicloalquilo de 5 a 7 átomos de carbono, o fenilalquilo de 1 a 4 átomos de carbono, R^4 es H, y m es 1 ó 2 ó 3;

n es 0 ó 1; y

R^5 es $-X-R^6$ ó $-N(R^7)R^8$, en donde:



R^6 es alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquénilo

de 3 a 4 átomos de carbono, alquinilo de 3 a 4 átomos de carbono, (alcoxialquilo) de 1 a 4 átomos de carbono, (carboxialquilo) de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo heterocíclico de 5 a 7 átomos de carbono, o fenilalquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

R^7 es aminoalquilo de 2 a 4 átomos de carbono, o mono- ó di-(alquilo de 1 a 5 átomos de carbono)aminoalquilo de 2 a 5 átomos de carbono, y

R^8 es H, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, o tiene los significados dados para R^7 ;

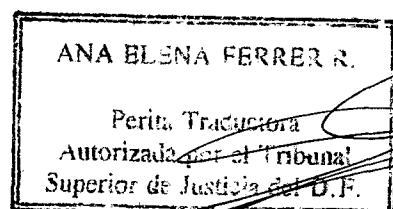
y sales del mismo.

3. Una composición farmacéutica que comprende, o el uso de, una amida del ácido 2-(2,2-difeniletilamino)-5-(4-aminocarbonil-piperidin-1-sulfonil)-benzoico ó una amida del ácido 2-(2,2-difeniletilamino)-5-(aminocarbonil-alquilenos de 2 a 4 átomos de carbono-aminosulfonil)-benzoico, o sales farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la reivindicación 1, sustancialmente como se describió anteriormente en la presente.

4. Una amida del ácido 2-(2,2-difeniletilamino)-5-(4-aminocarbonil-piperidin-1-sulfonil)-benzoico ó una amida del ácido 2-(2,2-difeniletilamino)-5-(aminocarbonil-alquilenos de 2 a 4 átomos de carbono-aminosulfonil)-benzoico, o sales farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la reivindicación 1, para cualquier uso, sustancialmente como se describió anteriormente en la presente.

Yo, ANA ELENA FERRER RAMÍREZ, Perita Traductora Autorizada por el Tribunal Superior de Justicia del D.F., y miembro de la Organización Mexicana de Traductores, A.C., con domicilio en Av. Clavería 224-205, Col. Clavería, México, D.F. 02080, Tels. 5396 2669 y 5396 5201, certifico que el documento precedente es, a mi leal saber y entender, una traducción fiel y exacta del documento original en idioma inglés que tuve a la vista.

México, D.F., 31 de mayo de 2000



Ana Elena Ferrer Ramírez