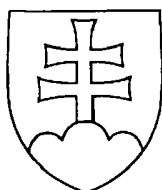


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA

- (22) Dátum podania prihlášky: **15. 12. 2000**
 (31) Číslo prioritnej prihlášky: **9904675-7**
 (32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **20. 12. 1999**
 (33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **SE**
 (40) Dátum zverejnenia prihlášky: **2. 5. 2003**
 Vestník ÚPV SR č.: **5/2003**
 (62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
 (86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/SE00/02560**
 (87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO01/46263**

(11), (21) Číslo dokumentu:

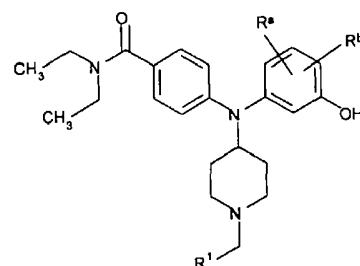
884-2002(13) Druh dokumentu: **A3**(51) Int. Cl.⁷:

C07D401/06,
C07D405/06,
C07D409/06,
A61K 31/4468,
A61K 31/4525,
A61K 31/4535,
A61K 31/454,
A61P 25/04

- (71) Prihlasovateľ: **AstraZeneca AB, Södertälje, SE;**
 (72) Pôvodca: **Brown William, St. Laurent, Quebec, CA;**
Walpole Christopher, St. Laurent, Quebec, CA;
 (74) Zástupca: **Žovicová Viera, Mgr., Bratislava, SK;**

(54) Názov **Deriváty benzamidů, farmaceutické kompozície s ich obsahom a ich použitie**

- (57) Anotácia:
 Opisujú sa deriváty benzamidů všeobecného vzorca (I), v ktorom R¹ je zvolené zo skupiny zahrnujúcej fenyľ, pyridinyl, tiofenyl, furanyl a imidazolyl; pričom každý R¹ fenylový kruh a R¹ heteroaromatický kruh môže byť prípadne a nezávisle ďalej substituovaný jedným, dvomi alebo tromi substituentmi, ktoré sú zvolené zo skupiny zahrnujúcej lineárnu a rozvetvenú C₁-C₆-alkylo-vú skupinu, NO₂, CF₃, C₁-C₆-alkoxyskupinu, chlór, fluór, bróm a jód. Substitúcie na fenylovom kruhu a na heteroaromatickom kruhu sa môžu v akejkoľvek polohe na uvedených kruhových systémoch; R^a a R^b je každý a navzájom nezávisle zvolený zo skupiny zahrnujúcej vodík, lineárnu a rozvetvenú C₁-C₆-alkylovú skupinu, NO₂, CF₃, C₁-C₆-alkoxyskupinu, chlór, fluór, bróm a jód; opísané a chránené sú taktiež farmaceuticky prijateľné soli, farmaceutické kompozície obsahujúce tieto zlúčeniny a ich použitie pri liečení, predovšetkým pri liečbe bolesti.



(I)

Deriváty benzamidu, farmaceutické kompozície s ich obsahom a ich použitie

Oblast' tekhniki

Predložený vynález sa týka derivátov benzamidu, ich použitia a farmaceutických kompozícií obsahujúcich tieto deriváty. Deriváty benzamidu sú využiteľné v terapii a predovšetkým pri liečení bolesti.

Doterajší stav techniky

Receptor δ bol identifikovaný ako receptor, ktorý má úlohu pri mnohých telesných funkciách, ako sú cirkulačné systémy a systémy bolesti. Ligandy pre receptor δ môžu teda nájsť potenciálne využitie ako analgetické a/alebo ako antihypertenzívne činidlá. Taktiež sa ukázalo, že ligandy pre receptor δ vykazujú imunomodulačné aktivity.

Identifikácia najmenej troch rozličných populácií opioidných receptorov (μ , δ a κ) je v súčasnosti veľmi dobre potvrdená a všetky tri sa zjavne vyskytujú ako v centrálnom tak aj v periférnom nervovom systéme mnohých druhov, vrátane človeka. Analgézia sa pozorovala pri mnohých živočíšnych modeloch, ak sa aktivoval jeden alebo viac týchto receptorov.

Až na niekoľko výnimiek, v súčasnosti dostupné selektívne opioidné δ ligandy majú peptidickú povahu a nie sú vhodné na podávanie systémovými cestami. Jedným príkladom nepeptidického δ -agonistu je SNC80 (Bilsky E.J. a kol., Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 273, (1), str. 359-366 (1995)). Jestvuje tu však pretrvávajúca potreba selektívnych δ -agonistov, ktoré by mali nielen zlepšenú selektivitu, ale tiež zlepšený profil vedľajších účinkov.

Základným problémom, ktorý rieši predložený vynález bolo teda nájsť nové analgetiká, ktoré majú zlepšené analgetické účinky, ale tiež vykazujú zlepšený profil vedľajších účinkov v porovnaní so súčasnými μ agonistami, a taktiež vykazujú zlepšenú systémovú účinnosť.

Analgetiká, ktoré boli schválené a sú súčasťou doterajšieho stavu techniky, majú mnohé nevýhody v tom, že majú slabé farmakokinetiky a nepôsobia

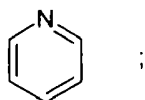
Teraz sme zistili, že niektoré zlúčeniny, ktoré neboli špecificky opísané, ale sú zahrnuté do rozsahu medzinárodného patentového dokumentu WO 98/28270, vykazujú prekvapujúco zlepšené δ -agonistické vlastnosti a účinnosť *in vivo*, ak sa podávajú systémovo. V porovnaní so zlúčeninami opísanými v medzinárodnom patentovom dokumente WO 98/28270, zlúčeniny podľa predloženého vynálezu vykazujú signifikantné a neočakávane zvýšené hladiny agonizmu delta receptora a metabolickú stabilitu.

Deriváty benzamidu podľa predloženého vynálezu sa dajú znázorniť všeobecným vzorcom I

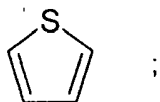


R¹ je zvolené zo skupiny zahrňujúcej jeden z nasledujúcich substituentov

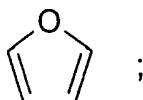
- (ii) pyridinyl



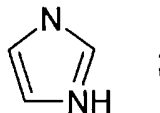
(iii) tiofenyl



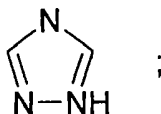
(iv) furanyl



(v) imidazolyl



(vi) triazolyl



kde každý R^1 fenylový kruh a R^1 heteroaromatický kruh môžu byť prípadne a nezávisle ďalej substituované jedným, dvomi alebo tromi substituentmi, ktoré sú zvolené zo skupiny zahrňujúcej lineárnu a rozvetvenú C_1 - C_6 -alkylovú skupinu, NO_2 , CF_3 , C_1 - C_6 -alkoxyskupinu, chlór, fluór, bróm a jód. Substitúcie na fenylovom kruhu a na heteroaromatickom kruhu sa môžu uskutočňovať v akejkoľvek polohe na uvedených kruhových systémoch;

R^a a R^b je každý a navzájom nezávisle od seba, zvolený zo skupiny zahrňujúcej vodík, lineárnu a rozvetvenú C_1 - C_6 -alkylovú skupinu, NO_2 , CF_3 , C_1 - C_6 -alkoxyskupinu, chlór, fluór, bróm a jód. Substituenty R^a a R^b môžu byť umiestnené v akejkoľvek orto-, meta- a para-polohe na fenolovom kruhu. Výhodne R^a a R^b obidva znamenajú vodík.

Do rozsahu predloženého vynálezu sú tiež zahrnuté farmaceuticky prijateľné soli zlúčenín vzorca I.

V prípade, ak je fenylový kruh a heteroaromatický kruh (kruhy) substituovaný (substituované), výhodné substituenty sú zvolené zo skupiny zahrňujúcej ktorýkoľvek zo substituentov, ako je CF_3 , metyl, jód, bróm, fluór a chlór.

Deriváty benzamidu podľa predloženého vynálezu sú využiteľné pri liečení, predovšetkým pri liečení rozličných stavov bolesti, ako je chronická bolesť, neuropatická bolesť, akútna bolesť, bolesť pri rakovine, bolesť spôsobená reumatoidnou artritídou, migréna, viscerálna bolesť a podobne. Tento zoznam sa však nemôže interpretovať ako vyčerpávajúci.

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sú využiteľné ako imunomodulátory, predovšetkým pri autoimunitných ochoreniach, ako je artritída, pri kožných štepoch, transplantáciách orgánov a podobných chirurgických zákrokoch, pri kolagenóze, rozličných alergiách, na použitie ako anti-nádorové činidlá a anti-vírusové činidlá.

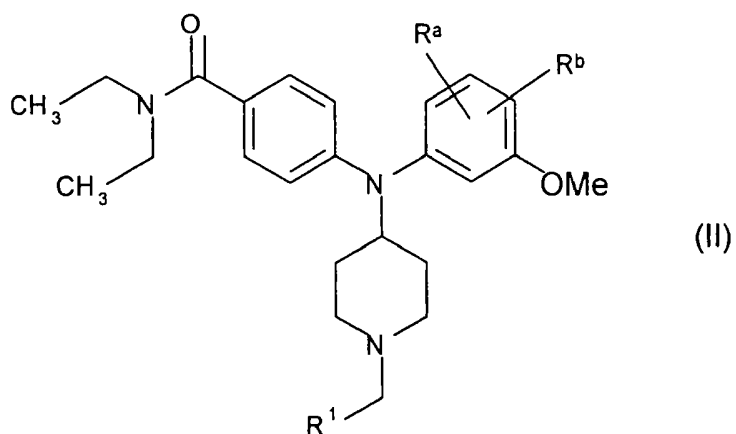
Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sú využiteľné pri chorobných stavoch, pri ktorých sa degenerácia alebo dysfunkcia opioidných receptorov vyskytuje alebo sa podieľa na takejto paradigme. Toto môže zahrňovať použitie izotopicky značených foriem zlúčenín podľa vynálezu v diagnostických metódach a zobrazujúcich aplikáciách, ako je pozitronová emisná tomografia (PET).

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sú využiteľné pri liečení ochorení, ako je diarea, depresia, úzkosť, močová inkontinencia, rozličné mentálne ochorenia, kašeľ, edém pľúc, rozličné gastro-intestinálne ochorenia, poranenia chrbtice a závislosť na drogách, vrátane liečenia závislosti na alkohole, nikotíne, opiátoch a nadmerného užívania liekov, a pri liečení ochorení sympatického nervového systému, napríklad hypertenzie.

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sú využiteľné ako analgetické činidlo na použitie počas celkovej anestézie a monitorovanej anestetickej starostlivosti. Kombinácie čínidiel s rozličnými vlastnosťami sa často používajú na dosiahnutie rovnováhy účinkov potrebných na udržanie anestetického stavu (t.j. amnézie, analgézie, relaxácie svalov a upokojenia). Do tejto kombinácie sú zahrnuté inhalované anestetiká, hypnotiká, anxiolytiká, neuromuskulárne blokátory a opioidy.

Do rozsahu predloženého vynálezu je taktiež zahrnuté použitie ktorejkoľvek zo zlúčenín vyššie uvedeného vzorca I, na výrobu liečiva na liečenie niektorého z vyššie uvedených stavov.

Do rozsahu predloženého vynálezu sú tiež zahrnuté medziprodukty zlúčenín vzorca II, ktoré sú využiteľné pri syntéze vyššie uvedených zlúčenín vzorca I

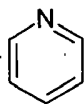


v ktorom

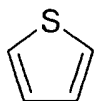
R¹ je zvolené zo skupiny zahrňujúcej jeden z nasledujúcich substituentov

(i) fenyl;

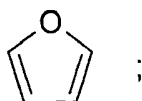
ii) pyridinyl



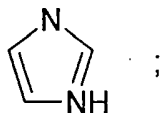
(iii) tiofenyl



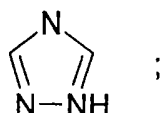
(iv) furanyl



(v) imidazolyl



(vi) triazolyl

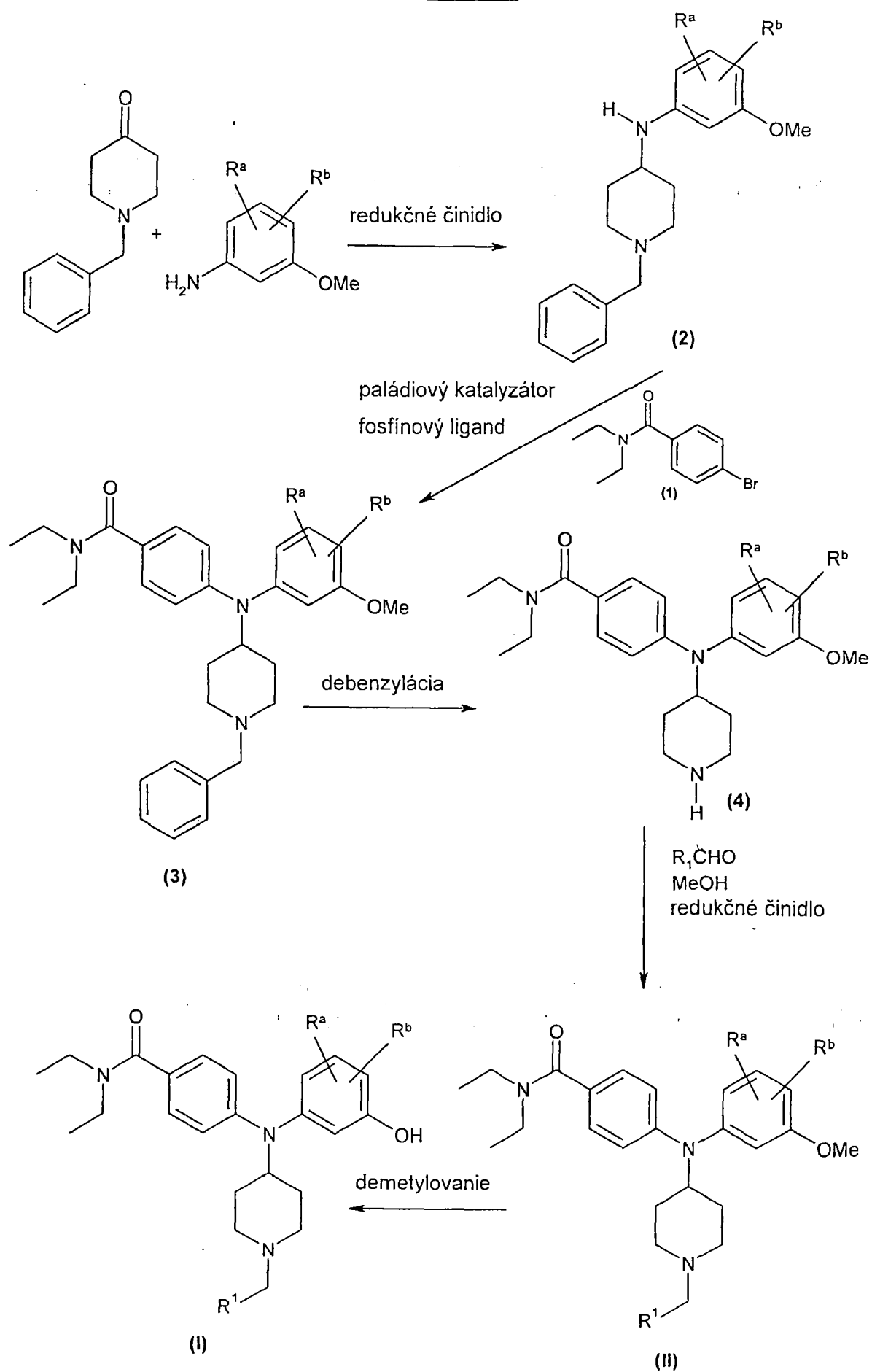


kde každý R^1 fenylový kruh a R^1 heteroaromatický kruh môžu byť prípadne a nezávisle ďalej substituované jedným, dvomi alebo tromi substituentmi, ktoré sú zvolené zo skupiny zahrňujúcej lineárnu a rozvetvenú C_1 - C_6 -alkylovú skupinu, NO_2 , CF_3 , C_1 - C_6 -alkoxyskupinu, chlór, fluór, bróm a jód. Substitúcie na fenylovom kruhu a na heteroaromatickom kruhu sa môžu uskutočňovať v akejkoľvek polohe na uvedených kruhových systémoch; R^a a R^b je každý a navzájom nezávisle od seba, zvolený zo skupiny zahrňujúcej vodík, lineárnu a rozvetvenú C_1 - C_6 -alkylovú skupinu, NO_2 , CF_3 , C_1 - C_6 -alkoxyskupinu, chlór, fluór, bróm a jód;

Spôsoby prípravy

I. Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sa môžu pripraviť s použitím nasledujúceho postupu opísaného nižšie na Schéme I. Tieto známe postupy sú opísané v: C. G. Frost and P. Mendonca; Perkin 1 (1998), 2615; a v: J. F. W. McOmie, M. L. Watts, D. E. West, Tetrahedron, 1969, 24, 2289; ktoré sú tu týmto začlenené formou odkazu.

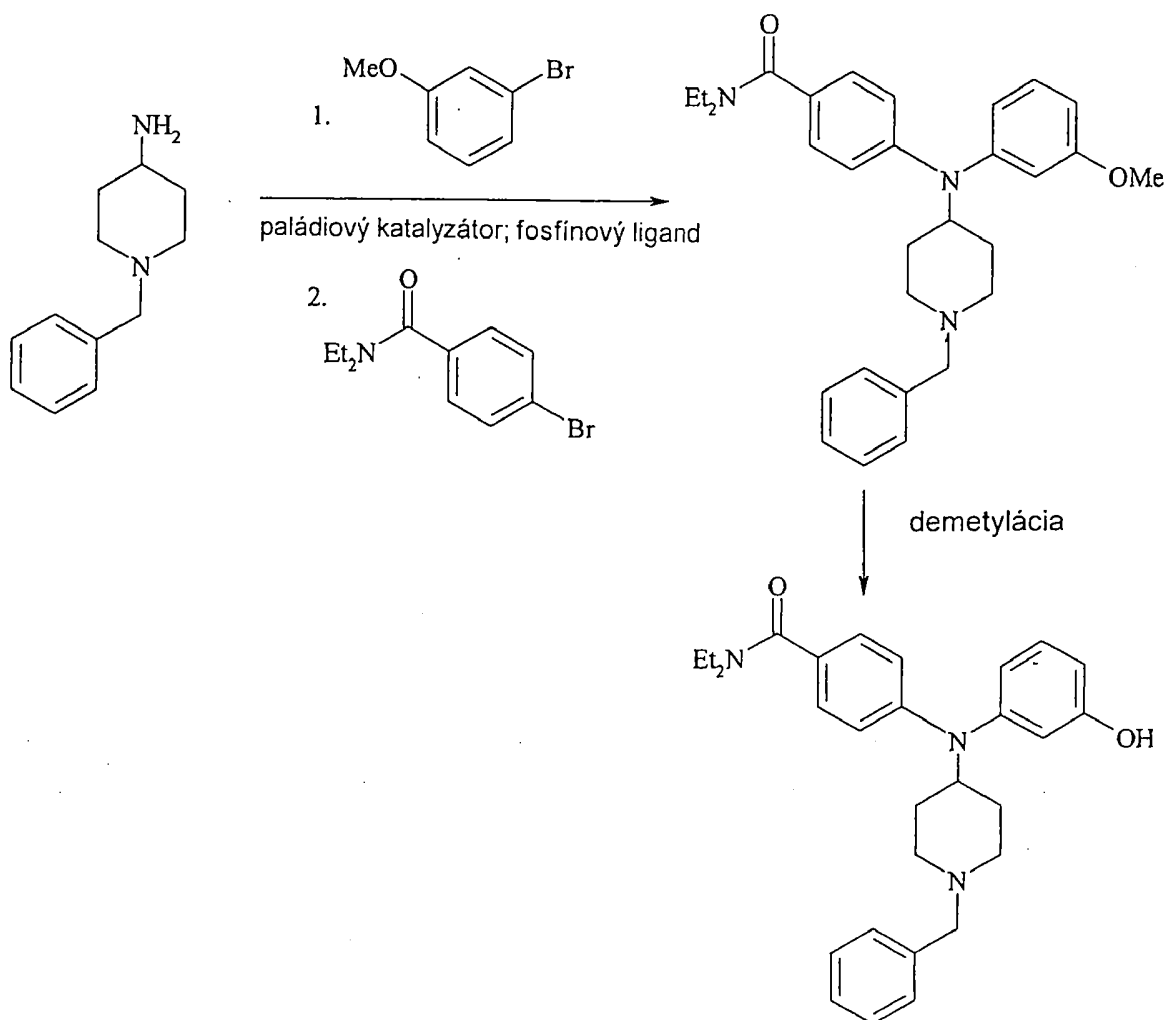
Schéma I



Vo vyššie uvedenej Schéme I, R^1 , R^a a R^b majú významy definované pre vyššie uvedené zlúčeniny vzorca I.

II. Alternatívne sa syntéza môže uskutočniť ako je uvedené nižšie na Schéme 2, pomocou dvojnásobnej arylácie v jednej reakčnej nádobe (one pot) (ako je opísané v: C. G. Frost and P. Mendonca; Perkin 1 (1998), 2615) komerčne dostupného 4-amino-1-benzylpiperidínu, pričom sa získa medziprodukt 3 zo Schémy 1. Pre R^1 = fenyľ, sa finálny produkt potom môže pripraviť selektívnym éterovým štiepením (J .F. W. McOmie, M. L. Watts, D. E. West, Tetrahedron, 1969, 24, 2289), ako je uvedené nižšie na Schéme 2.

Schéma 2



Príklady uskutočnenia vynálezu

Predložený vynález bude v ďalšom opísaný podrobnejšie pomocou nasledujúcich príkladov, ktoré sa v žiadnom prípade nemôžu chápať ako obmedzenie rozsahu predloženého vynálezu.

I.

(i) Príprava 4-bróm-*N,N*-dietylbenzamidú (zlúčenina 1)

K ľadovo chladnému roztoku 4-brómbenzylchloridu (19,5 g, 86,8 mmol) v 150 ml CH_2Cl_2 sa po kvapkách pridal dietylamin (13,5 ml, 130 mmol). Reakčná zmes sa miešala cez noc a potom sa zahustila. Zmes sa vytrepala do éteru a 1 N HCl a vodná vrstva sa oddelila. Organická vrstva sa extrahovala ešte dvakrát s éterom, potom sa premyla so soľankou a vysušila sa nad Na_2SO_4 . Výsledný olej sa vytrepal do etylacetátu a nechal sa kryštalizovať. Dve ďalšie kryštalizácie matečného lúhu poskytli 18,6 g, 83,6 % produktu.

(ii) Príprava *N*-(3-metoxyfenyl)-1-(fenylmetyl)-4-piperidínaminu (zlúčenina 2)

K 1-benzylpiperidónu (10 ml, 0,56 mmol) a 3-metoxyanilínu (7,5 ml, 67,2 mmol) sa pridal $\text{Ti}(\text{i-OPr})_4$ (33,3, 112,06 mmol). Reakčná zmes sa miešala do ukončenia reakcie, ktoré sa stanovilo pomocou plynovej chromatografie. Potom sa pridal EtOH (200 ml) a následne sa pridal NaBH_4 (3,18 g, 84 mmol). Reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote. Pokračovanie reakcie sa monitorovalo pomocou plynovej chromatografie. Po ukončení sa k bielej zmesi pridal NH_4OH a v miešaní sa pokračovalo počas ďalších 30 minút. Táto zmes sa potom zriedila s CH_2Cl_2 a následne sa pridal Celit. Výsledná kaša sa prefiltrovala a filtrát sa extrahoval niekoľkokrát s CH_2Cl_2 . Spojené organické fázy sa zahustili a produkt sa prečistil pomocou bleskovej chromatografie (zmes hexány : acetón v pomere 1 : 1). Získal sa výťažok 13,6 g, 82 % produktu. Prečistenie sa môže tiež dosiahnuť pomocou Kugelrohrovej destilácie pod vysokým vákuom pri tlaku 2×10^{-3} mbar pri teplote približne 225 °C. 25,6 g benzylpiperidónu poskytlo 28,4 g, 71,6 % produktu.

(iii) Príprava *N,N*-dietyl-4-[(3-metoxyfenyl)[1-(fenylmetyl)-4-piperidiny]amino]-3-benzamidú (zlúčenina 3)

Do 250 ml RB baničky sa v suchom boxe pod N_2 atmosférou pridalo 10 g (0,34 mmol, 1 ekv.) zlúčeniny 2, 13 g (50,7 mmol, 1,5 ekv.) zlúčeniny 1, $Pd_2(dba)_3$ (783 mg, 0,85 mmol), BINAP (784 mg, 1,26 mmol) a Nat-OBu, (6,53 g, 68 mmol, 2 ekv.). K tejto zmesi sa trubičkou pridal toluén do troch štvrtín objemu baničky. Zmes sa potom zahrievala pri teplote 110 °C počas približne 6 hodín, až do vymiznutia zlúčeniny 2, ako sa stanovilo pomocou HPLC. Reakčná zmes sa nechala ochladiť. Pridal sa éter a suspenzia sa prefiltrovala cez Celit a zahustila sa. Tento olej sa vytrepal do éteru a nechal sa stáť sa počas 15 minút a potom sa znova prefiltroval cez Celit. Filtrát sa extrahoval päťkrát s 2 N HCl. Vodná fáza sa potom zalkalizovala so 4 N NaOH a extrahovala sa s éterom. Spojené éterové vrstvy sa vysušili nad Na_2SO_4 , prefiltrovali sa a zahustili. Výsledný olej sa vytrepal do zmesi etylacetát/hexán a nechal sa stáť cez víkend. Filtráciou sa získalo 8 g pevnej látky (50 %) a táto sa premyla so zmesou etylacetát/hexány v pomere 8 : 2. Zostávajúci produkt sa zo zahusteného matečného lúhu neizoloval.

(iv) Príprava *N,N*-dietyl-4-[(3-metoxifyenyl)-4-piperidinylamino]-benzamidú
(zlúčenina 4)

K roztoku zlúčeniny 3 (2,5 g, 5,3 mmol) v 1,2-dichlóretáne sa pri teplote 0 °C pridal α -chlóretylchlórformiát (0,93 ml, 8,6 mmol). Reakčná zmes sa potom refluxovala počas 3 hodín a miešala sa cez noc pri laboratórnej teplote. Rozpúšťadlo sa odstránilo a výsledný olej sa vytrepal do metanolu a refluxoval sa počas 3 hodín. Tento sa potom zahustený vytrepal do CH_2Cl_2 a extrahoval sa päťkrát s 1 N HCl. Spojené vodné vrstvy sa zalkalizovali s 5 N NaOH a extrahovali sa niekoľkokrát s CH_2Cl_2 . Organické vrstvy sa zahustili a výsledný olej sa prečistil pomocou bleskovej chromatografie na silikagéle so zmesou CH_2Cl_2 /2 % MeOH, pričom sa polarita zvyšovala na 20 %. Výťažok predstavoval 1,68 g, 83 %.

II. Všeobecná syntéza zlúčenín vzorca II

K roztoku zlúčeniny 4 (1,05 mmol, 1 ekv.) v 10 ml metanolu sa pridal heterocyklický alebo aromatický aldehyd (1,58 mmol, 1,5 ekv.) a následne sa pridal $NaBH_3CN$ (1,05 mmol, 3 ekv.). Hodnota pH reakčnej zmesi sa potom nastavila na približne 6, s použitím ľadovej kyseliny octovej. Reakčná zmes sa miešala cez noc. Pridala sa 2 N HCl a v miešaní sa pokračovalo počas jednej hodiny. Táto zmes sa

potom zahustila, aby sa odstránil metanol, zalkalizovala sa s NaOH a extrahovala sa s CH_2Cl_2 a následne sa vysušila nad Na_2SO_4 . Prečistenie sa uskutočnilo pomocou bleskovej chromatografie na silikagéle s použitím zmesi $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ s postupným gradientom. Zvýšenie polarity z 0,025 % na 4 % MeOH poskytlo čistý produkt.

III. Všeobecná syntéza fenolových zlúčenín vzorca I

K roztoku zlúčeniny 5 (1 ekv.) v CH_2Cl_2 sa pri teplote -78°C pridali 3 ekvivalenty BBR_3 (1 M v CH_2Cl_2). Zmes sa miešala počas približne 45 minút, potom pri laboratórnej teplote počas 2 hodín. Pridal sa MeOH a následne sa pridala nasýtená NaHCO_3 . Fázy sa oddelili a vodná vrstva sa niekoľkokrát extrahovala s CH_2Cl_2 . Spojené organické vrstvy sa vysušili nad MgSO_4 a zahustili sa. Prečistenie sa uskutočnilo pomocou bleskovej chromatografie na silikagéle so zmesou $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ v pomere 100/0,25, s pomaly sa zvyšujúcim množstvom MeOH. Ďalšie prečistenie sa môže vo väčšine prípadov dosiahnuť kryštalizáciou z etylacetátu. Prečistenie sa taktiež dosiahne s použitím HPLC s reverznou fázou s gradientom 0,1 % T-FA v $\text{H}_2\text{O}/0,1\%$ TFA v CH_3CN .

Tvorba HCl-soli: K miešanému roztoku 1,1 g voľného amínu v 10 ml suchého CH_2Cl_2 sa pridalo 40 ml suchého éteru a následne sa pridalo 20 ml 1 N HCl v étere. Pridalo sa ďalších 40 ml suchého éteru a biela suspenzia sa miešala počas 30 minút. Pod prúdom N_2 sa pevná látka zachytila filtráciou a premyla sa s éterom. Produkt je hygroskopický. Pred vysušením pevnej látky sa Büchnerov lievnik umiestnil bezprostredne pod vnútorné vákuum v desikátore cez noc. Zachytilo sa 1,14 g bielej pevnej látky. Alternatívne sa fenol môže rozpustiť v etylacetáte, s následným pridaním nadbytku 1 N HCl v éteri, potom pridaním éteru. Nadbytok éteru a HCl sa odstráni pod vákuom.

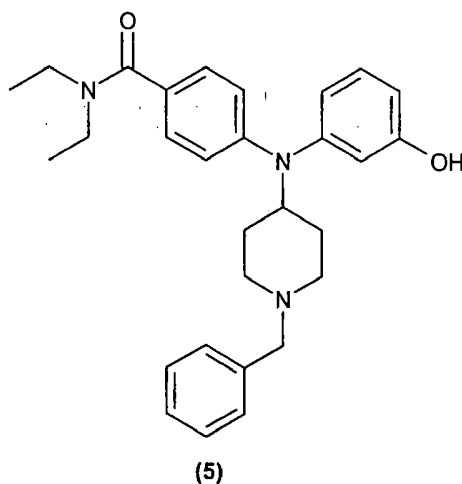
Soli kyseliny trifluóroctovej sa získali pomocou HPLC s reverznou fázou.

Príklad 1

Príprava

N,N-dietyl-4-[[[(3-hydroxyfenyl)[1-(fenylmetyl)-4-piperidiny]amino]benzamid] (zlúčenina 5)

Zlúčenina 5, uvedená v názve, sa pripravila podľa postupu syntézy uvedenej vyššie na Schéme I.



MS: (M+1) vypočítané: 458,62 (MH⁺); (M+1) pozorované: 458,24 (MH⁺). IR: Film soli HCl: 3047, 2974, 2531, 1600, 1471, 1455, 1283, 1186, 1093, 735, 701cm⁻¹. ¹H NMR: (400 MHz, CDCl₃, TMS, voľný amín): 7,39 – 7,10 (9H, m, Ar), 6,58 – 6,45 (3H, m, Ar), 6,23 – 6,22 (1H, m, Ar), 3,83 – 3,77 (1H, m, CH), 3,52 (3H, s, CH₃O), 3,43 (4H, s široký, CH₂N), 2,98 (2H, d, CH₂), 2,17 – 2,11 (2H, t, CH₂), 1,85 (2H, d, CH₂), 1,59 – 1,51 (2H, m, CH₂), 1,20 – 1,16 (6H, m, CH₃).

HPLC: > 95 % (215 nm)

> 98 % (254 nm)

> 99 % (280 nm)

Analýza:

C₂₉H₃₅N₃O₂, X 2,4 HCl, X 0,2 C₄H₁₀O, X 0,1 CH₂Cl₂

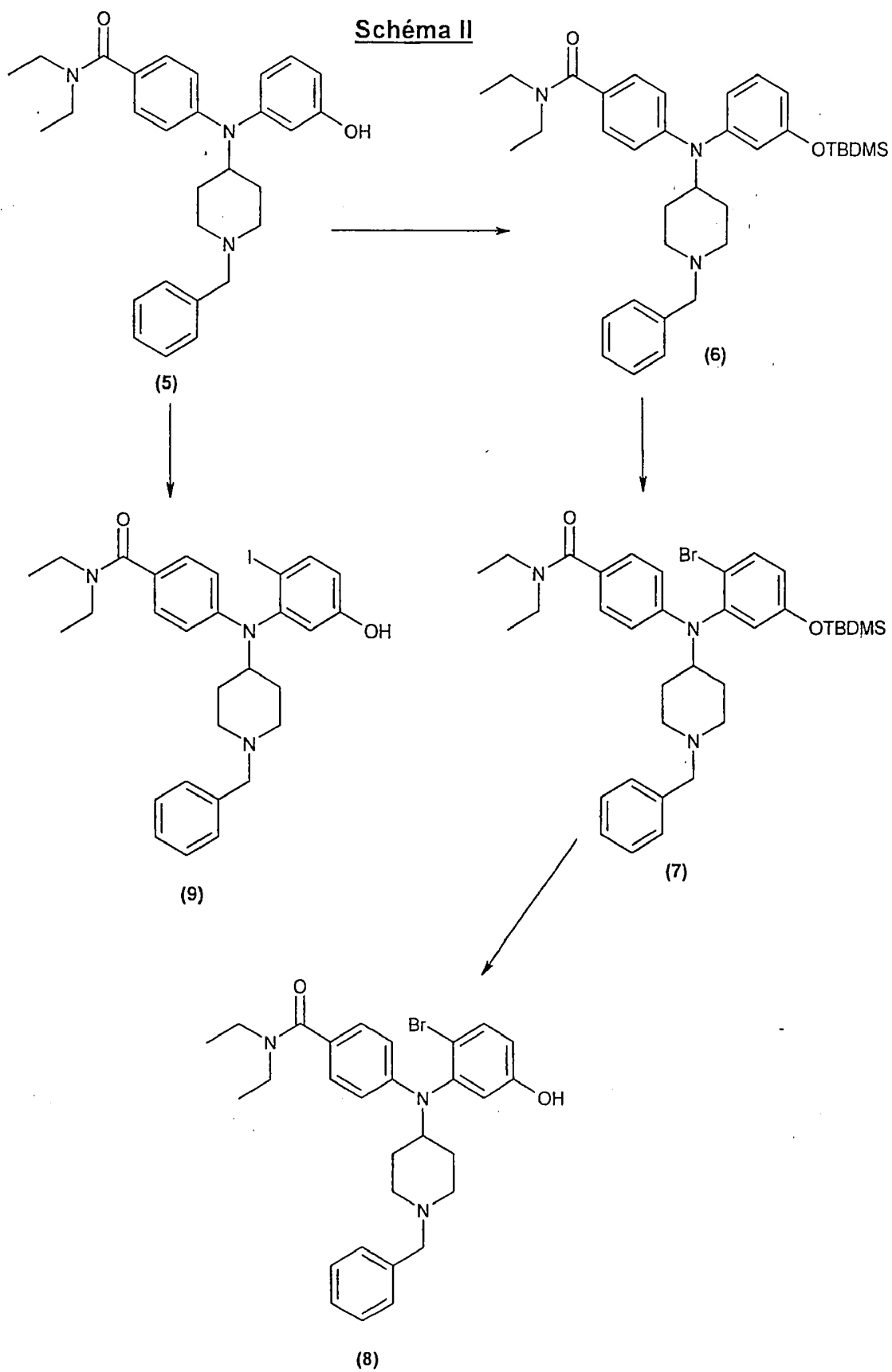
Nájdene: C 63,20 %, H 7,07 %, N 7,36 %, O 6,19 %, Cl 16,22 %.

Vypočítané: C 63,18 %, H 7,02 %, N 7,39 %, O 6,19 %, Cl 16,22 %.

IV. Syntéza *p*-halofenolových derivátov

p-Halofenolové deriváty vzorcov (8) a (9) sa pripravili podľa postupu syntézy uvedenej nižšie na Schéme II.

Schéma II



(i) Príprava *N,N*-dietyl-4-[[3-[[[(1,1-dimetyletyl)dimetylsilyl]oxy]fenyl][1-(fenylmetyl)-4-piperidiny]amino]benzamid (zlúčenina 6)

Zlúčenina 5 (200 mg, 0,4 mmol), TBDMSCI (302 mg, 2,0 mmol) a imidazol (138 mg, 2,0 mmol) v 15 ml DMF sa zahrievajú pri teplote 100 °C počas 3 hodín. Rozpúšťadlo sa odstráni a výsledný olej sa prečistil pomocou bleskovej chromatografie na silikagéle s použitím 100 % CH₂Cl₂, potom 1 % a 2 % MeOH. Získalo sa 200 mg, 87 % produktu.

(ii) Príprava *N,N*-dietyl-4-[[2-bróm-5-[[[(1,1-dimetyletyl)dimetylsilyl]oxy]fenyl][1-(fenylmetyl)-4-piperidiny]amino]-benzamid (zlúčenina 7)

K roztoku (82,9 mg, 0,145 mmol) zlúčeniny 6 v 6 ml DMF sa pri teplote 0 °C pridal roztok NBS (27,7 mg, 0,155 mmol) v 2 ml DMF. Reakčná zmes sa miešala počas 2 hodín, zahusťovala sa a potom sa prečistila bleskovou chromatografiou s použitím zmesi 10 % acetón/hexány a následne s 20 % acetónu. Zachytilo sa 61,25 mg, 65 % produktu.

Príklad 2

Príprava *N,N*-dietyl-4-[(2-bróm-5-hydroxyfenyl)[1-(fenylmetyl)-4-piperidiny]amino]-benzamid (zlúčenina 8)

Zlúčenina 6 v dioxáne sa nechala reagovať so 4 N HCl v dioxáne. Reakčná zmes sa miešala až do ukončenia reakcie. Prečistenie sa uskutočnilo pomocou preparatívnej HPLC s reverznou fázou s použitím zmesi CH₃CN/H₂O.

Analýza. Vypočítané pre C₂₉H₃₄N₃O₂Br x 1,4 CF₃CO₂H X 0,3 H₂O: C, 54,44; H, 5,17; N, 5,99; nájdené: C, 54,43; H, 5,06; N, 6,05.

M.S (vypočítané): 537,15 (MH⁺),

M.S (nájdene): 536,16 (MH⁺)

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18, Gradient 20 až 50 % B v 25 min, prietok: 1 ml/min, 40 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN, k': 7,94. Čistota: > 97 % (215 nm), > 97 % (254 nm)

Príklad 3

Príprava *N,N*-dietyl-4-[(5-hydroxy-2-jódfenyl)[1-(fenylmetyl)-4-piperidiny]amino]-benzamidu (zlúčenina 9)

K suspenzii TFA soli (25 mg, 0,044 mmol) benzylového analógu zlúčeniny 5 a (11,3 mg, 0,044 mmol) triflátu strieborného v 5 ml CH_2Cl_2 sa pri teplote 0 °C po kvapkách pridal roztok 23 mg I_2 v 2 ml CH_2Cl_2 . Po ukončení pridávania sa reakčná zmes zahustila a prečistila sa pomocou preparatívnej HPLC. Získalo sa 7,9 mg produktu.

Analýza: Vypočítané pre $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_2\text{I} \times 1,6 \text{ C}_2\text{HO}_2\text{F}_3 \times 0,5 \text{ H}_2\text{O}$: C, 49,91; H, 4,76; N, 5,42; Nájdene: C, 49,84.; H, 4,75; N, 5,60

M.S (vypočítané): 584,51 (MH+),

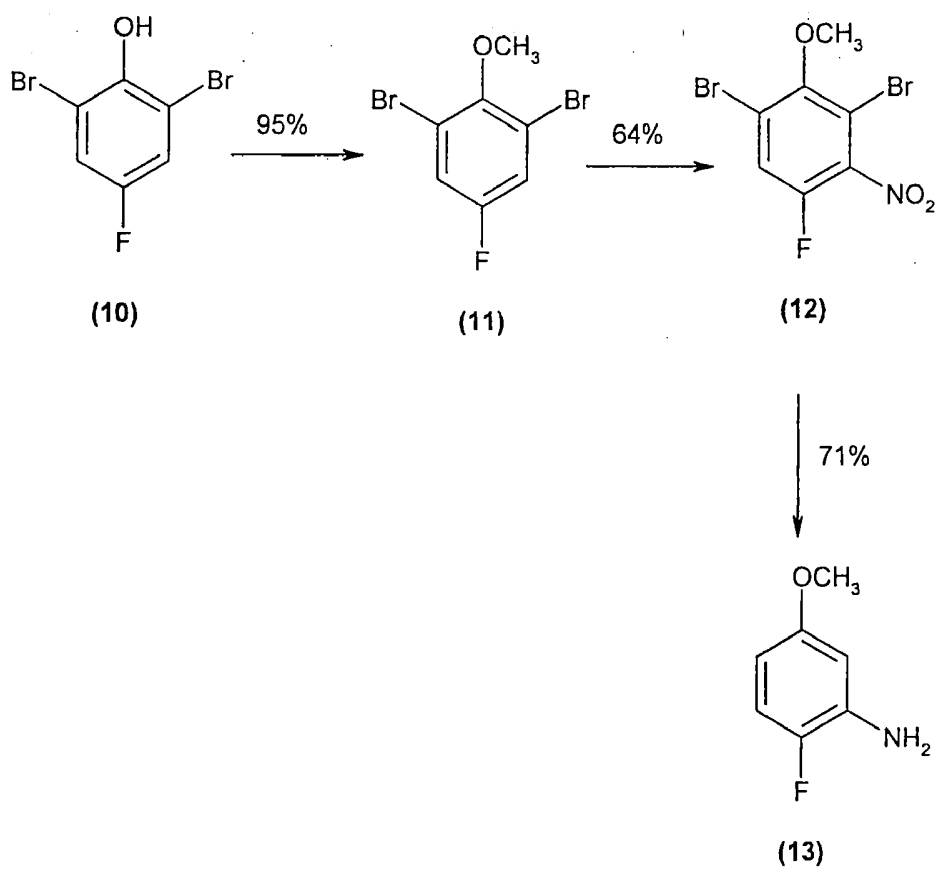
M.S (nájdene): 584,16 (MH+)

Podmienky HPLC: kolóna: Zorbax SB-C18, Gradient 20 až 50 % B v 25 min, prietok 1 ml/min, 40 °C, A- 0,1 % TFA v H_2O , B- 0,1 % TFA v CH_3CN , k': 8,56.

Čistota: > 96 % (215 nm), > 96 % (254 nm)

V. Syntéza 2-fluór-5-metoxyanilínu

Schéma III



(i) Príprava 1,3-dibróm-5-fluór-2-metoxybenzénu (zlúčenina 11)

K roztoku zlúčeniny 10, 2,6-dibróm-4-fluórphenolu (1 g, 3,7 mmol) v 50 ml acetónu sa pridal K_2CO_3 (0,56 g, 4,1 mmol) a následne sa pridal CH_3I (0,58 g, 255 μ l, 4,1 mmol). Reakčná zmes sa refluxovala počas 2 hodín, ochladila sa a potom sa prefiltrovala a opakovane sa premyla s $CHCl_3$. Zahustený filtrát poskytol 1 g krémovo sfarbenej pevnej látky. Výťažok predstavoval 95,2 %.

(ii) Príprava 1,3-dibróm-5-fluór-2-metoxy-4-nitrobenzénu (zlúčenina 12)

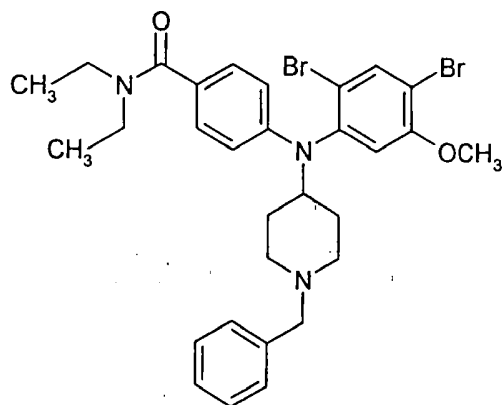
K zakalenému roztoku zlúčeniny 11 (920 mg, 3,24 mmol) v 3 ml H_2SO_4 ochladenému na ľade sa po kvapkách pridal roztok H_2SO_4/HNO_3 (3 ml/163 μ L, 3,9 mmol). Reakčná zmes sa miešala počas 2 hodín, potom 30 minút pri laboratórnej teplote. Pridal sa ľad a reakčná zmes sa niekoľkokrát extrahovala s CH_2Cl_2 . Spojené organické vrstvy sa premyli s Na_2CO_3 (nasýtený), vysušili sa nad Na_2SO_4 , prefiltrovali a zahustili. Prečistenie cez silikagél so 100 % hexánmi, potom so zmesou 10 % etylacetát/hexány poskytlo 685 mg, 64 % produktu.

(iii) Príprava 2-fluór-5-metoxyanilínu (zlúčenina 13)

V Parrovom zariadení sa pri 40 psi pretrepávala suspenzia 66 mg Pd/C 10 %, zlúčenina 12 (670 mg, 0,2 mmol) v 40 ml etanolu počas 36 hodín. Reakčná zmes sa prefiltrovala a zahustený filtrát sa prečistil pomocou bleskovej chromatografie na silikagéle so zvyšujúcimi sa polaritami 10, 20, potom 30 etylacetát/hexány. Získalo sa 200 mg, 70,8 % produktu.

Príklad 4

Príprava 4-[(2,4-dibróm-5-metoxyfenyl)[1-(fenylmetyl)-4-piperidiny]amino]-*N,N*-dietyl-benzamidu (zlúčenina 14)



(14)

510 mg zlúčeniny 3 sa rozpustilo v zmesi ľadovej kyseliny octovej/CH₂Cl₂ pri teplote 0 °C. Po kvapkách sa za miešania v priebehu 15 minút pridalo 90 µl brómu. Reakčná zmes sa zahustená vytrepala do CH₂Cl₂ a H₂O. Zmes sa zalkalizovala s 2 N NaOH a trikrát sa extrahovala s CH₂Cl₂, potom sa premyla so soľankou. Zlúčenina sa prečistila s použitím preparatívnej HPLC. TFA soľ sa konvertovala na voľný amín (347 mg) extrakciou s 1 N NaOH a CH₂Cl₂. Hydrochloridová soľ sa pripravila z 1 N HCl v étere.

Analýza. Vypočítané pre C₃₀H₃₅N₃O₂Br₂ x 1,5 HCl X 0,7 H₂O: C, 51,72; H, 5,48; N, 6,03; Nájsené: C, 51,67; H, 5,50; N, 5,88

M.S (vypočítané): 630,44 (MH⁺),

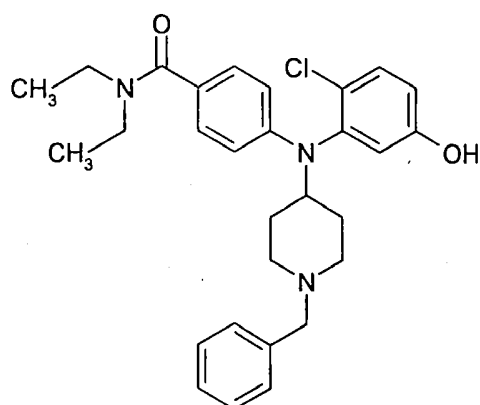
M.S (nájsené): 630,15 (MH⁺)

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18, Gradient 30 až 50 % B v 25 min, prietok: 1 ml/min, 40 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN, k': 3,25. Čistota: > 95 % (215 nm), > 99 % (254 nm)

Príklad 5

Príprava 4-[(2-chlór-5-hydroxyfenyl)[1-(fenylmetyl)-4-piperidiny]amino]-N,N-dietylbenzamid (zlúčenina 15)

Zlúčenina 15, uvedená v názve, sa pripravila podľa postupu syntézy uvedeného vyššie na Schéme I, s použitím 2-chlór-3-metoxyanalínu v kroku 1.



(15)

M.S (vypočítané): 492,24 (MH⁺),

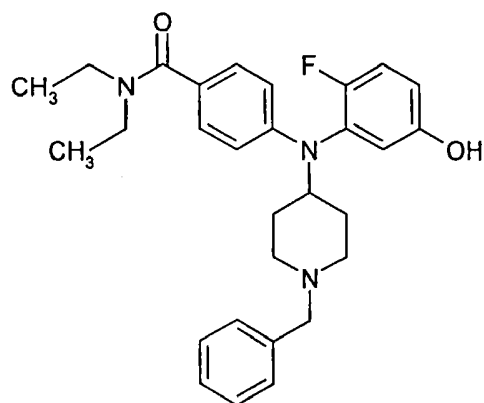
M.S (nájdene): 491,92 (MH⁺)

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18, Gradient 30 až 80 % B v 25 min, prietok: 1 ml/min, 25 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN, k': 2,60. Čistota: > 90 % (215 nm), > 92 % (254 nm)

Príklad 6

Príprava *N,N*-dietyl-4-[(2-fluór-5-hydroxyfenyl)[1-(fenylmetyl)-4-piperidiny]amino]benz-amidu (zlúčenina 16)

Zlúčenina 16, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 2-fluór-3-metoxyanalínu v kroku 1.



(16)

^1H NMR: CDCl_3 d 1,15 – 1,19, (m, 6H), 1,49 – 1,57, (m, 2H), 1,87 – 1,90 (m, 2H), 2,12 – 2,19 (m, 2H), 2,97 – 3,01 (m, 2H), 3,42 (br s, 4H), 3,53 (s, 2H), 3,80 – 3,55 (m, 2H), 6,27 – 6,29 (m, 1H), 6,45 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H) 6,51 – 6,55 (m, 1H), 6,89 (t, 1H), 7,20 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 7,24 – 7,27 (m, 5H).

IR: 3160,1, 2936,0, 1602,6, 1502,1, 1472,0, 1456,3, 1283,3

M.S (vypočítané): 476,61 (MH⁺),

M.S (nájdené): 476,16 (MH⁺)

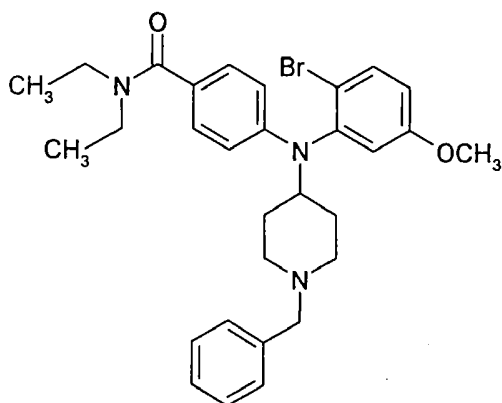
Podmienky HPLC: kolóna: Zorbax SB-C18, Gradient 30 až 80 % B v 25 min, prietok: 1 ml/min, 40 °C, A- 0,1 % TFA v H_2O , B- 0,1 % TFA v CH_3CN , k' : 6,61.

Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm)

Príklad 7

Príprava 4-[(4-bróm-3-metoxyfenyl)[1-(fenylmetyl)-4-piperidiny]amino]-*N,N*-dietylbenzamid (zlúčenina 17)

Zlúčenina 17, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 2-bróm-3-metoxyanalínu v kroku 1.



(17)

^1H NMR: CDCl_3 d 1,16, (br t, 6H), 1,43 – 1,53, (m, 2H), 1,86 – 1,89 (m, 2H), 2,06 – 2,11 (m, 2H), 2,91 – 2,94 (m, 2H), 3,38 (br s, 4H), 3,37 (s, 2H), 3,46 (s, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,77 – 3,83 (m, 1H), 6,44 – 6,46 (m, 2H), 6,63 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,19 – 7,27 (m, 7H), 7,44 (d, 1 H)

Analýza. Vypočítané pre $C_{30}H_{36}N_3O_2Br \times 1,9 HCl \times 0,2 H_2O$: C, 57,80; H, 6,19; N, 6,74; Nájdene: C, 57,83; H, 6,17; N, 7,16.

M.S (vypočítané): 551,54 (MH⁺),

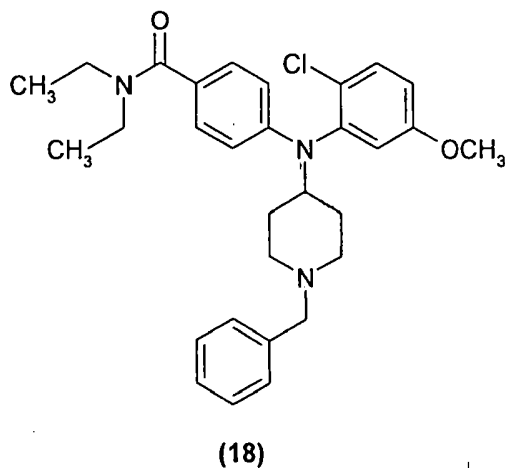
M.S (nájdene): 550,39, 552,38 (MH⁺, brómovaná zlúčenina)

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18, Gradient 20 až 50 % B v 25 min, prietok: 1 ml/min, 40 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN, k': 5,05. Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm)

Príklad 8

Príprava (1*R*)-N-[4-[(1-iminoetyl)amino]-(1*R*)-[[[(1,2,3,4-tetrahydro-1-naftalenylamino]-karbonyl]butyl)-1-(fenyl)-cyklohexylkarboxamidu (zlúčenina 18)

Zlúčenina 18, uvedená v názve, sa pripravila podľa postupu uvedeného vyššie na Schéme I, s použitím 2-chlór-3-metoxyanalínu v kroku 1.



M.S (vypočítané): 507,09 (MH⁺),

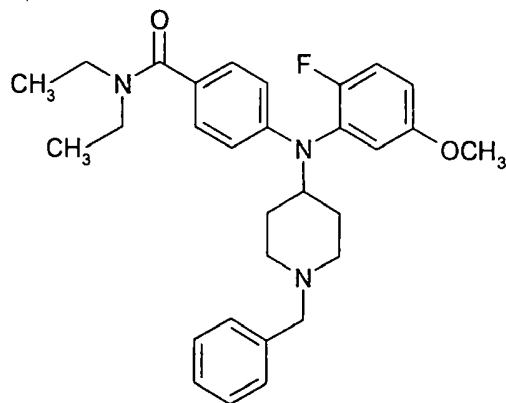
M.S (nájdene): 505,91. 507,85 (MH⁺, chlоровaná zlúčenina)

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18, Gradient 30 až 80 % B v 25 min, prietok: 1 ml/min, 40 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN, k': 4,06. Čistota: > 88 % (215 nm), > 90 % (254 nm)

Príklad 9

Príprava *N,N*-dietyl-4-[(2-fluór-5-metoxyfenyl)[1-(fenylmetyl)-4-piperidiny]amino]-benzamid (zlúčenina 19)

Zlúčenina 19, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 2-fluór-3-metoxyanalínu v kroku 1.



(19)

^1H NMR: CDCl_3 d 1,15 – 1,18, (m, 6H), 1,50 – 1,59, (m, 2H), 1,96 – 1,99 (m, 2H), 2,09 – 2,15 (m, 2H), 2,95 – 2,98 (m, 2H), 3,42 (br s, 4H), 3,50 (s, 2H), 3,77 (s, 3H), 3,84 – 3,90 (m, 2H), 6,27 – 6,29 (m, 1H), 6,51 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H) 6,6 (dd, $J = 3,3$ Hz, 6,3 Hz 1H), 7,08 (dt, $J = 3,4$ Hz, 8,9 Hz, 1H), 7,08 (t, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,22 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H) 7,24 – 7,32 (m, 5H).

M.S (vypočítané): 490,63 (MH $^+$),

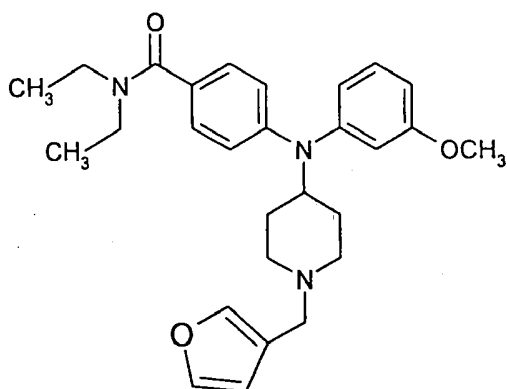
M.S (nájdené): 490,08 (MH $^+$)

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18; gradient 30 až 80 % B v 25 min, prietok: 1 ml/min, 40 °C, A- 0,1 % TFA v H_2O , B- 0,1 % TFA v CH_3CN , k' : 4,61. Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm)

Príklad 10

Príprava *N,N*-dietyl-4-[[1-(3-furanylmetyl)-4-piperidiny](3-metoxyfenyl)amino]benzamid (zlúčenina 20)

Zlúčenina 20, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím furan-3-karboxaldehydu.



(20)

^1H NMR: CDCl_3 d 1,18, (t, 6H), 1,48 – 1,58, (m, 2H), 1,92 – 1,96 (m, 2H), 2,06 – 2,12 (m, 2H), 2,96 – 2,99 (m, 2H), 3,37 (s, 2H), 3,42 (br s, 4H), 3,50 (s, 2H), 3,77 (s, 3H), 3,79 – 3,86 (m, 1H), 6,34 (s, 1H), 6,51 – 6,52 (m, 1H) 6,55 – 6,57 (m, 1H), 6,64 – 6,66 (m, 2H), 6,73 (dd, $J = 2,4, 8,1$ Hz, 1H), 7,23 – 7,26 (m, 3H) 7,31 (s, 1H), 7,36 – 7,37 (m, 1 H).

IR: 2935,4, 1611,0, 1595,4, 1469,4, 1425,6, 1280,7

M.S (vypočítané): 462,60 (MH $^+$),

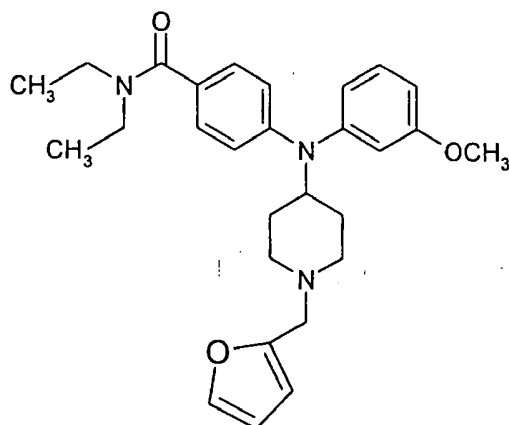
M.S (nájdené): 462,21 (MH $^+$)

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18; gradient: 20 až 50 % B v 25 min, 1 ml/min, 25°C, A- 0,1 % TFA v H_2O , B- 0,1 % TFA v CH_3CN ; k' : 7.5; Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm)

Príklad 11

Príprava *N,N*-dietyl-4-[[1-(2-furanylmetyl)-4-piperidiny]](3-metoxyfenyl)amino]-benzamid (zlučienina 21)

Zlučienina 21, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím furan-2-karboxaldehydu.



(21)

^1H NMR: CDCl_3 d 1,19, (t, 6H), 1,54 – 1,64, (m, 2H), 1,92 – 1,96 (m, 2H), 2,13 – 2,19 (m, 2H), 2,96 – 2,99 (m, 2H), 3,42 (br s, 4H), 3,53 (s, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,80 – 3,86 (m, 1H), 6,18 (d, J = Hz, 1H), 6,31 (dd, J = 2,1 Hz, 3,3 Hz, 1H) 6,49 – 6,51 (m, 1H), 6,53 – 6,56 (m, 1H), 6,71 (d, 8,4 Hz, 2H) 6,73 (dd, J = 2,5, 8,2 Hz, 1H), 7,23 – 7,26 (m, 3H) 7,36 – 7,37 (m, 1 H)

IR: 2935,5, 1611,3, 1595,2, 1469,0, 1424,6, 1280,6

M.S (vypočítané): 462,60 (MH⁺),

M.S (nájdené): 462,21 (MH⁺)

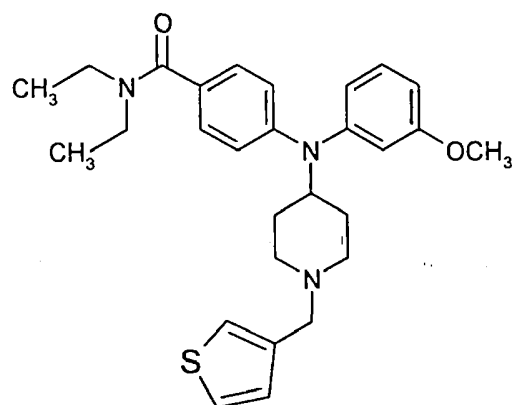
Analýza. Vypočítané pre $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_3 \times 1,7 \text{ HCl} \times 0,3 \text{ H}_2\text{O}$: C, 63,58; H, 7,11; N, 7,94; Nájdené: C, 63,70; H, 7,04; N, 7,84.

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18; Gradient 20 až 50 % B v 25 min; prietok: 1 ml/min, 25 °C, A- 0,1 % TFA v H_2O , B- 0,1 % TFA v CH_3CN , k' : 7.19. Čistota: > 95 % (215 nm), > 99 % (254 nm)

Príklad 12

Príprava *N,N*-dietyl-4-[(3-metoxifynyl)[1-(3-tienylmetyl)-4-piperidiny]amino]benzamidu (zlúčenina 22)

Zlúčenina 22, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím tiofén-3-karboxaldehydu.



(22)

^1H NMR: CDCl_3 d 1,18, (t, 6H), 1,52 – 1,58, (m, 2H), 1,92 – 1,5 (m, 2H), 2,08 – 2,13 (m, 2H), 2,95 – 2,98 (m, 2H), 3,42 (br s, 4H), 3,53 (s, 2H), 3,77 (s, 3H), 3,79 – 3,86 (m, 1H), 6,51 – 6,52 (m, 1H) 6,55 – 6,57 (m, 1H), 6,65 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 6,72 – 6,74 (m, 1H), 7,00 – 7,01 (m, 1H), 7,08 – 7,09 (m, 1H), 7,24 – 7,26 (m, 4H).

IR: 2936,1, 1611,1, 1595,6, 1469,4, 1425,1, 1280,6

M.S (vypočítané): 478,67 (MH $^+$),

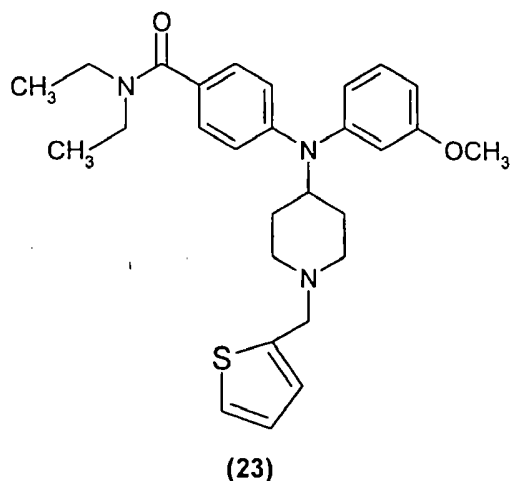
M.S (nájdene): 478,07 (MH $^+$)

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18; gradient: 20 až 50 % B v 25 min, 1 ml/min, 25 °C, A- 0,1 % TFA v H_2O , B- 0,1 % TFA v CH_3CN ; k' : 7.0; Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm)

Príklad 13

Príprava *N,N*-dietyl-4-[(3-metoxifenyl)[1-(2-tienylmetyl)-4-piperidiny]amino]benzamidu (zlúčenina 23)

Zlúčenina 23, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím tiofén-2-karboxaldehydu.



M.S (vypočítané): 477,67 (MH+),

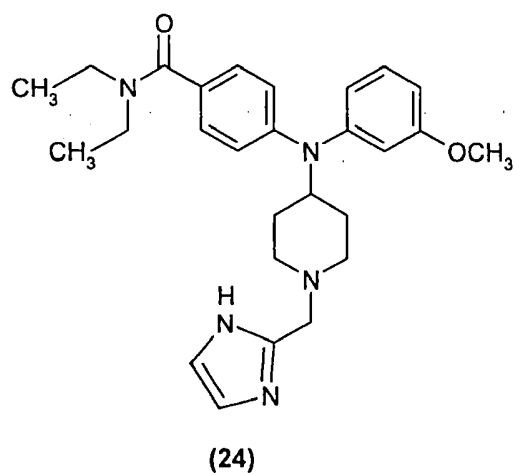
M.S (nájdene): 478,09 (MH+)

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18; gradient: 20 až 50 % B v 25 min, 1 ml/min, 25 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN; k': 7.64; Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm)

Príklad 14

Priprava *N,N*-dietyl-4-[[1-(1*H*-imidazol-2-ylmetyl)-4-piperidiny](3-metoxyfenyl)amino]-benzamidu (zlúčenina 24)

Zlúčenina 24, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím imidazol-2-karboxaldehydu.



¹H NMR: CDCl₃ δ 1,18, (t, 6H), 1,46 – 1,55, (m, 2H), 1,95 – 1,97 (m, 2H), 2,24 – 2,30 (m, 2H), 2,88 – 2,91 (m, 2H), 3,43 (br s, 4H), 3,63 (s, 2H), 3,50 (s, 2H), 3,78

(s, 3H), 3,88 – 3,92 (m, 2H), 6,50 (t, 1H), 6,54 – 6,57 (m, 1H), 6,71 (d, $J = \text{Hz}$, 2H), 6,74 (dd, 2,3 Hz, 8,3 Hz, 1H) 6,96 (s, 2H), 7,24 – 7,29 (m, 3H).

IR: 2935,6, 1615,0, 1601,8, 1503,4, 1469,8, 1454,2, 1425,2, 1281,4

M.S (vypočítané): 462,61 (MH⁺),

M.S (nájdené): 462,10 (MH⁺)

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18; gradient: 20 až 50 % B v 25 min, 1 ml/min, 25 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN; k': 4.9; Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm)

Príklad 15

Príprava *N,N*-dietyl-4-[[1-(3-furanylmetyl)-4-piperidiny](3-hydroxyfenyl)amino]benz-amidu (zlúčenina 25)

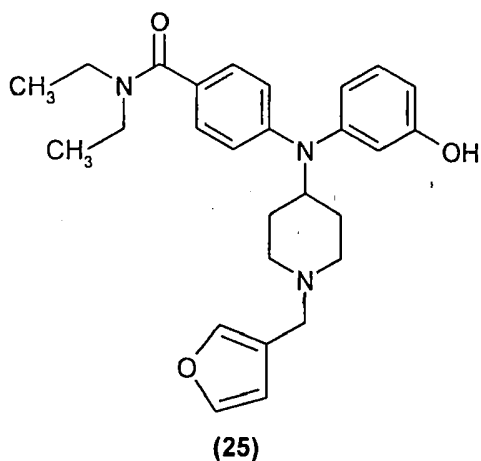
Zlúčenina 25, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím furan-3-karboxaldehydu.

¹H NMR: CDCl₃ d 1,17 – 1,20, (m, 6H), 1,54 – 1,63, (m, 2H), 1,90 – 1,93 (m, 2H), 2,12 – 2,17 (m, 2H), 3,02 – 3,05 (m, 2H), 3,42 (br s, 6H), 3,42 (br s, 4H), 3,80 – 3,86 (m, 1H), 6,29 – 6,30 (m, 1H), 6,35 – 6,37 (m, 1H), 6,47 – 6,50 (m, 1H), 6,53 – 6,56 (m, 1H), 6,60 – 6,63 (m, 2H), 7,12 – 7,22 (m, 1H) 7,23 – 7,28 (s, 4H), 7,28 – 7,34 (m, 1 H).

M.S (vypočítané): 448,58 (MH⁺),

M.S (nájdené): 448,21 (MH⁺)

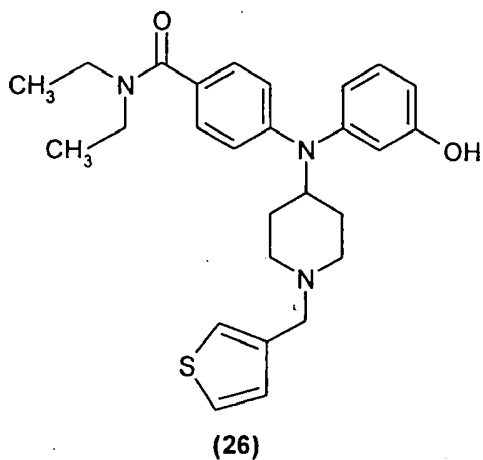
Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18; gradient: 20 až 50 % B v 25 min, 1 ml/min, 25 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN; k': 5,53; Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm)



Príklad 16

Príprava *N,N*-dietyl-4-[(3-hydroxyfenyl)[1-(3-tienylmetyl)-4-piperidiny]amino]benzamidu (zlúčenina 26)

Zlúčenina 26, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím tiofén-3-karboxaldehydu.



M.S (vypočítané): 464,64 (MH⁺),

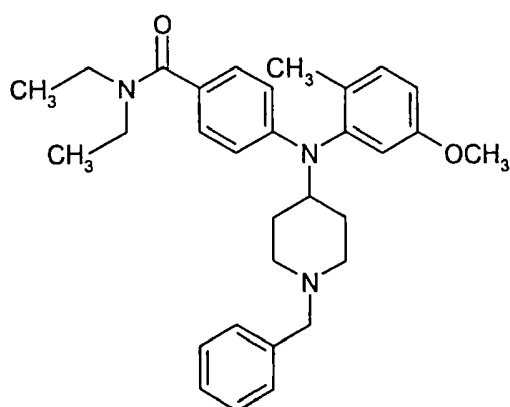
M.S (nájdene): 464,15 (MH⁺)

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18; gradient: 20 až 50 % B v 25 min, 1 ml/min, 25 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN; k': 7.64; Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm).

Príklad 17

Príprava *N,N*-dietyl-4-[(5-metoxy-2-metylphenyl)[1-(fenylmetyl)-4-piperidiny]amino]-benzamidu (zlúčenina 27)

Zlúčenina 27, , uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 2-metyl-5-metoxyanalínu v kroku 1.



(27)

M.S (vypočítané): 486,67 (MH⁺),

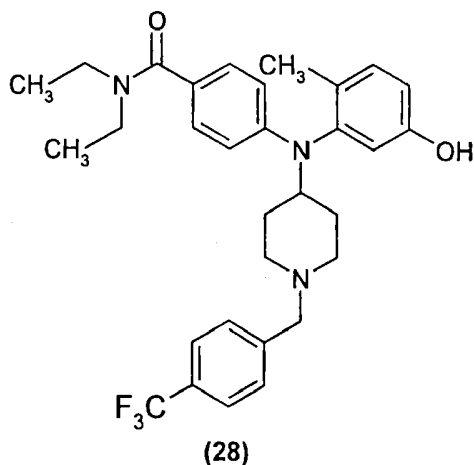
M.S (nájdene): 486,19 (MH⁺)

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18; gradient: 20 až 50 % B v 25 min, 1 ml/min, 25 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN; k': 8.46; Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254nm)

Príklad 18

Príprava *N,N*-dietyl-4-[(3-hydroxyfenyl)[1-[[4-(trifluórmetyl)fenyl]metyl]-4-piperidiny]amino]benzamidu (zlúčenina 28)

Zlúčenina 28, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 4-trifluórmetylbenzaldehydu.



Analýza. Vypočítané pre $C_{30}H_{34}N_3O_2F_3 \times 1,4 CF_3CO_2H$: C, 57,34; H, 5,22; N, 6,12; Nájdene: C, 57,31; H, 5,18; N, 6,23.

M.S (vypočítané): 526,61 (MH⁺),

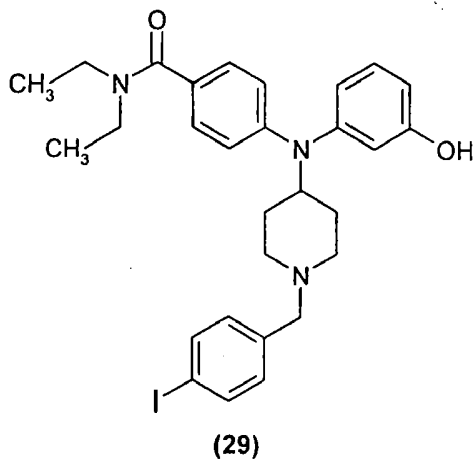
M.S (nájdene): 526,29 (MH⁺)

Podmienky HPLC: kolóna: Zorbax SB C-18, Gradient 30 až 80 % B v 25 min, prietok: 1 ml/min, 40 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN, k': 3,29. Čistota: > 96 % (215 nm), > 98 % (254 nm)

Príklad 19

Príprava *N,N*-dietyl-4-[(3-hydroxyfenyl)[1-[(4-iodofenyl)metyl]-4-piperidiny]amino]-benzamidu (zlúčenina 29)

Zlúčenina 29, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 4-jódbenzaldehydu.



^1H NMR: CDCl_3 d 1,16, (br s, 6H), 1,88 – 2,06, (br m, 6H), 2,78 – 2,84 (m, 2H), 3,40 – 3,43 (m, 4H), 3,39 -,3,49 (br m, 4H), 3,92 (m, 1H), 4,12 (s, 2H), 4,32 (s, 2H), 6,54 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,61 (s, 1H), 6,71 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H), 7,44 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H), 7,13 (t, 1H), 7,36 – 7,45 (m, 5H).

Analýza. Vypočítané pre $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_2$ x 1,5 $\text{C}_2\text{HO}_2\text{F}_3$ x 0,1 H_2O : C, 50,82; H, 4,76; N, 5,56; Nájdene: C, 50,79; H, 4,77; N, 5,62.

M.S (vypočítané): 584,51 (MH $^+$),

M.S (nájdene): 584,14 (MH $^+$)

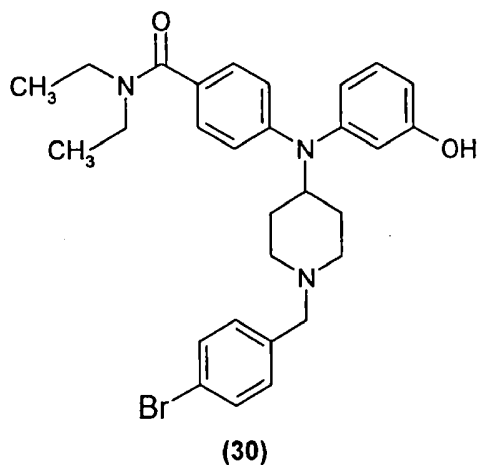
Podmienky HPLC: kolóna: Zorbax SB C-18, Gradient 20 až 50 % B v 25 min, prietok: 1 ml/min, 40 °C, A- 0,1 % TFA v H_2O , B- 0,1 % TFA v CH_3CN , k' : 7.96.

Čistota: > 98 % (215 nm), > 98 % (254 nm)

Príklad 20

Príprava *N,N*-dietyl-4-[[1-[(4-brómfenyl)metyl]-4-piperidiny](3-hydroxyfenyl)amino]-benzamid (zlúčenina 30)

Zlúčenina 30, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 4-brómbenzaldehydu.



Analýza. Vypočítané pre $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{BrN}_3\text{O}_2$ X 1,30 TFA vypočítané.: C 55,43 %, H 5,20 %, N 6,14 %; Nájdene: C 55,43 %, H 5,25 %, N 5,94 %.

M.S (vypočítané): 537,51 (MH⁺),

M.S (nájdené): 536,54 (MH⁺), 538,04 (brómová zlúčenina)

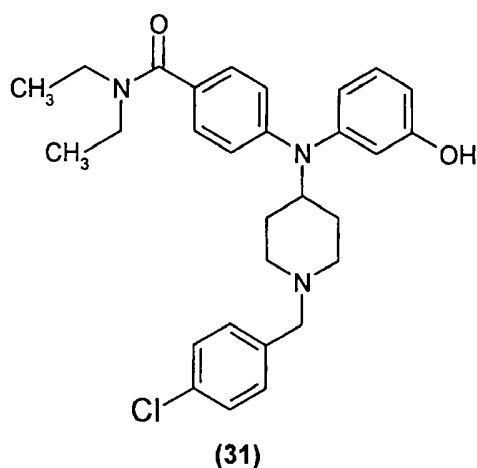
Podmienky HPLC: kolóna: Zorbax SB C-18, Gradient 20 až 50 % B v 25 min, prietok: 1 ml/min, 40 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN, k': 7,58.

Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254nm)

Príklad 21

Príprava *N,N*-dietyl-4-[[1-[(4-chlórfenyl)metyl]-4-piperidiny]-(3-hydroxyfenyl)amino]-benzamid (zlúčenina 31)

Zlúčenina 31, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, a použitím 4-chlórbenzaldehydu.



Analýza. Vypočítané pre C₂₉H₃₄N₃O₂Cl x 1,4 CF₃CO₂H x 0,3 H₂O: C, 57,64; H, 5,43; N, 6,34; Nájdené: C, 57,49; H, 5,36; N, 6,41.

M.S (vypočítané): 496,06 (MH⁺),

M.S (nájdené): 496,68 (MH⁺)

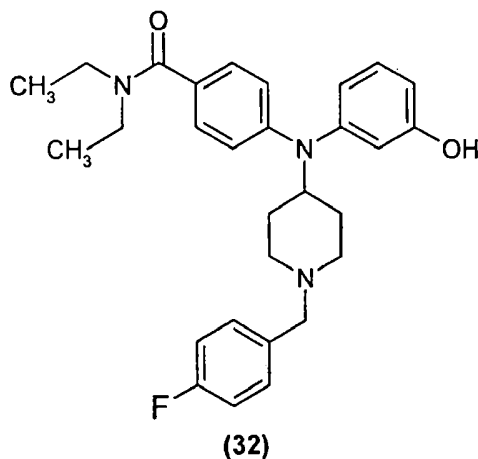
Podmienky HPLC: kolóna: Zorbax SB C-18, Gradient 20 až 50 % B v 25 min, prietok: 1 ml/min, 40 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN, k': 7.36.

Čistota: > 99 % (215 nm), > 98 % (254 nm)

Príklad 22

Príprava *N,N*-dietyl-4-[[1-[(4-fluórfenyl)metyl]-4-piperidiny]-(3-hydroxyfenyl)amino]benz-amidu (zlúčenina 32)

Zlúčenina 32, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 4-fluórbenzaldehydu.



Analýza. Vypočítané pre $C_{29}H_{34}FN_3O_2$ X 1,90 TFA: C 56,91 %, H 5,23 %, N 6,07 %; Nájsené: C 56,77 %, H 5,39 %, N 5,95 %,

M.S (vypočítané): 476,61 (MH⁺),

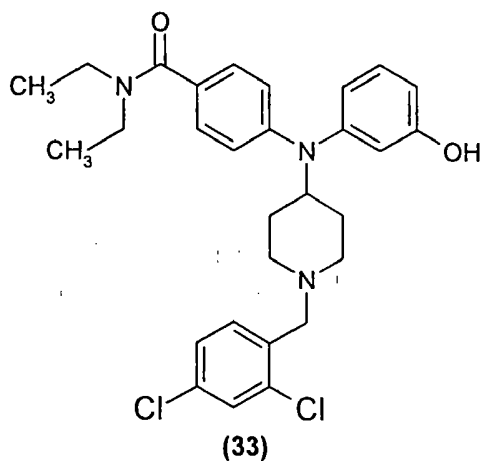
M.S (nájsené): 476,18 (MH⁺)

Podmienky HPLC: kolóna: Zorbax SB C-18, Gradient 20 až 50 % B v 25 min, prietok: 1 ml/min, 40 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN, k': 2.45. Čistota: > 91 % (215 nm), > 96 % (254 nm)

Príklad 23

Príprava 4-[[1-[(2,4-dichlórfenyl)metyl]-4-piperidiny]-(3-hydroxyfenyl)amino]-*N,N*-dietyl-benzamidu (zlúčenina 33)

Zlúčenina 33, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 2,4-dichlórbenzaldehydu.



Analýza. Vypočítané pre $C_{29}H_{33}Cl_2N_3O_2$, X 0,10 H_2O , X 1,60 TFA: C 54,42 %, H 4,94 %, N 5,91 %; Nájdene: C 54,46 %, H 4,94 %, N 5,83 %,

M.S (vypočítané): 527,51 (MH⁺),

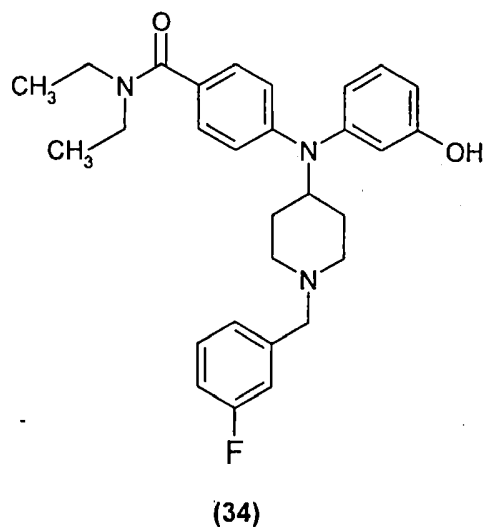
M.S (nájdene): 527,84 (MH⁺)

Podmienky HPLC: kolóna: Zorbax SB C-18, Gradient 20 až 50 % B v 25 min, prietok: 1 ml/min, 40 °C, A- 0,1 % TFA v H_2O , B- 0,1 % TFA v CH_3CN , k': 8,14. Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm)

Príklad 24

Príprava *N,N*-dietyl-4-[[1-[(3-fluórfenyl)metyl]-4-piperidiny](3-hydroxyfenyl)amino]-benzamid (zlúčenina 34)

Zlúčenina 34, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 3-fluórbenzaldehydu.



Analýza. Vypočítané pre $C_{29}H_{34}N_3O_2F \times 1,2 C_2HO_2F_3 \times 1,1 H_2O$: C, 59,56; H, 6,11; N, 6,64; Nájsené: C, 59,43.; H, 5,48; N, 6,54.

M.S (vypočítané): 476,61 (MH⁺),

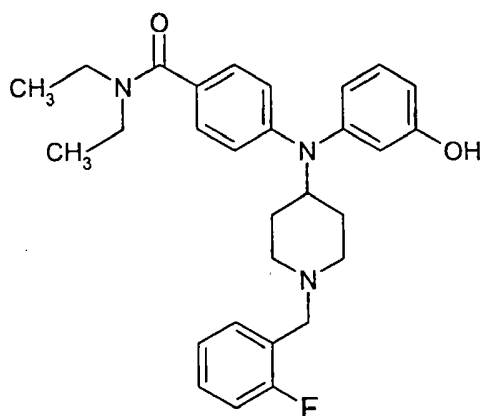
M.S (nájsené): 476,18 (MH⁺)

Podmienky HPLC: kolóna: Zorbax SB C-18, Gradient 20 až 50 % B v 25 min, prietok: 1 ml/min, 40 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN, k': 6.53. Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254nm).

Príklad 25

Príprava *N,N*-dietyl-4-[[1-[(2-fluórfenyl)metyl]-4-piperidiny]](3-hydroxyfenyl)amino]-benzamidu (zlúčenina 35)

Zlúčenina 35, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 2-fluórbenzaldehydu.



(35)

Analýza. Vypočítané pre C₂₉H₃₄N₃O₂F x 1,4 C₂HO₂F₃: C, 60,09; H, 5,62; N, 6,61;
Nájdené: C, 60,09; H, 5,59; N, 6,62.

M.S (vypočítané): 476,61 (MH⁺),

M.S (nájdené): 476,18 (MH⁺)

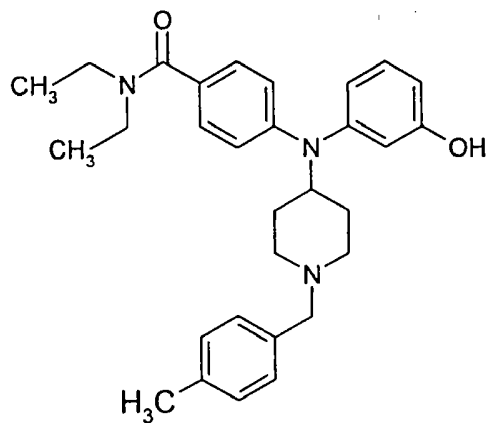
Podmienky HPLC: kolóna: Zorbax SB C-18, Gradient 20 až 50 % B v 25 min,
prietok: 1 ml/min, 40 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN, k': 5,63.

Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm).

Príklad 26

Príprava *N,N*-dietyl-4-[(3-hydroxyfenyl)[1-[(4-metylfenyl)metyl]-4-piperidiny]amino]-benzamidu (zlúčenina 36)

Zlúčenina 36, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 4-metylbenzaldehydu.



(36)

Analýza. Vypočítané pre $C_{30}H_{37}N_3O_2 \times 1,4 C_2HO_2F_3 \times 0,4 H_2O$: C, 61,70; H, 6,19; N, 6,58; Nájsené: C, 61,78.; H, 6,25; N, 6,55.

M.S (vypočítané): 472,64 (MH+),

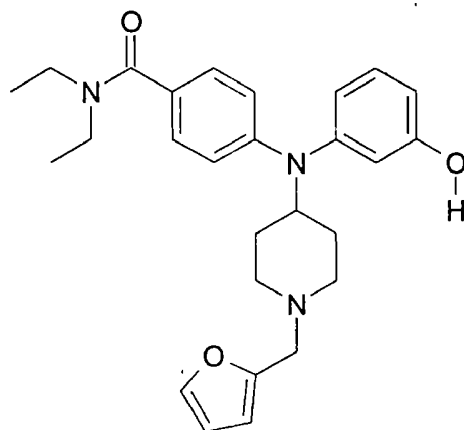
M.S (nájsené): 472,18 (MH+)

Podmienky HPLC: kolóna: Zorbax SB C-18, Gradient 20 až 50 % B v 25 min, prietok: 1 ml/min, 40 °C, A- 0,1 % TFA v H_2O , B- 0,1 % TFA v CH_3CN , k' : 7.12. Čistota: > 98 % (215 nm), > 98 % (254 nm).

Príklad 27

Príprava *N,N*-dietyl-4-[[1-(2-furanylmetyl)-4-piperidiny](3-hydroxyfenyl)amino]benzamid (zlsúčenina 37)

Zlsúčenina 37, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 2-furaldehydu.



(37)

1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 1,07 (t, J = 7,4 Hz, 6H, 2 x CH_3), 1,53 – 1,63 (m, 2H, 2 x CH), 2,04 – 2,08 (m, 2H, 2 x CH), 3,11 – 3,18 (m, 2 x CH), 3,37 – 3,41 (m, 2 x CH), 3,48 (br, 2 x CH_2), 4,17 – 4,24 (m, 1H, NCH), 4,33 (s, 2H, NCH_2), 6,36 – 6,38 (m, 1H), 6,44 – 6,46 (m, 1H), 6,55 – 6,56 (m, 1H), 6,62 – 6,68 (m, 4H), 7,16 – 7,23 (m, 3H), 7,81 (m, 1H), 9,53 (br, 1H).

Analýza. Vypočítané pre $C_{27}H_{33}N_3O_3 \times 1,3 C_2HF_3O_2 \times 1,0 H_2O$: C, 58,09; H, 5,95; N, 6,87; Nájdene: C, 58,03; H, 5,90; N, 6,94.

M.S (vypočítané): 448,58 (MH⁺),

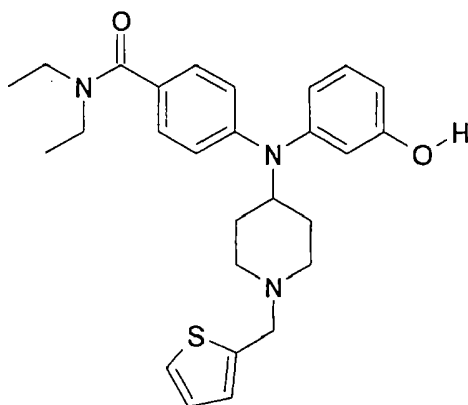
M.S (nájdene): 448,21 (MH⁺)

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18; gradient: 20 až 50 % B v 25 min, 1 ml/min, 25 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN; k': 2.83; Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm).

Príklad 28

Príprava *N,N*-dietyl-4-[(3-hydroxyfenyl)[1-(2-tienylmetyl)-4-piperidiny]amino]benzamidu (zlúčenina 38)

Zlúčenina 38, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 2-tiofénkarboxaldehydu.



(38)

¹H NMR: (400 MHz, DMSO) δ 1,18 (t, J = 7,4 Hz, 6H, 2 x CH₃), 1,52 – 1,62 (m, 2H, 2 x CH), 1,89 – 1,93 (m, 2H, 2 x CH), 2,14 – 2,21 (m, 2 x CH), 3,00 – 3,03 (m, 2 x CH), 3,42 (Br, 2 x CH₂), 3,74 (s, 2H, NCH₂), 3,80 – 3,83 (m, 1H, NCH), 6,33 – 6,35 (m, 1H), 6,47 – 6,49 (m, 1H), 6,56 – 6,59 (m, 1H), 6,62 – 6,65 (m, 2H), 6,89 – 6,94 (m, 2H), 7,13 – 7,17 (m, 1H), 7,20 – 7,22 (m, 1H), 7,22 – 7,26 (m, 2H).

¹H NMR: (Analýza. Vypočítané pre $C_{27}H_{33}N_3O_2S \times 1,3 C_2HF_3O_2 \times 0,5 H_2O$: C, 57,26; H, 5,73; N, 6,77; Nájdene: C, 57,32; H, 5,79; N, 6,73.

M.S (vypočítané pre): 464,64 (MH+),

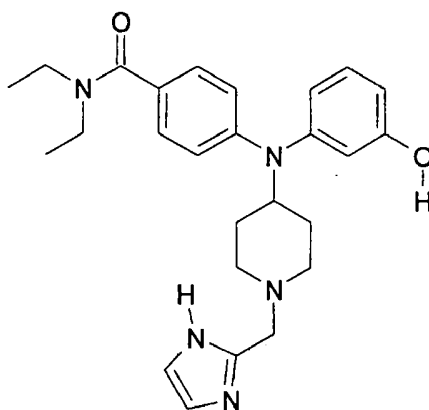
M.S (nájdené): 464,15 (MH+)

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18; gradient: 20 až 50 % B v 25 min, 1 ml/min, 25 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN; k': 5.99; Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm).

Príklad 29

Príprava *N,N*-dietyl-4-{3-hydroxy[1-(1*H*-imidazol-2-ylmetyl)-4-piperidiny]anilino}benz-amidu (zlúčenina 39)

Zlúčenina 39, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 2-imidazolkarboxaldehydu.



(39)

¹H NMR: (400 MHz, DMSO) δ 1,08 (t, 6H, 2 x CH₃), 1,54 – 1,63 (m, 2H, 2 x CH), 2,04 – 2,08 (m, 2H, 2 x CH), 3,09 – 3,17 (m, 2 x CH), 3,27 – 3,33 (m, 2 X CH₂), 3,40 – 3,45 (2 X CH), 4,16 – 4,22 (m, 3H, NCH, NCH₂), 6,38 (s, 1H), 6,45 – 6,48 (m, 1H), 6,64 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,66 – 6,69 (m, 1H), 7,18 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,20 – 7,22 (m, 1H), 7,48 (s, 1H), 8,28.

Analýza. Vypočítané pre C₂₆H₃₃N₅O₂ x 2,0 C₂HF₃O₂ X 1,1 H₂O: C, 51,81; H, 5,39; N, 10,07; Nájdené: C, 51,87; H, 5,40; N, 10,01.

M.S (vypočítané): 448,58 (MH+),

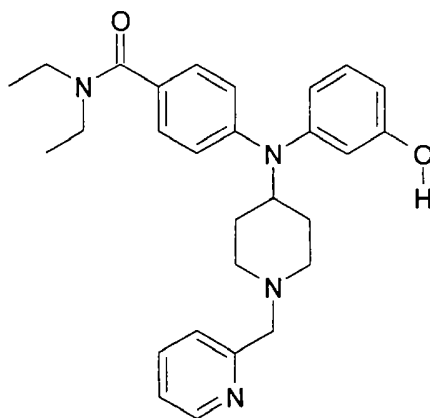
M.S (nájdené): 448,22 (MH+)

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18; gradient: 20 až 50 % B v 25 min, 1 ml/min, 25 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN; k': 2.92; Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm).

Príklad 30

Príprava *N,N*-dietyl-4-{3-hydroxy[1-(2-pyridinylmetyl)-4-piperidiny]anilino}benzamid (zlučienina 40)

Zlučienina 40, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 2-pyridínkarboxaldehydu.



(40)

¹H NMR: (400 MHz, DMSO) δ 1,07 (t, 6H, 2 x CH₃), 1,66 – 1,75 (m, 2H, 2 x CH), 2,01 – 2,05 (m, 2H, 2 x CH), 3,21 – 3,46 (m, 8H, 2 x CH, 2 x CH₂, 2 x CH), 4,20 – 4,23 (m, 1H, NCH), 4,39 (s, 2H, NCH₂), 6,37 – 6,39 (m, 1H), 6,45 – 6,48 (m, 1H), 6,64 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,66 – 6,68 (m, 1H), 7,18 Hz (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,21 – 7,24 (m, 1H), 7,43 – 7,51 (m, 2H), 7,88 – 7,92 (s, 1H), 8,62 – 8,63 (m, 1H), 9,53 (br s, 1H), 9,69 (br s, 1H).

Analýza. Vypočítané pre C₂₈H₃₄N₄O₂ x 1,5 C₂HF₃O₂ X 0,2 H₂O: C, 58,80; H, 5,71; N, 8,85; Nájdene: C, 58,78; H, 5,77; N, 8,74.

M.S (vypočítané): 459,60 (MH⁺),

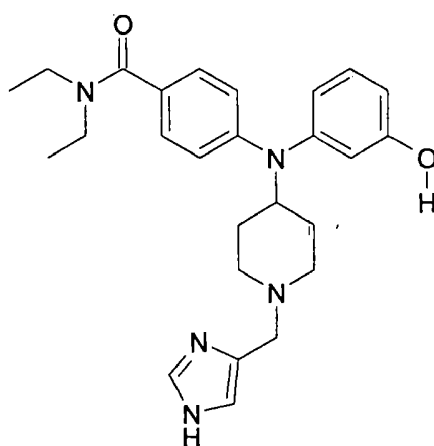
M.S (nájdene): 459,23 (MH⁺)

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18; gradient: 20 až 50 % B v 25 min, 1 ml/min, 25 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN; k': 4.89; Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm).

Príklad 31

Príprava *N,N*-dietyl-4-{3-hydroxy[1-(1*H*-imidazol-5-ylmetyl)-4-piperidiny]anilino}-benzamid (zlučenina 41)

Zlučenina 41, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 4-imidazolkarboxaldehydu.



(41)

¹H NMR: (400 MHz, DMSO) δ 1,08 (t, 6H, 2 x CH₃), 1,54 – 1,63 (m, 2H, 2 x CH), 2,04 – 2,08 (m, 2H, 2 x CH), 3,09 – 3,17 (m, 2 x CH), 3,27 – 3,33 (m, 2 X CH₂), 3,40 – 3,45 (2 X CH), 4,16 – 4,22 (m, 3H, NCH, NCH₂), 6,38 (s, 1H), 6,45 – 6,48 (m, 1H), 6,64 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,66 – 6,69 (m, 1H), 7,18 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,20 – 7,22 (m, 1H), 7,48 (s, 1H), 8,28 (br s, 1H), 9,53 (br s, 1 H).

Analýza. Vypočítané pre C₂₆H₃₃N₅O₂ x 2,3 C₂HF₃O₂ X 0,8 H₂O: C, 50,75; H, 5,14; N, 9,67; Nájdené: C, 50,80; H, 5,15; N, 9,56.

M.S (vypočítané): 448,58 (MH⁺),

M.S (nájdené): 448,23 (MH⁺)

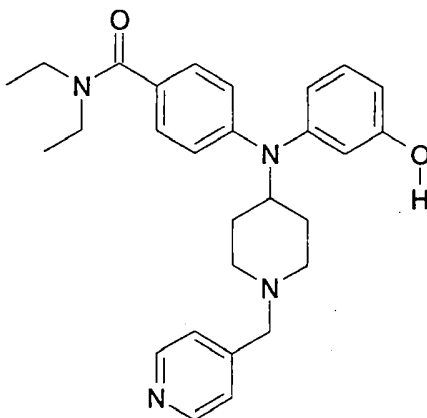
Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18; gradient: 20 až 50 % B v 25 min, 1 ml/min, 25 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN; k': 2.92; Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm).

Príklad 32

Príprava

N,N-dietyl-4-{3-hydroxy[1-(4-pyridinylmetyl)-4-piperidiny]anilino}benzamid (zlúčenina 42)

Zlúčenina 42, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 4-pyridínkarboxaldehydu.



(42)

¹H NMR: (400 MHz, DMSO) δ 1,06 (t, 6H, 2 x CH₃), 1,53 – 1,62 (m, 2H, 2 x CH), 2,04 – 2,08 (m, 2H, 2 x CH), 3,15 – 3,21 (m, 2H, 2 x CH), 3,26 – 3,31 (m, 4H, 2 x CH₂), 3,39 – 3,42 (m, 2H, 2 x CH), 4,18 – 4,24 (m, 1H, NCH), 4,30 (s, 2H, NCH₂), 6,36 – 6,39 (m, 1H), 6,44 – 6,47 (m, 1H), 6,62 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,66 – 6,89 (m, 1H), 7,18 Hz (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,21 – 7,24 (m, 1H), 7,51 (d, J = 5,6 Hz, 2H), 8,68 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 9,45 (br s, 1H).

Analýza. Vypočítané pre C₂₈H₃₄N₄O₂ x 2,4 C₂HF₃O₂ X 1,1 H₂O: C, 52,38; H, 5,17; N, 7,45; Nájsené: C, 52,42; H, 5,27; N, 7,35.

M.S (vypočítané): 459,60 (MH⁺),

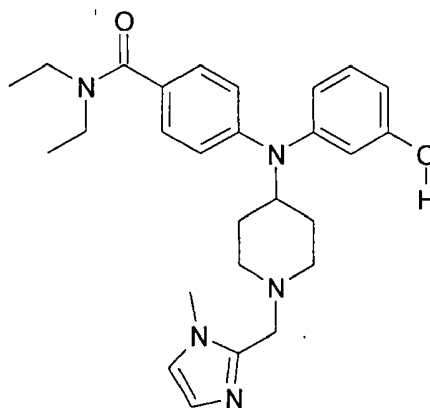
M.S (nájsené): 459,23 (MH⁺)

Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18; gradient: 20 až 50 % B v 25 min, 1 ml/min, 25 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN; k': 3.07; Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm).

Príklad 33

Príprava *N,N*-dietyl-4-(3-hydroxy{1-[(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)metyl]-4-piperidiny}-anilino)benzamidu (zlúčenina 43)

Zlúčenina 43, uvedená v názve, sa pripravila podľa vyššie uvedenej Schémy I, s použitím 1-metyl-2-imidazolkarboxaldehydu.



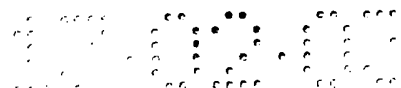
(43)

¹H NMR: (400 MHz, (CD₃OD) δ 1,15 – 1,20 (m, 6H, 2 x CH₃), 1,57 – 1,67 (m, 2H, 2 x CH), 2,02 – 2,08 (m, 2H, 2 x CH), 2,59 – 2,66 (m, 2 x CH), 3,03 – 3,09 (m, 2 x CH), 3,44 (br s, 2 x CH₂), 3,83 (s, 3H, NCH₃), 3,99 (Br s, NCH₂), 4,01 – 4,09 (m, 1H, CH), 6,48 – 6,50 (m, 1H), 6,53 – 6,56 (m, 1H), 6,64 – 6,67 (m, 2H), 6,72 – 6,75 (m, 1H), 7,19 – 7,25 (m, 3H), 7,37 (m, 1H), 7,44 (m, 1H).

Analýza. Vypočítané pre C₂₇H₃₅N₅O₂ x 2,0 C₂HF₃O₂ X 0,2 H₂O: C, 53,71; H, 5,44; N, 10,10; Nájsené: C, 53,67; H, 5,80; N, 10,20.

M.S (vypočítané): 462,61 (MH⁺),

M.S (nájsené): 462,23 (MH⁺)



Podmienky HPLC: kolóna: Luna C-18; gradient: 20 až 50 % B v 25 min, 1 ml/min, 25 °C, A- 0,1 % TFA v H₂O, B- 0,1 % TFA v CH₃CN; k': 3.07; Čistota: > 99 % (215 nm), > 99 % (254 nm).

Farmaceutické kompozície

Deriváty benzamidu podľa predloženého vynálezu sa môžu podávať orálne, intramuskulárne, subkutánne, topicky, intranazálne, intraperitoneálne, intratoraciálne, intravenózne, epidurálne, intratekálne, intracerebroventrikulárne a injekciou do kĺbov.

Výhodným spôsobom podávania je orálne, intravenózne alebo intramuskulárne podávanie.

Dávkovanie bude závisieť od spôsobu podávania, závažnosti ochorenia, veku a hmotnosti pacienta a od ďalších faktorov, ktoré ošetrojúci lekár zvyčajne berie do úvahy pri stanovení individuálneho režimu a dávkovej hladiny, ktoré by boli najvhodnejšie pre konkrétného pacienta.

Pri príprave farmaceutických kompozícií zo zlúčenín podľa predloženého vynálezu sa môžu použiť inertné, farmaceuticky prijateľné nosiče buď pevné alebo kvapalné. Prípravky v pevnej forme zahrňujú prášky, tablety, dispergovateľné granule, kapsule, kašety a čípky.

Pevným nosičom môže byť jedna alebo viac látok, ktoré môžu tiež pôsobiť ako riedidlá, aromatické činidlá, rozpúšťadlá, mastivá, suspenlačné činidlá, spojivá alebo činidlá na použitie ako dezintegrátory tabliet; taktiež ním môže byť enkapsulačný materiál.

Pri práškoch je nosičom jemne rozomletá pevná látka, ktorá je v zmesi s jemne rozomletou účinnou zložkou. Pri tabletách sa účinná látka vo vhodných podieloch zmieša s nosičom, ktorý má potrebné väzobné vlastnosti a lisuje sa do požadovaného tvaru a veľkosti.

Pri príprave čípkových kompozícií sa vosk s nízkou teplotou topenia, ako je zmes glyceridov mastných kyselín a kakaového masla, najskôr taví a účinná zložka

sa v tejto zmesi disperguje, napríklad miešaním. Roztavená homogénna zmes sa potom vlieva do foriem zvyčajnej veľkosti a nechá sa vychladnúť a stuhnúť.

Vhodnými nosičmi sú uhličitan horečnatý, stearát horečnatý, mastenec, laktóza, cukor, pektín, dextrín, škrob, tragakant, metylcelulóza, natriumkarboxymetylcelulóza a vosk s nízkou teplotou topenia, kakaové maslo a podobne.

Farmaceuticky prijateľnými soľami sú acetát, benzénsulfonát, benzoát, hydrogenuhličitan, bivián, bromid, octan vápenatý, kamsylát, uhličitan, chlorid, citrát, dihydrochlorid, edetát, edisylát, estolát, eerylát, fumarát, glukaptát, glukonát, glutamát, glykolyarsanilát, hexylrezorcinát, hydrabamín, hydrobromid, hydrochlorid, hydroxynaftoát, jodid, izetionát, laktát, laktobionát, malát, maleát, mandelát meerylát, metylbromid, metylnitrát, metylsulfát, mukonát, napsylát, nitrát, pamoát (embonát), pantotenát, fosfát/difosfát, polygalakturonát, salicylát, stearát, subacetát, jantaran, sulfát, soľ kyseliny tieslovej, vínan, teoklát, trietiodid, benzatín, chlórprokaín, cholín, dietanolamín, etyléndiamín, meglumín, prokaín, hliník, vápnik, lítium, horčík, draslík, sodík a zinok. Výhodnými farmaceuticky prijateľnými soľami sú hydrochloridy a biviány. Hydrochloridové soli a sulfáty sú predovšetkým výhodné.

Pojem kompozícia je mienený tak, že zahrňuje prípravky účinnej zložky s enkapsulovaným materiálom ako nosiče, pod podmienkou, že kapsula, v ktorej je účinná zložka (s alebo bez ďalších nosičov) je obklopená nosičom, ktorý je teda s ňou spojený. Podobne sú sem zahrnuté kašety.

Tablety, prášky, kašety a kapsule sa môžu použiť ako pevné dávkové formy vhodné na orálne podávanie.

Kvapalné formy kompozícií zahrňujú roztoky, suspenzie a emulzie. Ako kvapalné prípravky vhodné na parenterálne podávanie sa rovnako môžu spomenúť sterilné vodné alebo vodno-propylénglykolové roztoky účinných zlúčenín. Kvapalné kompozície sa môžu tiež formulovať v roztoku, vo vodnom roztoku polyetylénglykolu.

Vodné roztoky na orálne podávanie sa môžu pripraviť rozpustením účinnej zložky vo vode a pridaním vhodných farbív, aromatických činidiel, stabilizátorov a zahusťovacích činidiel, ak je to potrebné. Vodné suspenzie na orálne použitie sa môžu pripraviť dispergovaním jemne rozomletej účinnej zložky vo vode spolu s viskóznym materiálom, ako sú prírodné syntetické gummy, živice, metylcelulóza, natriumkarboxymetylcelulóza a ďalšie suspenzačné činidlá, ktoré sú známe v oblasti farmaceutických prípravkov.

Výhodne sú farmaceutické kompozície v jednotkovej dávkovej forme. V takejto forme je kompozícia rozdelená do jednotkových dávok, ktoré obsahujú vhodné množstvá účinnej zložky. Jednotková dávková forma môže byť baleným prípravkom, pričom balenie obsahuje jednotlivé množstvá prípravkov, ako sú napríklad balené tablety, kapsule a prášky v liekovkách alebo ampulách. Jednotkovou dávkovou formou môže byť tiež samotná kapsula, kašeta alebo tableta, alebo ňou môže byť vhodný počet akýchkoľvek týchto balených foriem.

Biologické vyhodnotenie

Model *in vitro*

Bunková kultúra

Ľudské 293S bunky exprimujúce klonované ľudské μ , δ a κ receptory a rezistentné na neomycín sa nechali rásť v suspenzii pri teplote 37 °C a 5 % CO₂ v trepacích baničkách obsahujúcich DMEM 10 % FBS bez obsahu vápnika, 5 % BCS, 0,1 % Pluronic F-68 a 600 µg/ml geneticínu.

Príprava membrán

Bunky sa peletizovali a resuspendovali v lýznom pufre (50 mM Tris, pH 7,0, 2,5 mM EDTA, s PMSF pridaným bezprostredne pred použitím k 0,1 mM z 0,1 M zásobného roztoku v etanole), inkubovali sa na ľade počas 15 minút, potom sa homogenizovali s polytrónom počas 30 sekúnd. Suspenzia sa odstreďovala pri 1000 g (max) počas 10 minút pri teplote 4 °C. Supernatant sa zachytil na ľade a pelety sa resuspendovali a odstredili sa, ako je uvedené vyššie. Supernatanty z oboch odstredení sa spojili a odstreďovali sa pri 46 000 g (max) počas 30

minút. Pelety sa resuspendovali v chladnom Tris pufre (50 mM Tris/Cl, pH 7,0) a znova sa odstredili. Finálne pelety sa resuspendovali v membránovom pufre (50 mM Tris, 0,32 M sacharózy, pH 7,0). Alikvótne podiely (1 ml) v polypropylénových skúmavkách sa vymrazili v suchej zmesi ľad/etanol a skladovali sa pri teplote – 70 °C až do použitia. Koncentrácie proteínu sa stanovili pomocou modifikovanej Lowryho skúšky s SDS.

Skúšky väzbovosti

Membrány sa rozmrazili pri teplote 37 °C, ochladili sa na ľade, nechali sa prejsť trikrát cez 25-kalibrovanú ihlu a zriedili sa na väzbový pufer (50 mM Tris, 3 mM MgCl₂, 1 mg/ml BSA (Sigma A-7888), pH 7,4, ktorý sa skladoval pri teplote 4 °C po filtrácii cez 0,22 µm filter a ku ktorému sa pridalo čerstvých 5 µg/ml aprotinínu, 10 µM bestatínu, 10 µM diprotínu A, žiaden DTT). Alikvótne podiely 100 µl (µg proteínu pozri tabuľka 1) sa pridali do ľadovo chladných 12 x 75 mm polypropylénových skúmaviek obsahujúcich 100 µl vhodného rádioligandu (pozri tabuľka 1) a 100 µl testovaných peptidov v rozličných koncentráciách. Celková väzbovosť (total binding, TB) a nešpecifická (nonspecific binding, NS) väzbovosť sa stanovili v neprítomnosti a v prítomnosti 10 µM naloxónu. Skúmavky sa prevrátili a inkubovali sa pri teplote 25 °C počas 60 až 75 minút. Po tomto čase sa obsahy rýchle prefiltrovali za vákua a premyli sa s približne 12 ml/skúmavku ľadového premývacieho pufru (50 mM Tris, pH 7,0, 3 mM MgCl₂) cez GF/B filtre (Whatman), ktoré sa vopred nechali nasakovať počas najmenej 2 hodín v 0,1 % polyetylénimíne. Rádioaktivita (dpm) zadržiavaná na filtroch sa merala s beta-čítačom po nasakovaní filtrov počas najmenej 12 hodín v miniliekovkách obsahujúcich 6 až 7 ml scintilačnej kvapaliny. Ak sa vzorka má vložiť do 96-jamkových platničiek, filtrácia sa uskutoční cez 96-miestne PEI-nasiaknuté monofiltre, ktoré sa premyli s 3 x 1 ml premývacieho pufru a vysušili v sušiarňi pri teplote 55 °C počas 2 hodín. Filtračné platne sa čítali v zariadení TopCount (Packard) po pridaní 50 µl MS-20 scintilačnej kvapaliny na jamku. Všetky biologické údaje sú zosumarizované v tabuľke 1.

Tabuľka 1

Biologické údaje pre príklady uvedené v opise prihlášky

Príklad #	HDELTA	HDELTA		Mozog potkanov		Mozog myši		MLM		RLM	
		EC50	% EMAX	EC50	% EMAX	EC50	% EMAX	10000 % REM.	100000 % REM.	10000 % REM.	100000 % REM.
1	0,436	0,61	105,4	9,61	99,49	14,97	112,07	10,4	85,2	4,333	66,125
6	0,466	0,21	107,1	3,41	133,06	3,54	134,25	2	69	5,333	81,333
15	0,221	0,22	104,82	4,29	140,11	7,5	131,28	3,5	83,5	8	73
16	0,271	0,22	96,86	5,53	123,99	7,92	140,7	5	83	1,5	66,5
19	1,296	1,26	103,63	50,48	88,32			30,667	61,667	0	35,667
20	1,324	0,98	99,86	36,88	86,02	20,72	74,02	30,5	81,5	4,5	51,5
21	0,987	1,52	98,72	81,24	101,79			16,333	85	2,333	45
22	2,127	1,23	109,06	19,03	102,46	23,98	96,36	8,5	85	17	63
23	1,436	0,4	98,85	6,83	102,98	4,74	91,08	30,5	93	20,5	75
24	0,704	2,63	92,31	45,93	92,88	43,21	91,26	3,5	71,5	3,5	87,5
25	0,763	1,13	111,21	14,4	113,59	16,14	112,12	0	71	4	71
26	0,641	1,14	104,65	11,72	78,42	9,3	88,34	31,5	86	3,5	63,5
27	0,416	1,29	101,34	19,64	129,03	44,19	130,03	2	65	3,5	54,5
28	0,651	0,7	106,46	23,45	141,23	40,24	144,02	1,5	80	1,5	52
29	0,3	1,17	118,27	18,68	107,04	31,03	130,01	6	92,5	36,5	74,5
30	0,24	0,26	95,88	4,12	158,09	6,55	159,09	26	82	31	74
31	1,61	14,05	105,52	130,53	41,3	152,57	50,26				
32	1,023	3,92	114,6	85	122,51	119,46	115,43				
33	1,707	13,3	87,74	125,51	100,37	217,34	100,53				

Analytické dáta

Špecifická väzbovosť (SB) sa vypočítala ako TB-NS a špecifická väzbovosť v prítomnosti rozličných testovaných peptidov sa vyjadrila ako percento kontroly špecifickej väzbovosti. Hodnoty IC_{50} a Hill koeficient (n_H) pre ligandy vo vytesňujúcom špecificky viazanom rádioligande sa vypočítali z logit grafov alebo z programov prekladania bodov regresnou krivkou, ako je Ligand, GraphPad Prism, SigmaPlot alebo ReceptorFit. Hodnoty K_i sa vypočítali z Cheng-Prusoffovej rovnice. Stredné $\pm$ S.E.M. hodnoty pre IC_{50} , K_i a n_H sú uvedené pre ligandy testované pre najmenej tri krivky vytesňovania.

Experimenty nasýtenia receptora

Hodnoty rádioligandu K_d sa stanovili uskutočnením skúšok väzbovosti na bunkových membránach s vhodnými rádioligandmi v koncentráciách v rozsahu od 0,2-násobku do 5-násobku hodnoteného K_d (až do 10-násobku, ak sú množstvá požadovaného rádioligandu možné). Špecifická väzbovosť rádioligandu sa vyjadrila ako pmol/mg proteínu membrány. Hodnoty K_d a B_{max} z jednotlivých experimentov

sa získali z nelineárnych zostavení špecifickej väzby (B) *versus* nM voľného (F) rádioligandu z jednotlivého prípadu podľa jednomiestneho modelu.

Stanovenie mechano-alodýnie s použitím Von Freyovho testovania

Testovanie sa uskutočnilo v čase medzi 08:00 a 16:00 hod. s použitím metódy, ktorú opísali Chaplan a kol. (1994). Potkany sa umiestnili do kliebok, ktoré mali hornú časť z plexiskla a dno z drôteného pletiva, ktoré umožňovalo prístup pre labky, a nechali sa aklimatizovať počas 10 až 15 minút. Testovanou oblasťou bola ľavá zadná labka v strednej plantárnej oblasti, pričom sa vylúčili menej citlivé časti labky. Labka sa uvádzala do kontaktu so sériami 8 Von Freyových nití, s logaritmicky sa zvyšujúcou silou (0,41, 0,69, 1,20, 2,04, 3,63, 5,50, 8,51 a 15,14 gramov; Stoelting, III, USA). Von Freyova niť sa aplikovala zo spodnej časti pletiva podlahy kolmo ku plantárnemu povrchu s dostatočnou silou, aby spôsobila miernu deformáciu voči labke a takto sa udržiavala približne počas 6 až 8 sekúnd. Pozitívna odozva sa zaznamenala ak sa labka prudko odtiahla. Odtiahnutie bezprostredne po odstránení nite sa taktiež považovalo za pozitívnu odozvu. Chôdza sa považovala za nejednoznačnú odozvu a v takýchto prípadoch sa podnet opakoval.

Experimentálny protokol

Zvieratá sa testovali na postoperačný deň 1 na FCA-ošetrovanú skupinu. Prah odtiahnutia 50% sa stanovil s použitím metódy hore-dolu podľa Dixona (1980). Testovanie sa začalo s niťou 2,04 g, uprostred sériei. Podnety sa vždy uskutočňovali postupným spôsobom, či vzostupným alebo klesajúcim. Pri neprítomnosti odozvy odtiahnutia labky na počiatočne zvolenú niť sa uskutočnil silnejší podnet; v prípade odtiahnutia labky sa ako nasledujúci zvolil slabší podnet. Pre optimálny výpočet prahu pomocou tejto metódy sa vyžaduje 6 odoziev v bezprostrednej blízkosti 50 % prahu a výpočet týchto 6 odoziev sa začal vtedy, keď sa objavila prvá zmena v odozve, napríklad keď sa po prvý raz prekročil prah. V prípadoch kedy sa prahy ocitli mimo rozsahu podnetov, priradili sa im hodnoty 15,14 (normálna citlivosť) alebo 0,41 (maximálne alodynické). Výsledné vzory pozitívnych a negatívnych odoziev sa usporiadali do tabuľky s použitím

konvenčných označení, X = žiadne odtiahnutie; O = odtiahnutie a prah odtiahnutia 50 % sa interpoloval podľa vzorca:

$$50 \% \text{ g prah} = 10^{(X_f + k\delta)} / 10\,000$$

kde X_f = hodnota pre poslednú použitú niť podľa von Freya (log jednotky); k = tabuľková hodnota (podľa Chaplan a kol. (1994)) pre vzor pozitívnych/negatívnych odoziev; a δ = stredný rozdiel medzi podnetmi (log jednotiek). Tu $\delta = 0,224$.

Von Freyove prahy sa konvertovali na percento maximálneho možného účinku (% MPE), podľa Chaplana a kol. 1994. Nasledujúca rovnica sa použila na vypočítanie percenta MPE:

$$\% \text{ MPE} = \frac{\text{prah pri ošetrovaní liečivom (g)} - \text{prah alodýnie (g)} \times 100}{\text{prah kontroly (g)} - \text{prah alodýnie (g)}}$$

Podávanie testovanej látky

Potkanom sa injekčne (subkutánne, intraperitoneálne, intravenózne alebo orálne) podala testovaná látka pred von Freyovým testovaním, čas medzi podaním testovanej zlúčeniny a von Freyovým testom varíroval v závislosti od povahy testovanej zlúčeniny.

Writhingov test

Kyselina octová spôsobuje abdominálne kontrakcie, ak sa podáva intraperitoneálne myšiam. Tieto potom zväčšujú telo typickým spôsobom. Ak sa podávajú analgetické liečivá, tento opísaný pohyb sa pozoruje menej často a zvolené liečivo je možným dobrým kandidátom.

Celkový a typický Writhingov reflex sa berie do úvahy len vtedy, ak sú prítomné nasledujúce elementy: zvera sa nie je v pohybe; dolná časť chrbta je mierne znížená; je pozorovateľný plantárny aspekt obidvoch labiek.

(i) Príprava roztokov

Kyselina octová (AcOH): 120 μ l kyseliny octovej sa pridalo ku 19,88 ml destilovanej vody, aby sa dosiahol konečný objem 20 ml s konečnou koncentráciou 0,6 % AcOH. Roztok sa potom zmiešal (vírenie) a bol pripravený pre injektovanie.

Zlúčenina (liečivo): Každá zlúčenina sa pripravila a rozpustila v najvhodnejšej pomocnej látke, s použitím štandardných postupov.

(ii) Podávanie roztokov

Zlúčenina (liečivo) sa podávala orálne, intraperitoneálne (i.p.), subkutánne (s.c.) alebo intravenózne (i.v.) v množstve 10 ml/kg (pričom sa zohľadnila priemerná telesná hmotnosť myši) 20, 30 alebo 40 minút (podľa triedy zlúčeniny a jej charakteristík) pred testovaním. Ak sa zlúčenina dodávala centrálnie: Intraventrikulárne (i.c.v.) alebo intratekálne (i.t.), podával sa objem 5 μ l.

Kyselina octová sa podávala intraperitoneálne (i.p.) v dvoch miestach v množstve 10 ml/kg bezprostredne pred testovaním (pričom sa zohľadnila priemerná telesná hmotnosť myši).

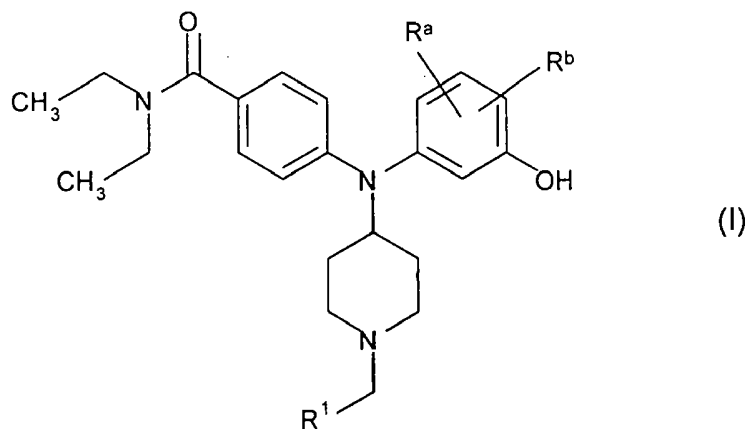
(iii) Testovanie

Zvieratá (myši) sa pozorovali počas obdobia 20 minút a počet prípadov (Writhingov reflex) sa zaznamenával a zostavil na konci experimentu. Myši sa udržiavali v individuálnych klietkach "škatule na topánky" s kontaktným uložením. Celkovo sa zvyčajne pozorovali štyri myši v rovnakom čase: jedna kontrola a tri s dávkami liečiva.

PATENTOVÉ NÁROKY

PP 884-2002

1. Deriváty benzamidu všeobecného vzorca I

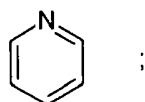


v ktorom

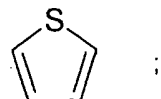
R¹ je zvolené zo skupiny zahrňujúcej jeden z nasledujúcich substituentov

(i) fenyl;

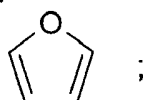
(ii) pyridinyl



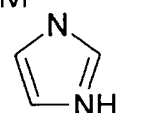
(iii) tiofenyl



(iv) furanyl



(v) imidazolyl



N,N-dietyl-4-[(2-fluór-5-hydroxyfenyl)[1-(fenylmetyl)-4-piperidiny]amino]benzamid;

N,N-dietyl-4-[[1-(3-furanylmetyl)-4-piperidiny](3-hydroxyfenyl)amino]benzamid;

N,N-dietyl-4-[(3-hydroxyfenyl)[1-(3-tienylmetyl)-4-piperidiny]amino]benzamid;

N,N-dietyl-4-[(3-hydroxyfenyl)[1-[[4-(trifluórmetyl)fenyl]metyl]-4-piperidiny]amino]-benzamid;

N,N-dietyl-4-[(3-hydroxyfenyl)[1-[(4-jódfenyl)metyl]-4-piperidiny]amino]benzamid;

N,N-dietyl-4-[[1-[(4-brómfenyl)metyl]-4-piperidiny](3-hydroxyfenyl)amino]benzamid;

N,N-dietyl-4-[[1-[(4-chlórfenyl)metyl]-4-piperidiny](3-hydroxyfenyl)amino]benzamid;

N,N-dietyl-4-[[1-[(4-fluórfenyl)metyl]-4-piperidiny](3-hydroxyfenyl)amino]benzamid;

4-[[1-[(2,4-dichlórfenyl)metyl]-4-piperidiny](3-hydroxyfenyl)amino]-*N,N*-dietylbenzamid;

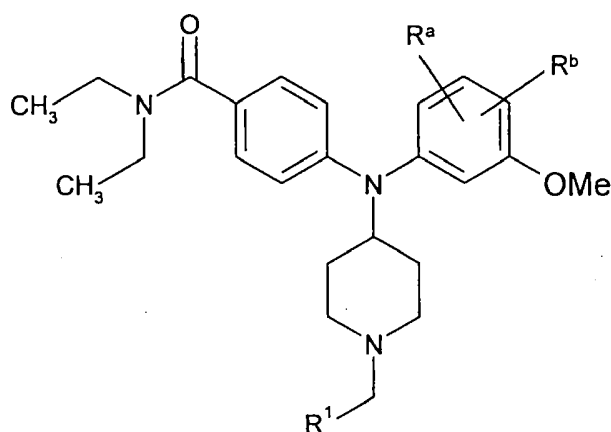
N,N-dietyl-4-[[1-[(3-fluórfenyl)metyl]-4-piperidiny](3-hydroxyfenyl)amino]benzamid;

N,N-dietyl-4-[[1-[(2-fluórfenyl)metyl]-4-piperidiny](3-hydroxyfenyl)amino]benzamid; a

N,N-dietyl-4-[(3-hydroxyfenyl)[1-[(4-metylfenyl)metyl]-4-piperidiny]amino]benzamid.

5. Zlúčenina podľa niektorého z predchádzajúcich nárokov, vo forme hydrochloridovej, sulfátovej, vínanovej alebo citrátovej soli.
6. Zlúčenina podľa niektorého z nárokov 1 až 5 na použitie pri liečení.
7. Zlúčenina nároku 6, pričom liečením je liečenie bolesti.

8. Zlúčenina podľa nároku 6, kde liečenie je zamerané na gastrointestinálne ochorenia.
9. Zlúčenina podľa nároku 6, kde liečenie je zamerané na poranenia chrbtice.
10. Zlúčenina podľa nároku 6, kde liečenie je zamerané na ochorenia sympatického nervového systému.
11. Použitie zlúčeniny podľa nároku 1, na výrobu liečiva na použitie pri liečení bolesti.
12. Použitie zlúčeniny podľa nároku 1, na výrobu liečiva na použitie pri liečení gastrointestinálnych ochorení.
13. Použitie zlúčeniny podľa nároku 1, na výrobu liečiva na použitie pri liečení poranení chrbtice.
14. Farmaceutická kompozícia, vyznačujúca sa tým, že ako účinnú zložku obsahuje zlúčeninu podľa nároku 1, spolu s farmakologicky a farmaceuticky prijateľným nosičom.
15. Zlúčenina vzorca II



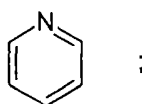
II

v ktorom

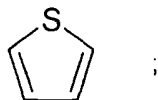
R^1 je zvolené zo skupiny zahrňujúcej jeden z nasledujúcich substituentov

(i) fenyl;

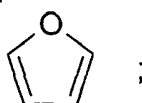
(ii) pyridinyl



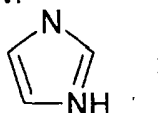
(iii) tiofenyl



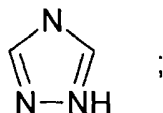
(iv) furanyl



(v) imidazolyl



(vi) triazolyl



kde každý R^1 fenylový kruh a R^1 heteroaromatický kruh môžu byť prípadne a nezávisle ďalej substituované jedným, dvomi alebo tromi substituentmi, ktoré sú zvolené zo skupiny zahrňujúcej lineárnu a rozvetvenú C_1 - C_6 -alkylovú skupinu, NO_2 , CF_3 , C_1 - C_6 -alkoxyskupinu, chlór, fluór, bróm a jód, pričom substitúcie na fenylovom kruhu a na heteroaromatickom kruhu sa môžu uskutočňovať v akejkoľvek polohe na uvedených kruhových systémoch;

R^a a R^b je každý a navzájom nezávisle zvolený zo skupiny zahrňujúcej vodík, lineárnu a rozvetvenú C_1 - C_6 -alkylovú skupinu, NO_2 , CF_3 , C_1 - C_6 -alkoxy-skupinu, chlór, fluór, bróm a jód;