



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 602 08 192 T2 2006.07.13

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 1 395 555 B1

(21) Deutsches Aktenzeichen: 602 08 192.0

(86) PCT-Aktenzeichen: PCT/SE02/00944

(96) Europäisches Aktenzeichen: 02 733 702.1

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 2002/094782

(86) PCT-Anmeldetag: 16.05.2002

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: 28.11.2002

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 10.03.2004

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: 21.12.2005

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 13.07.2006

(51) Int Cl.⁸: C07D 211/58 (2006.01)

C07D 401/06 (2006.01)

C07D 407/06 (2006.01)

C07D 409/06 (2006.01)

C07D 417/06 (2006.01)

A61K 31/4468 (2006.01)

A61K 31/4523 (2006.01)

A61P 25/04 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

0101769 18.05.2001 SE

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE, TR

(73) Patentinhaber:

AstraZeneca AB, Södertälje, SE

(72) Erfinder:

BROWN, William, St. Laurent, Quebec H4S 1Z9,
CA; GRIFFIN, Andrew, St. Laurent, Quebec H4S
1Z9, CA; WALPOLE, Christopher, St. Laurent,
Quebec H4S 1Z9, CA

(54) Bezeichnung: 4-(PHENYL(PIPERIDIN-4-YL)AMINO) BENZAMIDDERIVATE UND DEREN VERWENDUNG ZUR BE-HANDLUNG VON SCHMERZEN, ANGST ODER GASTROINTESTINALEN STÖRUNGEN

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelebt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung**Gebiet der Erfindung**

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft neue Verbindungen, ein Verfahren zu ihrer Herstellung, ihre Verwendung und pharmazeutische Zusammensetzungen, die die neuen Verbindungen enthalten. Die neuen Verbindungen eignen sich für die Therapie und insbesondere zur Behandlung von Schmerzen, Angstzuständen und funktionellen gastrointestinalen Erkrankungen.

Hintergrund der Erfindung

[0002] Man hat festgestellt, daß der δ -Rezeptor bei vielen körperlichen Funktionen wie z.B. in Kreislauf- und Schmerzsystemen eine Rolle spielt. Liganden für den δ -Rezeptor könnten daher eine potentielle Verwendung als Analgetika und/oder als Mittel gegen Bluthochdruck finden. Weiterhin wurde gezeigt, daß Liganden für den δ -Rezeptor immunmodulatorische Wirkungen haben.

[0003] Wenigstens drei verschiedene Populationen von Opioidrezeptoren (μ , δ und κ) sind inzwischen gut charakterisiert, und alle drei treten sowohl bei zentralen als auch bei peripheren Nervensystemen vieler Spezies einschließlich des Menschen in Erscheinung. In verschiedenen Tiermodellen wurde bei Aktivierung eines oder mehrerer dieser Rezeptoren eine analgetische Wirkung beobachtet.

[0004] Mit nur wenigen Ausnahmen sind die gegenwärtig verfügbaren selektiven opioiden δ -Liganden peptidischem und für eine Verabreichung auf systemischem Wege ungeeignet. Ein Beispiel für einen nichtpeptidischen δ -Agonisten ist SNC80 (Bilsky E.J. et al., Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 273(1), S. 359–366 (1995)). Es besteht jedoch weiterhin ein Bedarf an selektiven δ -Agonisten, die nicht nur eine verbesserte Selektivität, sondern auch ein verbessertes Nebenwirkungsprofil haben.

[0005] Das der vorliegenden Erfindung zugrundeliegende Problem war daher, neue Analgetika mit im Vergleich zu den gegenwärtig Verwendung findenden μ -Agonisten verbesserter analgetischer Wirkung, jedoch auch mit einem verbesserten Nebenwirkungsprofil sowie auch mit besserer systemischer Wirksamkeit zu finden.

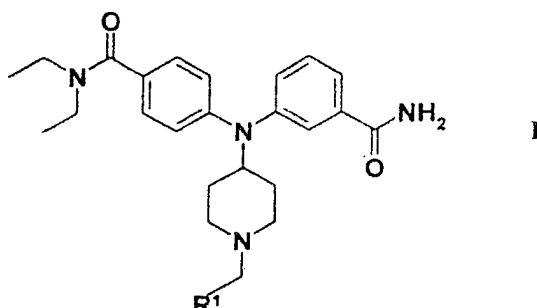
[0006] Die bislang identifizierten Analgetika aus dem Stand der Technik haben viele Nachteile, da sie eine unvorteilhafte Pharmakokinetik zeigen und bei einer Verabreichung auf systemischem Wege keine analgetische Wirkung haben. Weiterhin wurde dokumentiert, daß bevorzugte δ -Agonisten, die im Stand der Technik beschrieben sind, bei einer systemischen Verabreichung eine signifikante konvulsive Wirkung haben.

[0007] In WO 98/28270 und Podlogar et al., Drug Design and Discovery, 34–50 (2000) werden ebenfalls einige δ -Opioidliganden beschrieben, die sich für die Behandlung von Schmerzen eignen. Es besteht jedoch immer noch ein Bedarf an verbesserten Analgetika.

[0008] Es wurden nun bestimmte Verbindungen gefunden, die überraschenderweise verbesserte Eigenschaften, d.h. verbesserte δ -agonistische Wirksamkeit, in-vivo-Wirksamkeit, Pharmakokinetik, Bioverfügbarkeit, in-vitro-Stabilität und/oder geringere Toxizität, aufweisen.

Kurze Beschreibung der Erfindung

[0009] Die neuen Verbindungen gemäß der vorliegenden Erfindung sind durch die Formel I definiert



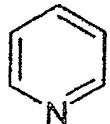
wobei

R¹ ausgewählt ist aus

(i) Phenyl



(ii) Pyridinyl



(iii) Thienyl



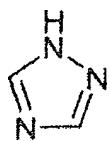
(iv) Furanyl



(v) Imidazolyl



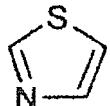
(vi) Triazolyl



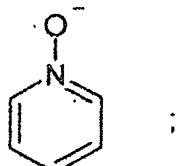
(vii) Pyrrolyl



(viii) Thiazolyl



(ix) Pyridyl-N-oxid



wobei der R¹-Phenylring und die heteroaromatischen R¹-Ringe jeweils gegebenenfalls und unabhängig von einander durch 1, 2 oder 3 Substituenten, unabhängig voneinander ausgewählt aus geradkettigem und ver-

zweigtem C₁-C₆-Alkyl, NO₂, CF₃, C₁-C₆-Alkoxy, Chlor, Fluor, Brom und Iod, weiter substituiert sein können. Die Substitutionen am Phenylring und dem heteroaromatischen Ring können in einer beliebigen Position an diesen Ringsystemen erfolgen.

[0010] Sind der R¹-Phenylring und der/die heteroaromatische(n) R¹-Ring(e) substituiert, so sind die bevorzugten Substituenten beliebig aus CF₃, Methyl, Iod, Brom, Fluor und Chlor ausgewählt.

[0011] Eine weitere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist eine Verbindung gemäß Abbildung I, in welcher R¹ wie oben definiert ist und der R¹-Phenylring und die heteroaromatischen R¹-Ringe jeweils unabhängig voneinander durch eine Methylgruppe weiter substituiert sein können.

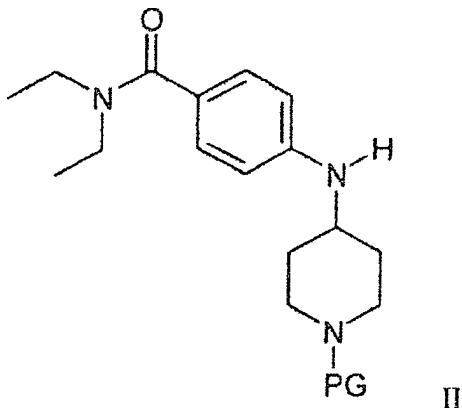
[0012] Eine weitere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist eine Verbindung gemäß Abbildung I, in welcher R¹ für Phenyl, Pyrrolyl, Pyridinyl, Thienyl oder Furanyl steht, gegebenenfalls mit 1 oder 2 der bevorzugten Substituenten am R¹-Phenylring bzw. am heteroaromatischen R¹-Ring.

[0013] Eine weitere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist eine Verbindung gemäß Abbildung I, in welcher R¹ für Phenyl, Pyrrolyl oder Pyridinyl steht, gegebenenfalls mit 1 oder 2 der bevorzugten Substituenten am R¹-Phenylring bzw. am heteroaromatischen R¹-Ring.

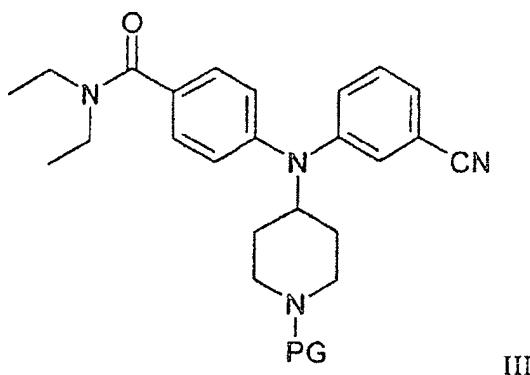
[0014] Eine weitere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist eine Verbindung gemäß Abbildung I, in welcher R¹ für Thienyl oder Furanyl steht, gegebenenfalls mit 1 oder 2 der bevorzugten Substituenten am heteroaromatischen R¹-Ring.

[0015] In den Schutzbereich der Erfindung fallen auch Salze und Enantiomere der Verbindungen der Formel I, einschließlich Salze von Enantiomeren.

[0016] Reaktionsschritt b in Schema 1, siehe unten, wird durchgeführt, indem man ein Zwischenprodukt der allgemeinen Formel II



in welcher PG für eine Urethanschutzgruppe wie Boc oder CBZ oder eine Benzyl- oder substituierte Benzylschutzgruppe wie 2,4-Dimethoxybenzyl steht, unter Verwendung eines Palladiumkatalysators, z.B. Tris(dibenzylidenacetone)dipalladium(0) (Pd₂(dba)₃) in Gegenwart einer Base, z.B. tert.-BuONa, und einem Phosphinliganden wie Bis(diphenylphosphoryldimethyl-9H-xanthen (Xantphos) mit 3-Brombenzonitril zu Verbindungen der allgemeinen Formel III



umsetzt, die anschließend unter Standardbedingungen entschützt und unter basischen Bedingungen hydroly-

siert und entweder:

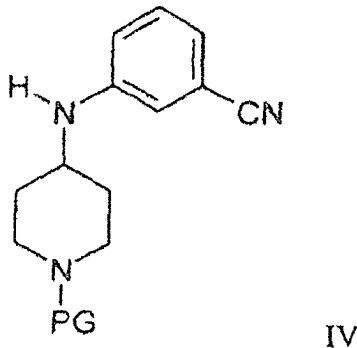
- i) mit einer Verbindung der allgemeinen Formel $R^1\text{-CH}_2\text{-X}$, in welcher R^1 wie oben definiert ist und X für Halogen, vorzugsweise Brom oder Chlor, steht, und einer geeigneten Base, oder
- ii) mit einer Verbindung der allgemeinen Formel $R^1\text{-CHO}$, in welcher R^1 wie oben definiert ist, und einem geeigneten Reduktionsmittel,

alkyliert werden, wodurch man Verbindungen der allgemeinen Formel I erhält.

[0017] Für eine Verwendung in dem Standardalkylierungsschritt i) oben geeignete Basen schließen Triethylamin und Kaliumcarbonat ein, sind jedoch nicht hierauf beschränkt.

[0018] Für eine Verwendung in dem Standardreduktionsschritt ii) oben geeignete Reduktionsmittel schließen Natriumcyanoborhydrid und Natriumtriacetoxyborhydrid ein, sind jedoch nicht hierauf beschränkt.

[0019] Reaktionsschritt b wird alternativ dazu wie in Schema 2, siehe unten, durchgeführt, indem man ein Zwischenprodukt der allgemeinen Formel IV



in welcher PG für eine Urethanschutzgruppe wie Boc oder CBZ oder eine Benzyl- oder substituierte Benzylschutzgruppe wie 2,4-Dimethoxybenzyl steht, unter Verwendung eines Palladiumkatalysators, z.B. $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, in Gegenwart einer Base, z.B. tert.-BuONa, und eines Phosphinliganden wie Xantphos mit N,N-Diethyl-4-Brombenzamid zu Verbindungen der obigen allgemeinen Formel III umsetzt.

[0020] Die neuen Verbindungen der vorliegenden Erfindung eignen sich für die Therapie, insbesondere für die Behandlung verschiedener Schmerzzustände wie chronische Schmerzen, neuropathische Schmerzen, akute Schmerzen, Krebsschmerzen, durch rheumatoide Arthritis verursachte Schmerzen, Migräne, viszerale Schmerzen usw. Diese Aufzählung sollte jedoch nicht als erschöpfend angesehen werden.

[0021] Die erfindungsgemäßen Verbindungen eignen sich als Immunmodulatoren, insbesondere für Autoimmunerkrankungen wie Arthritis, für Hauttransplantationen, Organtransplantationen und ähnliche chirurgische Bedürfnisse, für Kollagenerkrankungen, verschiedene Allergien, für eine Verwendung als Antitumormittel und als antivirale Mittel.

[0022] Die erfindungsgemäßen Verbindungen eignen sich für Leiden, bei denen eine Degeneration oder Dysfunktion von Opioidrezeptoren vorliegt oder in diesem Paradigma impliziert wird. Hierbei kann es zur Anwendung von isotopenmarkierten Versionen der erfindungsgemäßen Verbindungen in diagnostischen Verfahren und Anwendungen zur Bilddarstellung wie der Positronenemissionstomographie (PET) kommen.

[0023] Die erfindungsgemäßen Verbindungen eignen sich zur Behandlung von Diarröe, Depressionen, Angstzuständen und streßbedingten Erkrankungen wie durch posttraumatischen Stress verursachte Erkrankungen, Panikanfällen, allgemeinen Angstneurosen, sozialer Phobie und Zwangsnurosen; Harninkontinenz, verschiedenen Geisteskrankheiten, Husten, Lungenödem, verschiedenen Erkrankungen des Magen-Darm-Systems, zum Beispiel Verstopfung, funktionelle Störungen des Magen-Darm-Systems wie Reizkolon und funktionelle Dyspepsie, Parkinson-Krankheit und anderen motorischen Störungen, traumatischer Hirnverletzung, Schlaganfall, Kardioprotektion nach Herzinfarkt, Rückenmarksverletzungen und Drogenabhängigkeit, einschließlich der Behandlung des Mißbrauchs von Alkohol, Nikotin, Opioiden und anderen Drogen, und für Erkrankungen des sympathischen Nervensystems, beispielsweise Bluthochdruck.

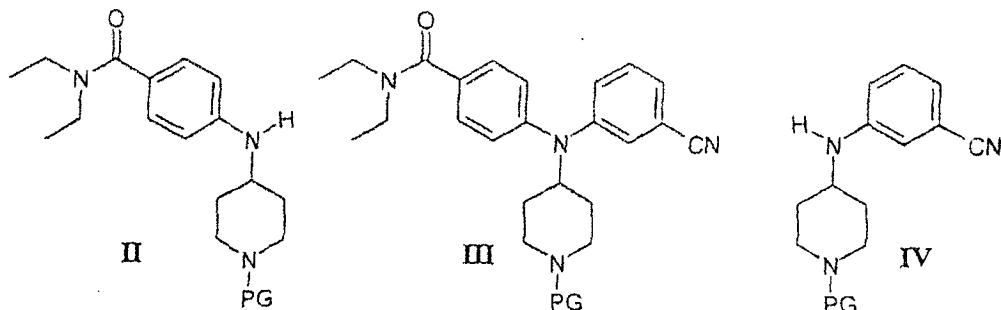
[0024] Die erfindungsgemäßen Verbindungen eignen sich als Analgetika für eine Verwendung während einer Vollnarkose und einer kontrollierten anästhetischen Betreuung. Um eine Balance der zur Aufrechterhaltung

des anästhetischen Zustands (z.B. Amnesie, Analgese, Muskelentspannung und Sedation) benötigten Wirkungen zu erzielen, werden häufig Kombinationen von Mitteln mit verschiedenen Eigenschaften angewendet. Diese Kombination schließt inhalierbare Anästhetika, Hypnotika, Anxiolytika, neuromuskuläre Blocker und Opioide ein.

[0025] Der Schutzbereich der Erfindung schließt weiterhin die Verwendung der Verbindungen gemäß der obigen Formel I zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung eines der oben angesprochenen Leiden ein.

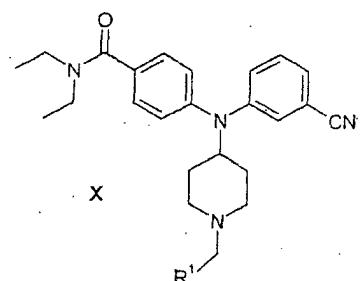
[0026] Ein weiterer Aspekt der Erfindung ist ein Verfahren zur Behandlung eines an einer der oben angesprochenen Erkrankungen leidenden Patienten, bei dem man einem einer solchen Behandlung bedürftigen Patienten eine wirksame Menge einer Verbindung gemäß der obigen Formel I verabreicht.

[0027] Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft Zwischenprodukte der allgemeinen Formeln II, III und IV,



wobei PG für eine Urethanschutzgruppe wie Boc und CBZ oder Benzyl oder eine substituierte Benzylschutzgruppe wie 2,4-Dimethoxybenzyl steht.

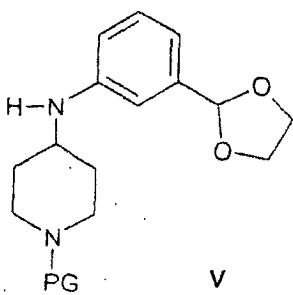
[0028] Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft Zwischenprodukte der Formel X;



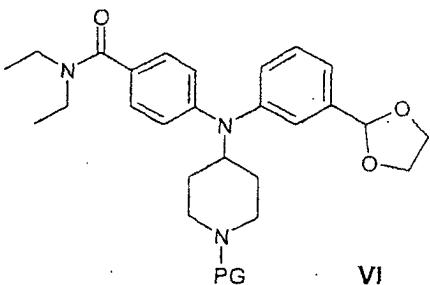
wobei R^1 wie oben in Bezug auf Formel I beschrieben ist.

[0029] Bei einem alternativen Syntheseweg, der unten in Schema 4 gezeigt ist, werden die Schritte a und b von Schema 1 unten bzw. die Schritte a und b von Schema 2 unten in einem „Ein-Topf“-Verfahren durchgeführt, bei dem die Zwischenprodukte der allgemeinen Formeln II bzw. IV nicht isoliert werden. Bei Anwendung dieses Protokolls wird die ursprüngliche palladiumkatalysierte Kupplung auf die gleiche Weise durchgeführt wie für die Umsetzungen gemäß Schritt a der Schemata 1 und 2 beschrieben. Nach Ende der Umsetzung wird das Zwischenprodukt der Formel II bzw. IV jedoch nicht isoliert, sondern es werden das zweite Arylbromid und weitere Base (Natrium-tert.-butanolat) zugesetzt und die Temperaturbedingungen von Schritt b (Schemata 1 & 2) angewendet, wodurch man Produkte der obigen allgemeinen Formel III erhält.

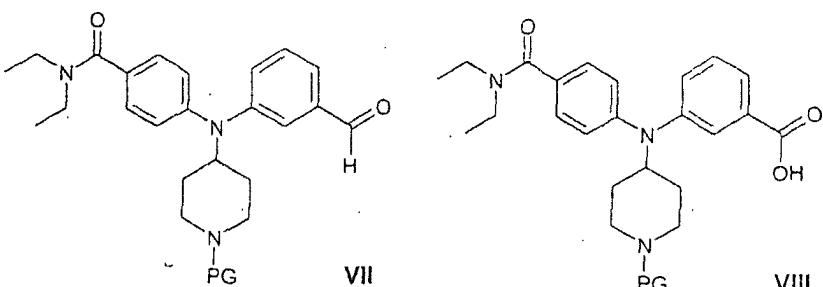
[0030] Bei einem anderen alternativen Syntheseweg wird der Reaktionsschritt b in Schema 5, siehe unten, durchgeführt, indem man ein Zwischenprodukt der allgemeinen Formel V



in welcher PG für eine Urethanschutzgruppe oder eine benzylähnliche Schutzgruppe wie Boc, N,N-Diethyl-4-brombenzamid, steht, unter Verwendung eines Palladiumkatalysators, beispielsweise Tris(dibenzylideneacetone)dipalladium(0) $[Pd_2(dba)_3]$, in Gegenwart einer Base, beispielsweise tert.-BuONa, und eines Phosphinliganden wie Bis-diphenylphosphanyl-dimethyl-9H-xanthen (Xantphos) umsetzt, wodurch man die Verbindungen der allgemeinen Formel VI



erhält, die anschließend entschützt und auf die oben beschriebenen Weisen entweder reduktiv mit einer Verbindung der allgemeinen Formel $R^1\text{-CHO}$ oder direkt mit einer Verbindung der allgemeinen Formel $R^1\text{-CH}_2\text{-X}$ alkyliert werden, wobei anschließend die Ketal-Funktionalität in ein primäres Amid umgewandelt wird, unter Standardbedingungen über i) Hydrolyse des Ketals zum Aldehyd (Formel VII), gefolgt von der ii) Oxidation des Aldehyds zur entsprechenden Carbonsäure (Formel VIII), gefolgt von der iii) Amidierung mit Ammoniumchlorid zum primären Amid, was Verbindungen der allgemeinen Formel I liefert.



[0031] Für eine Anwendung im Standardhydrolyseschritt (i) geeignete Hydrolysebedingungen schließen wäßrige Salzsäure in Tetrahydrofuran ein, sind jedoch nicht hierauf beschränkt.

[0032] Geeignete Bedingungen für den Oxidationsschritt (ii) schließen Röhren bei 0°C in wäßriger Natrium-dihydrogen phosphatlösung und Natriumchloritlösung in Gegenwart eines Überschusses an 2-Methyl-2-but en ein, sind jedoch nicht hierauf beschränkt.

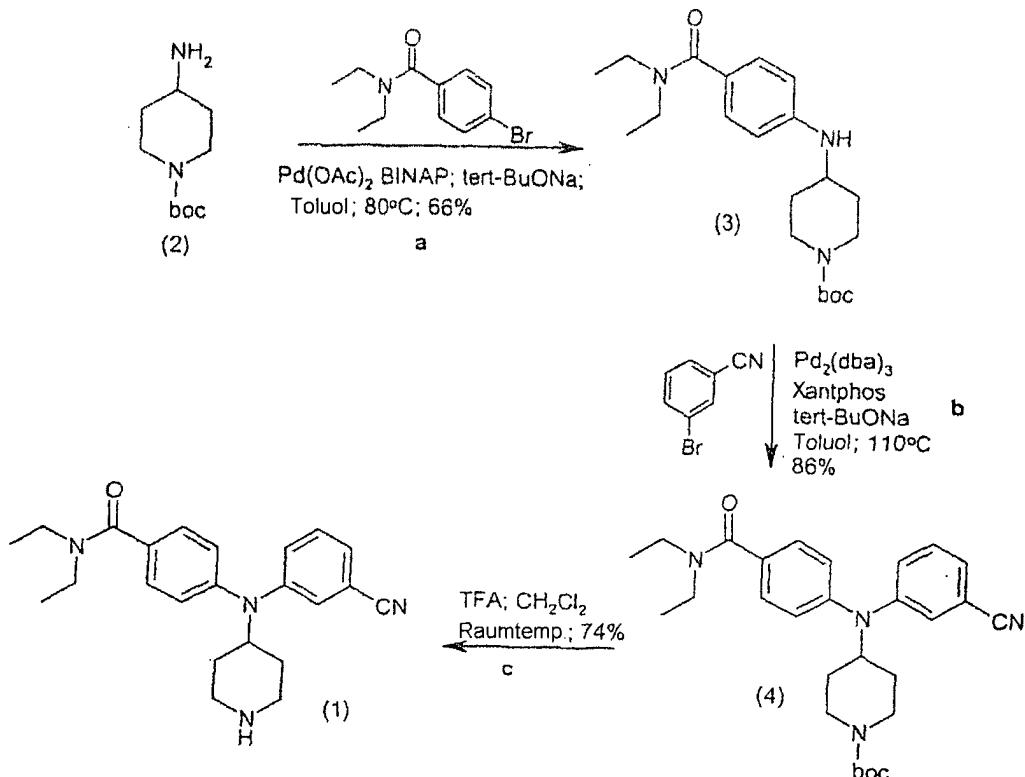
[0033] Geeignete Bedingungen für den Amidierungsschritt (iii) schließen eine Behandlung mit einem Überschuß an Ammoniumchlorid in Gegenwart eines Kupplungsmittels wie Benzotriazol-1-yloxytrisphosphonium-hexafluorophosphat (im folgenden Py-BOP) ein, sind jedoch nicht hierauf beschränkt.

Darstellungsverfahren

BEISPIELE

[0034] Die Erfindung wird nun ausführlicher durch die folgenden Schemata und Beispiele beschrieben, durch die die Erfindung nicht eingeschränkt wird.

Schema 1: Synthese von Zwischenprodukt 1 (Verfahren 1)



Verfahren 1a (Verbindung 3): 4-(4-Diethylcarbamoylphenylamino)-piperidin-1-carbonsäure-tert.-butylester

[0035] In einen trockenen Kolben mit N,N-Diethyl-4-brombenzamid (5,33 g; 1,0 Äq.) und 2 (5,0 g; 1,2 Äq.) in trockenem Toluol (80 ml) wurden BINAP (390 mg; 0,03 Äq.), Palladiumacetat (94 mg; 0,02 Äq.) und Natrium-tert.-butanolat (2,80 g; 1,4 Äq.) gegeben. Der Ansatz wurde unter Stickstoff auf 80°C erhitzt. Nach 2 Stunden wurde der Ansatz abgekühlt, mit Essigsäureethylester verdünnt und mit einer Portion Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie unter Verwendung von 65% bis 70% Essigsäureethylester in Hexan als Laufmittel aufgereinigt. Der so erhaltene Rückstand wurde in Essigsäureethylester/Hexan aufgeschlämmt und abfiltriert. Man erhielt einen gelben Feststoff (5,169 g; 66% Ausbeute).

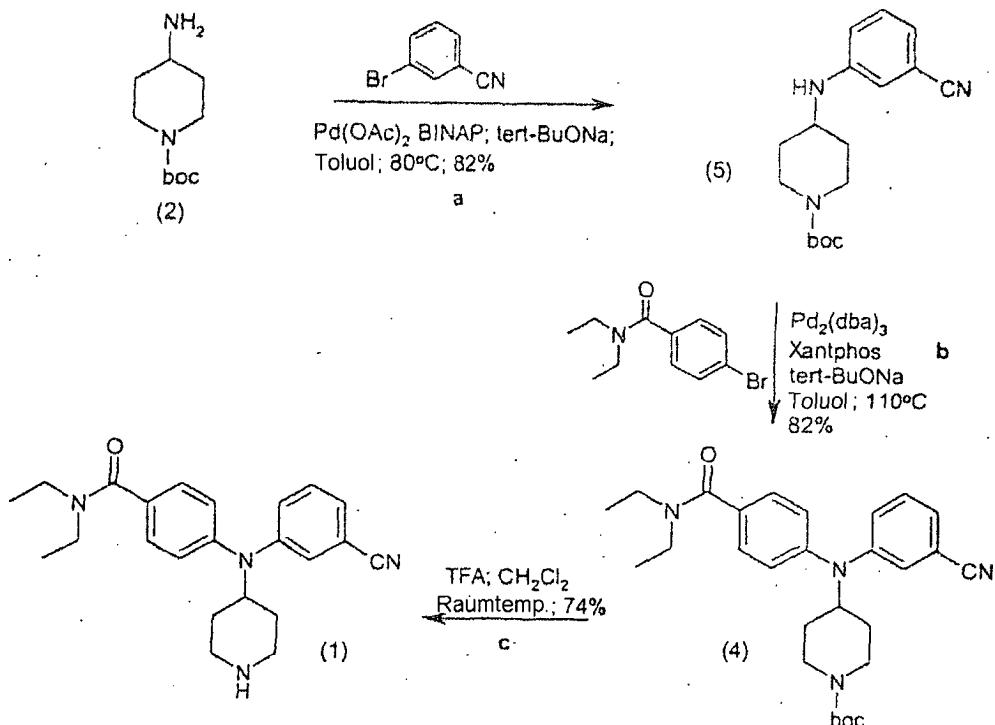
Verfahren 1b (Verbindung 4): 4-[(3-Cyano-phenyl)-(4-diethylcarbamoyl-phenyl)-aminopiperidin-1-carbonsäure-tert.-butylester.

[0036] In einen trockenen Kolben mit Amin 3 (5,10 g) in trockenem Toluol (80 ml) wurden 3-Brombenzonitril (3,47 g; 1,4 Äq.), Xantphos (472 mg; 0,06 Äq.), Pd₂(dba)₃ (374 mg; 0,03 Äq.) und Natrium-tert.-butanolat (1,83 g; 1,4 Äq.) gegeben. Der Ansatz wurde unter Stickstoff auf 110°C erhitzt. Nach 21 Stunden wurde die Lösung abgekühlt, mit Essigsäureethylester verdünnt und mit einer Portion Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie unter Verwendung von 50% Essigsäureethylester in Hexan als Laufmittel aufgereinigt. Man erhielt einen gelben Schaum (5,60 g; 86% Ausbeute).

Verfahren 1c (Verbindung 1): [(3-Cyano-phenyl)-piperidin-4-yl-amino]-N,N-diethyl-benzamid

[0037] Eine Lösung von 4 (5,43 g) in trockenem Dichlormethan (70 ml) wurde mit Trifluoressigsäure (8,8 ml; 10,0 Äq.) versetzt. Der Ansatz wurde über Nacht unter Stickstoff gerührt. Die Lösung wurde mit 2N Natriumhydroxid gewaschen, und die wäßrige Phase wurde mit zwei Portionen Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen wurden über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde über einen kleinen Stopfen Kieselgel unter Verwendung von 50% Methanol in Dichlormethan als Laufmittel aufgereinigt. Man erhielt einen farblosen Schaum (3,159 g; 74% Ausbeute).

Schema 2: Synthese von Zwischenprodukt 1 (Verfahren 2)



Verfahren 2a (Verbindung 5):4-(3-Cyano-phenylamino)peridin-1-carbonsäure-tert-butylester

[0038] In einen trockenen Kolben mit Amin 2 (5,0 g; 1,2 Äq.) und 3-Brombenzonitril (3,79 g; 1,0 Äq.) in trockenem Toluol (80 ml) wurden BINAP (390 mg; 0,03 Äq.), Palladiumacetat (94 mg; 0,02 Äq.) und Natrium-tert.-butanolat (2,8 g; 1,4 Äq.) gegeben. Der Ansatz wurde unter Stickstoff auf 80°C erhitzt und 24 Stunden lang gerührt. Die Lösung wurde abgekühlt, mit Essigsäureethylester verdünnt und mit zwei Portionen Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie unter Verwendung von 100 Hexan bis 30% Essigsäureethylester in Hexan als Laufmittel aufgereinigt. Man erhielt ein farbloses Öl (5,12 g; 82% Ausbeute).

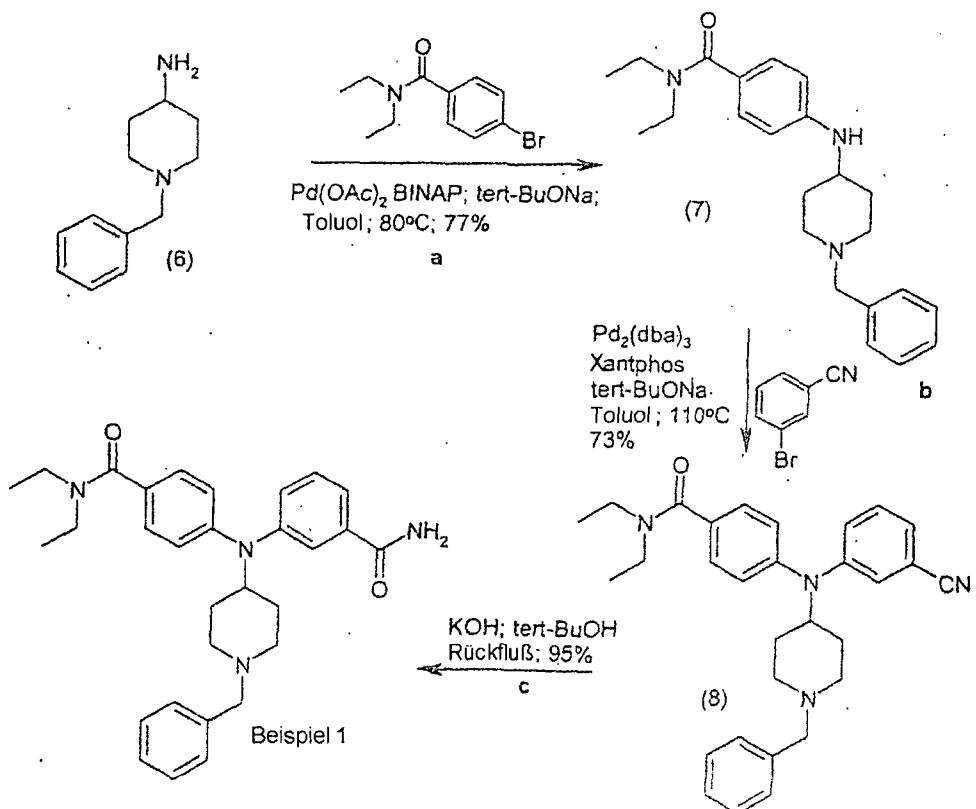
Verfahren 2b: (Verbindung 4) 4-[3-Cyano-phenyl)-(4-diethylcarbamoyl-phenyl)-amino]piperidin-1-carbonsäure-tert.-butylester

[0039] In einen Kolben mit Amin 5 (5,12 g) in trockenem Toluol (80 ml) wurden N,N-Diethyl-4-brombenzamid (6,10 g; 1,4 Äq.), Xantphos (590 mg; 0,06 Äq.), Pd₂(dba)₃ (467 mg; 0,03 Äq.) und Natrium-tert.-butanolat (2,29 g; 1,4 Äq.) gegeben. Der Ansatz wurde unter Stickstoff auf 110°C erhitzt und über Nacht gerührt. Nach 20 Stunden wurde der Ansatz mit Essigsäureethylester/Wasser verdünnt und über Diatomeenerde filtriert. Die organische Phase wurde abgetrennt und dann über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan auf eine Säule aufgetragen und mit 100 Hexan bis 60% Essigsäureethylester in Hexan als Laufmittel eluiert. Man erhielt einen orangefarbenen Schaum (6,67 g; 82% Ausbeute).

Verfahren 2c (Verbindung 1): [(3-Cyano-phenyl)-piperidin-4-yl-amino]-N,N-diethyl-benzamid

[0040] Eine Lösung von 4 (5,43 g) in trockenem Dichlormethan (70 ml) wurde mit Trifluoressigsäure (8,8 ml; 10,0 Äq.) versetzt. Der Ansatz wurde über Nacht unter Stickstoff gerührt. Die Lösung wurde mit 2N Natronlauge gewaschen, und die wäßrige Phase wurde mit zwei Portionen Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde über einen kleinen Stopfen Kieselgel unter Verwendung von 50% Methanol in Dichlormethan als Laufmittel aufgereinigt. Man erhielt einen farblosen Schaum (3,159 g; 74% Ausbeute).

Schema 3: Synthese von Beispiel 1



Zwischenprodukt 7: 4-(1-Benzyl-piperidin-4-ylamino)-N,N-diethyl-benzamid

[0041] In einen trockenen Kolben mit 1-Benzyl-piperidin-4-yl-amin 6 (5,0 ml; 1,2 Äq.) in trockenem Toluol (75 ml) wurden N,N-Diethyl-4-brombenzamid (5,24 g; 1,0 Äq.), BINAP (383 mg, 0,03 Äq.), Palladiumacetat (92 mg; 0,02 Äq.) und Natrium-tert.-butanolat (2,75 g; 1,4 Äq.) gegeben. Der Ansatz wurde unter Stickstoff auf 80°C erhitzt. Nach 2 Stunden wurde der Ansatz abgekühlt, mit Essigsäureethylester verdünnt und mit zwei Portionen Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie unter Verwendung von 5% bis 10% Methanol in Dichlormethan als Laufmittel auf gereinigt. Der so erhaltene Rückstand wurde in Essigsäureethylester aufgekocht, abgekühlt und abfiltriert. Man erhielt einen hellgelben Feststoff (5,724 g; 77% Ausbeute).

Zwischenprodukt 8: [(1-Benzylpiperidin-4-yl)-3-cyanophenyl]amino]-N,N-diethyl-benzamid

[0042] In einen trockenen Kolben mit Amin 7 (1,767 g; 1,0 Äq.) in trockenem Toluol (30 ml) wurden 3-Brombenzonitril (1,234 g; 1,4 Äq.), Xantphos (224 mg; 0,08 Äq.), Pd₂(dba)₃ (177 mg; 0,04 Äq.) und Natrium-tert.-butanolat (650 mg; 1,4 Äq.) gegeben. Der Ansatz wurde unter Stickstoff über Nacht auf 110°C erhitzt. Nach 16 Stunden wurde die Lösung abgekühlt, mit Essigsäureethylester verdünnt und mit einer Portion Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde zunächst durch Flash-Chromatographie unter Verwendung von 100 Essigsäureethylester als Laufmittel auf gereinigt. Er wurde ein zweites Mal unter Verwendung von 2,5% Methanol in Dichlormethan als Laufmittel aufgereinigt. Man erhielt einen gelben Schaum (1,665 g; 73%).

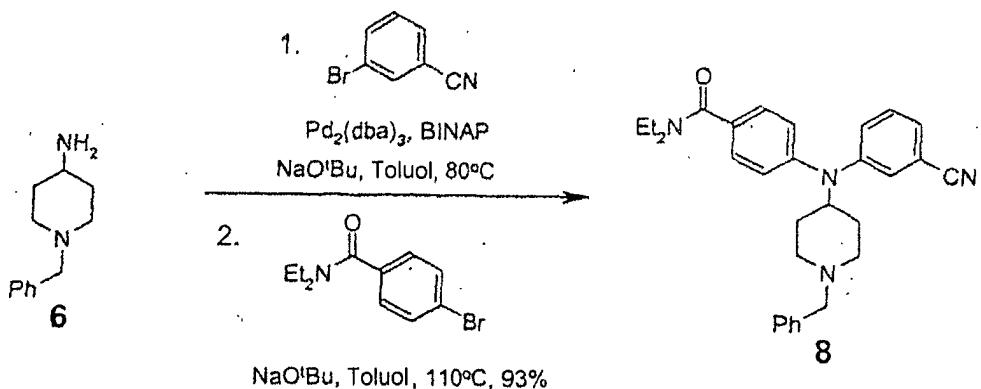
Beispiel 1: 3-[(1-Benzyl-piperidin-4-yl)-(4-diethylcarbamoyl-phenyl)-amino]-benzamid

[0043] Eine Lösung von 8 (1,58 g) in tert.-Butanol (50 ml) wurde mit Kaliumhydroxid (475 mg; 2,5 Äq.) versetzt. Der Ansatz wurde 2 Stunden lang unter Rückfluß erhitzt und dann abgekühlt. Die Lösung wurde mit Dichlormethan verdünnt und mit einer Portion Wasser gewaschen. Die wäßrige Phase wurde dann neutralisiert und mit zwei Portionen Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden dann über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie unter Verwendung von 5% bis 10% Methanol in Dichlormethan als Laufmittel auf gereinigt. Man erhielt einen hellgelben Schaum (1,556 g; 95% Ausbeute; Reinheit > 99%). Der Rückstand wurde in Ether (15 ml) suspendiert und mit soviel Dichlormethan versetzt, daß man eine homogene Lösung erhielt. 1N HCl/Ether (4,9 ml; ≈ 1,5 Äq.)

wurde zugegeben, und nach 30 Minuten wurde die Suspension eingeengt und der Feststoff wurde über Nacht im Hochvakuum getrocknet.

Alternative Synthese von Zwischenprodukt 8: N,N-Diethyl-4-[[[(3-cyanophenyl)[1-(phenylmethyl)-4-piperidinyl]amino]-3-benzamid

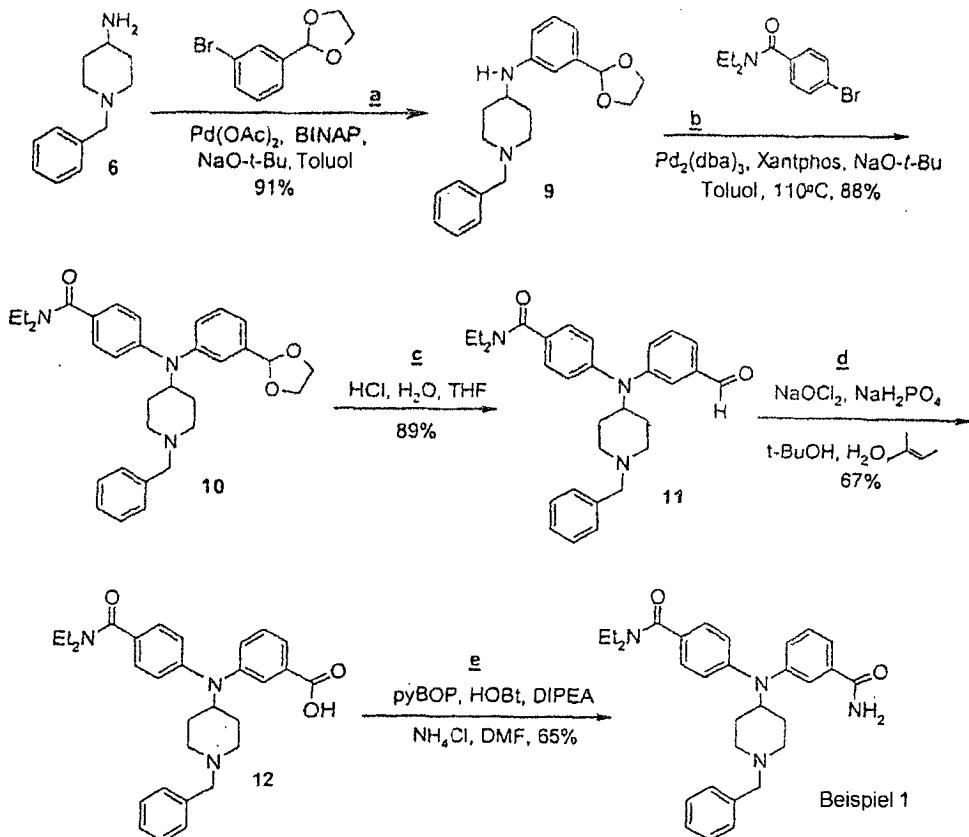
Schema 4: Durchführung von zwei aufeinanderfolgenden palladiumkatalysierten Kupplungen als "Ein-Topf-Reaktion"



[0044] Eine Lösung von 1,07 g 3-Brombenzonitril (5,88 mmol) in 15 ml trockenem Toluol wurde mit 1,2 ml 4-Amino-N-benzylpiperidin, 6 (5,89 mmol), 293 mg racemischem BINAP (0,47 mmol), 215 mg Tris(dibenzylidenaceton)dipalladium(0) (0,23 mmol) und 790 mg Natrium-tert.-butanolat (8,23 mmol) versetzt. Der Ansatz wurde unter einer Stickstoffatmosphäre 4 Stunden lang auf 80°C erhitzt. Der Ansatz wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, mit 2,26 g N,N-Diethyl-4-brombenzamid (8,83 mmol) und 790 mg Natrium-tert.-butanolat (8,23 mmol) versetzt und unter Rückfluß erhitzt. Nach 20 Stunden wurde die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt und der Ansatz wurde mit Essigsäureethylester (50 ml) verdünnt und mit Wasser (30 ml) versetzt. Die Mischung wurde über Diatomeenerde filtriert, und die organische Phase wurde abgetrennt, getrocknet (MgSO_4), filtriert und eingeengt.

[0045] Der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie unter Verwendung von 2% Dichlormethan in Methanol aufgereinigt, wodurch man ein orangefarbenes Öl (2,54 g, 5,45 mmol; 93%) erhielt. (400 MHz, CDCl_3) δ H 1,36 (br s, 6H, CH_3); 1,44–1,54 (m, 2H, CH_2); 1,91 (d, J = 12,5 Hz, 2H, CH_2); 2,12 (t, J = 12 Hz, 2H, NCH_2); 2,97 (d, J = 12 Hz, 2H, NCH_2); 3,26–3,60 (m, 4H, NCH); 3,51 (s, 2H, NCH_2Ar); 3,79–3,86 (m, 1H, NCH); 6,86–6,89 (m, 1H, Ar-H); 6,92–6,97 (m, 2H, Ar-H); 7,12–7,15 (m, 1H, Ar-H); 7,23–7,32 (m, 6H, Ar-H); 7,37–7,41 (m, 3H, Ar-H).

Schema 5: Alternative Synthese über Zwischenprodukt 12



[0046] In einen trockenen Kolben, der 2-(3-Bromphenyl)-1,3-dioxolan (1,0 ml; 1,0 Äq.) und Amin 6 (1,6 ml; 1,2 Äq.) in trockenem Toluol (20 ml) enthielt, wurden BINAP (124 mg; 0,03 Äq.), Palladiumacetat (30 mg; 0,02 Äq.) und Natrium-tert.-butanolat (0,89 g; 1,4 Äq.) gegeben. Der Ansatz wurde unter Stickstoff auf 80°C erhitzt. Nach 2 Stunden wurde die Lösung abgekühlt, mit Essigsäureethylester verdünnt und mit einer Portion Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie unter Verwendung von 5% Methanol in Dichlormethan als Laufmittel auf gereinigt. Man erhielt ein orangefarbenes Öl (2,035 g; 91% Ausbeute).

Zwischenprodukt 10: [(1-Benzyl-piperidin-4-yl)-(3-[1,3]dioxolan-2-yl-phenyl)-amino]-N,N-diethyl-benzamid

[0047] In einen trockenen Kolben mit Amin 9 (7,61 g) in trockenem Toluol (140 ml) wurden Arylbromid (8,07 g; 1,4 Äq.), Xantphos (780 mg; 0,06 Äq.), Pd₂(dba)₃ (619 mg; 0,03 Äq.) und Natrium-tert.-butanolat (3,03 g; 1,4 Äq.) gegeben. Der Ansatz wurde unter Stickstoff auf 110°C erhitzt. Nach 23 Stunden wurde die Lösung abgekühlt, mit Essigsäureethylester verdünnt und mit einer Portion Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie unter Verwendung von 3% Methanol in Dichlormethan als Laufmittel aufgereinigt. Man erhielt ein orangefarbenes Öl (10,16 g; 88% Ausbeute).

Zwischenprodukt 11: [(1-Benzyl-piperidin-4-yl)-(3-formyl-phenyl)-amino]-N,N-diethyl-benzamid

[0048] Eine Lösung von Acetal 10 (10,16 g) in Tetrahydrofuran (270 ml) wurde mit 2N HCl-Lösung (110 ml) versetzt. Nach 16 Stunden bei Raumtemperatur wurde Dichlormethan (200 ml) zugegeben, und die wäßrige Phase wurde mit gesättigter wäßriger Natriumhydrogencarbonatlösung neutralisiert. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wäßrige Phase wurde mit Dichlormethan (2 × 200 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden getrocknet ($MgSO_4$), filtriert und eingeengt, und der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie unter Verwendung von Essigsäureethylester als Laufmittel aufgereinigt. Man erhielt ein orangefarbenes Öl (8,31 g; 89% Ausbeute).

Zwischenprodukt 12: 3-[(1-Benzyl-piperidin-4-yl)-(4-diethylcarbamoyl-phenyl)-amino]-benzoësäure

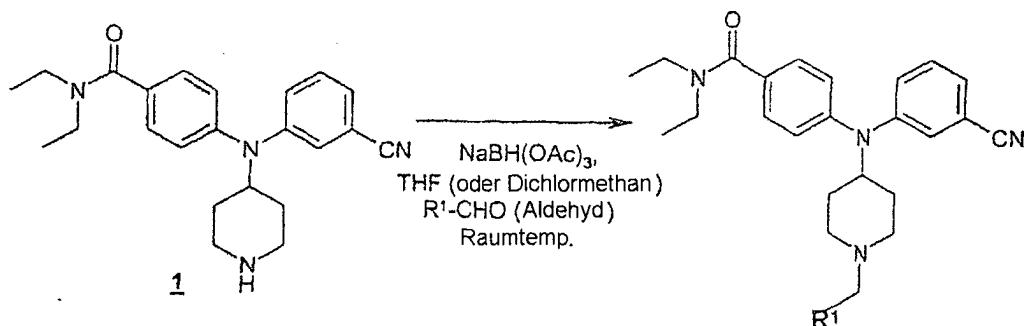
[0049] Eine Lösung von Aldehyd 11 (490 mg; 1,0 Äq.) in tert.-Butanol (25 ml) wurde mit 2-Methyl-2-but en (1,1 ml; 10,0 Äq.) versetzt, und die Lösung wurde auf 0°C abgekühlt. Eine Lösung von Natriumdihydrogenphosphat (1,30 g; 9 Äq.) und Natriumchlorit (1,06 g; 9 Äq.) in Wasser (8 ml) wurde zugesetzt, und der Ansatz wurde 30 Minuten lang bei 0°C gerührt. Das tert.-Butanol wurde entfernt, und die wäßrige Phase wurde mit Dichlormethan (5×15 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden getrocknet (MgSO_4), filtriert und eingeengt, und der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie unter Verwendung von 15% Methanol bis 30% Methanol in Dichlormethan als Laufmittel aufgereinigt. Man erhielt einen rosafarbenen Schaum (340,5 mg; 67% Ausbeute).

Beispiel 1: 3-[(1-Benzyl-piperidin-4-yl)-(4-diethylcarbamoyl-phenyl)-amino]-benzamid (alternative Synthese)

[0050] Eine Lösung von Säure 12 (420 mg; 1,0 Äq.) in DMF (8 ml) wurde mit pyBOP (675 mg; 1,5 Äq.); HOBr (175 mg; 1,5 Äq.), Diisopropylethylamin (0,6 ml; 4,0 Äq.) und Ammoniumchlorid (93 mg; 2 Äq.) versetzt. Nach 20 Stunden bei Raumtemperatur wurde der Ansatz eingeengt. Der Rückstand wurde in Essigsäureethylester (30 ml) gelöst und mit Wasser (2×20 ml) und gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (20 ml) gewaschen. Die organische Phase wurde getrocknet (MgSO_4), filtriert und eingeengt, und der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie unter Verwendung von 5% Methanol in Dichlormethan auf gereinigt. Man erhielt ein hellrosa Öl (271,8 mg; 65% Ausbeute).

[0051] Weitere Beispiele wurden nach den unten beschriebenen allgemeinen Vorschriften synthetisiert.

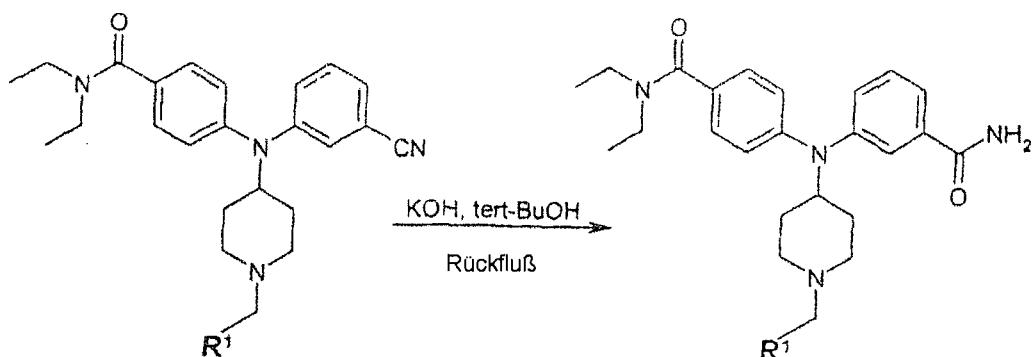
A. Reduktive Aminierung von Zwischenprodukt 1:



[0052] Eine Lösung des Amins, 1, in trockenem Tetrahydrofuran (THF) oder 1,2-Dichlorethan wird mit dem Aldehyd (1–1,5 Äq.) und anschließend mit Natriumtriacetoxyborhydrid (1–1,6 Äq.) versetzt. Der Ansatz wird über einen längeren Zeitraum (6–48 Stunden) bei Raumtemperatur unter einer Stickstoffatmosphäre gerührt, um sicherzustellen, daß die Umsetzung vollständig abläuft. Die Reaktionsmischung wird dann einer Standardaufarbeitungsvorschrift und einer Standardaufreinigung unterzogen. Die Menge an THF bzw. 1,2-Dichlorethan ist nicht entscheidend. Bevorzugt wird eine Menge, die etwa 1 ml/30 mg entspricht.

[0053] Vorschrift 2A in der Synthese von Beispiel 2 unten ist typisch.

B. Hydrolyse des Cyano-Zwischenprodukts:

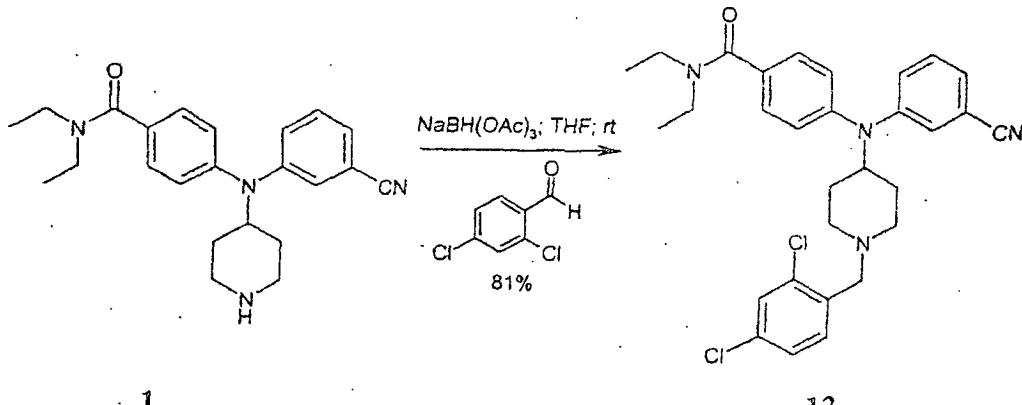


[0054] Eine Lösung des Cyano-Zwischenprodukts in tert.-Butanol wird mit gemahlenem Kaliumhydroxid

(KOH) (2,5 Äq.) versetzt, und die so erhaltene Mischung wird etwa zwei Stunden lang auf Rückfluß erhitzt. Die Mischung wurde dann auf Raumtemperatur abgekühlt und einer Standardaufarbeitungsvorschrift und einer Standardaufreinigung unterzogen. Die Menge an tert.-Butanol ist nicht entscheidend. Bevorzugt wird eine Menge, die etwa 1 ml/30 mg entspricht.

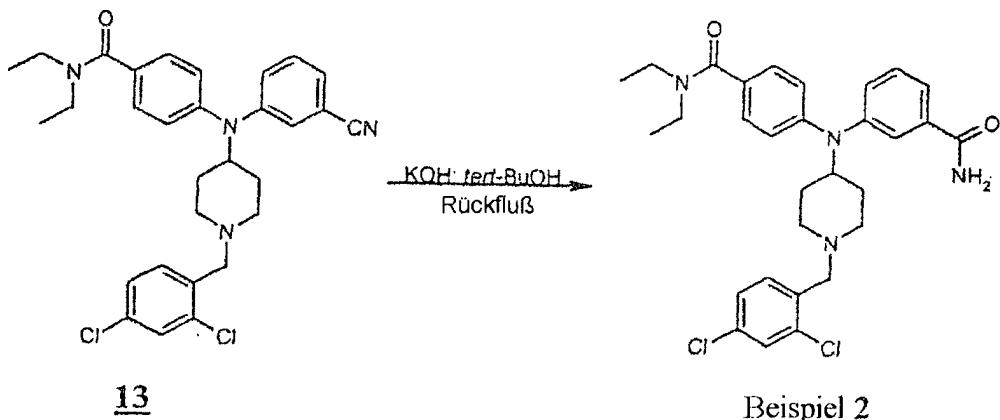
[0055] Vorschrift 2B in der Synthese von Beispiel 2 unten ist typisch.

Beispiel 2: 3-[(2,4-Dichlorbenzyl)iperidin-4-yl](4-diethylcarbamoylphenyl)amino]-benzamid



2A: {[(3-Cyanophenyl)-[1-(2,4-dichlorobenzyl)-piperidin-4-yl]amino]-N,N-diethylbenzamid}

[0056] Eine Lösung von Amin 1 (556 mg) in trockenem Tetrahydrofuran (15 ml) wurde mit 2,4-Dichlorbenzaldehyd (285 mg; 1,1 Äq.) versetzt. Nach 15 Minuten bei Raumtemperatur wurde Natriumtriacetoxylborhydrid (407,5 mg; 1,3 Äq.) zugegeben, und es wurde weiter bei Raumtemperatur unter Stickstoff gerührt. Nach 23 Stunden wurde die Umsetzung mit gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung quenched und mit drei Portionen Dichlormethan extrahiert. Die organischen Komponenten wurden über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt (LC/MS zeigte, daß noch 8% des Ausgangsmaterials übrig waren). Der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie unter Verwendung von 2% bis 4% Methanol in Dichlormethan als Laufmittel auf gereinigt. Man erhielt einen farblosen Schaum (644 mg, 81% Ausbeute).



2B: 3-[(1-(2,4-Dichlor-benzyl)-piperidin-4-yl)-(4-diethylcarbamoyl-phenyl)-amino]-benzamid

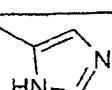
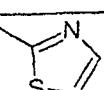
[0057] Eine Lösung von 13 (644 mg) in tert.-Butanol (20 ml) wurde mit gemahlenem Kaliumhydroxid (169 mg; 2,5 Äq.) versetzt, und der Ansatz wurde 90 Minuten lang unter Rückfluß erhitzt und dann abgekühlt und mit Dichlormethan verdünnt. Die Lösung wurde mit einer Portion Wasser gewaschen, und die organische Phase wurde abgetrennt. Die wäßrige Phase wurde mit 2N HCl neutralisiert und mit zwei Portionen Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie unter Verwendung von 5% Methanol in Dichlormethan als Laufmittel auf gereinigt. Man erhielt einen farblosen Schaum (610 mg; 92% Ausbeute; Reinheit > 99%). Das Material wurde in Ether (12 ml) suspendiert und mit soviel Dichlormethan versetzt, daß man eine homogene Lösung erhielt. 1N HCl/Ether (1,7 ml; ≈ 1,5 Äq.) wurde zugegeben, und nach 2 Stunden wurde die Suspension eingeengt und der Feststoff im Hochvakuum getrocknet.

[0058] Weitere Beispiele wurden analog dargestellt. Die analytischen Daten für die Synthesebeispiele sind in Tabelle 1 auf den folgenden Seiten gezeigt.

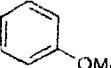
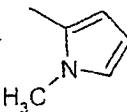
Tabelle 1: Analytische Daten für die Synthesebeispiele

Bsp. #	R ¹	Name	NMR-Daten
1		3-[(1-Benzyl-piperidin-4-yl)-(4-diethylcarbamoyl-phenyl)-amino]-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.20 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.67-1.76 (m, 2H, CH ₂) ; 2.29 (d, J=14Hz, 2H, CH ₂) ; 3.28 (t, J=13Hz, 2H, NCH ₂ Ar) ; 3.46-3.54 (m, 6H, NCH ₂) ; 4.31 (s, 2H, Ar-H) ; 4.38-4.44 (m, 1H, NCHAR) ; 6.80 (d, J=11.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.21 (d, J=6Hz, 1H, Ar-H) ; 7.29 (d, J=8Hz, 2H, Ar-H) ; 7.49-7.53 (m, 6H, Ar-H) ; 7.58 (s, 1H, Ar-H) ; 7.75 (d, J=8Hz 1H, Ar-H)
2		3-[(1-(2,4-Dichlorobenzyl)-piperidin-4-yl)-(4-diethylcarbamoyl-phenyl)-amino]-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.16 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.71-1.74 (m, 2H, CH ₂) ; 2.27 (d, J=14Hz, 2H, CH ₂) ; 3.40-3.58 (m, 8H, NCH ₂) ; 4.42-4.44 (m, 1H, NCH) ; 4.44 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 6.78 (d, J=8Hz, 2H, Ar-H) ; 7.19 (d, J=8.5Hz, 1H, Ar-H) ; 7.27 (d, J=8Hz, 2H, Ar-H) ; 7.45 (d, J=7Hz, 1H, Ar-H) ; 7.49 (d, J=7Hz, 1H, Ar-H) ; 7.56 (s, 1H, Ar-H) ; 7.60 (d, J=8.5Hz, 1H, Ar-H) ; 7.64 (s, 1H, Ar-H) ; 7.72 (d, J=8.5Hz, 1H, Ar-H)
3		3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-(1-pyridin-4-ylmethyl)-piperidin-4-yl]-amino]-benzamid	(400MHz, DMSO) 1.04 (t, J=6.5Hz, 6H, CH ₃) ; 1.77-1.80 (m, 2H, CH ₂) ; 2.04 (d, J=13Hz, 2H, CH ₂) ; 3.19-3.27 (m, 6H, NCH ₂) ; 3.38-3.40 (m, 2H, NCH ₂) ; 4.26 (t, J=11Hz, 1H, NCH) ; 4.47 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 6.64 (d, J=8.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.10 (d, J=7.5Hz, 1H, Ar-H) ; 7.18 (d, J=8.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.36 (br s, 1H) ; 7.44 (t, J=8.5Hz, 1H, Ar-H) ; 7.49 (s, 1H, Ar-H) ; 7.70 (d, J=7.5Hz, 1H, Ar-H) ; 7.99 (br s, 1H) ; 8.10-8.11 (m, 2H, Ar-H) ; 8.89 (d, J=4.5Hz, 2H, Ar-H)
4		3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-[1-(1-methyl-1H-imidazol-2-ylmethyl)-piperidin-4-yl]-amino]-benzamid	(400MHz, DMSO) 1.04 (t, J=7Hz, 6H, CH ₃) ; 1.71-1.74 (m, 2H, CH ₂) ; 2.04-2.08 (m, 2H, CH ₂) ; 2.46 (s, 3H, CH ₃) ; 3.26-3.36 (m, 4H, NCH ₂) ; 3.53 (br s, 2H, NCH ₂) ; 3.91 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 4.27 (br s, 1H, NCH) ; 4.58 (br s, 2H, NCH ₂) ; 6.64 (d, J=7.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.11 (d, J=7.5Hz, 1H, Ar-H) ; 7.19 (d, J=8Hz, 2H, Ar-H) ; 7.36 (br s, 1H) ; 7.44 (t, J=8Hz, 1H, Ar-H) ; 7.49 (s, 1H) ; 7.69-7.75 (m, 3H) ; 7.97 (br s, 1H)

Bsp. #	R ¹	Name	NMR-Daten
5		3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-(1-furan-2-ylmethyl)-piperidin-4-yl]-amino]-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.18 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.64-1.73 (m, 2H, CH ₂) ; 2.30 (d, J=13Hz, 2H, CH ₂) ; 3.22-3.30 (m, 2H, NCH ₂) ; 3.33-3.54 (m, 6H, NCH ₂) ; 4.37 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 4.37-4.41 (m, 1H, NCH) ; 6.52 (d, J=3Hz, 1H, Ar-H) ; 6.70-6.71 (m, 1H, Ar-H) ; 6.79-6.81 (m, 2H, Ar-H) ; 7.20 (d, J=7.5Hz, 1H, Ar-H) ; 7.27-7.29 (m, 2H, Ar-H) ; 7.48-7.52 (m, 1H, Ar-H) ; 7.57 (d, J=2Hz, 1H, Ar-H) ; 7.65 (s, 1H, Ar-H) ; 7.74 (d, J=7Hz, 1H, Ar-H)
6		3-[[1-(4-Brom-benzyl)-piperidin-4-yl]-4-diethylcarbamoyl-phenyl]-amino]-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.18 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.66-1.75 (m, 2H, CH ₂) ; 2.28 (d, J=14Hz, 2H, CH ₂) ; 3.23-3.29 (m, 2H, NCH ₂) ; 3.33-3.52 (m, 6H, NCH ₂) ; 4.28 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 4.37-4.43 (m, 1H, NCH) ; 6.79 (d, J=8.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.21 (d, J=9Hz, 1H, Ar-H) ; 7.29 (d, J=7.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.41 (d, J=7.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.48-7.52 (m, 1H, Ar-H) ; 7.57 (s, 1H, Ar-H) ; 7.64 (d, J=7.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.75 (d, J=7.5Hz, 1H, Ar-H)
7		3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-[1-(4-methyl-benzyl)-piperidin-4-yl]-amino]-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.18 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.71 (q, J=12Hz, 2H, CH ₂) ; 2.26 (d, J=13Hz, 2H, CH ₂) ; 2.35 (s, 3H, CH ₃) ; 3.22-3.51 (m, 8H, NCH ₂) ; 4.24 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 4.38-4.40 (m, 1H, NCH) ; 6.79 (d, J=8.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.21-7.37 (m, 7H, Ar-H) ; 7.49-7.53 (m, 1H, Ar-H) ; 7.58 (br s, 1H, Ar-H) ; 7.77 (d, J=9.5Hz, 1H, Ar-H)
8		3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-(1-furan-3-yl-methyl)-piperidin-4-yl]-amino]-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.18 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.63-1.74 (m, 2H, CH ₂) ; 2.31 (d, J=14Hz, 2H, CH ₂) ; 3.18-3.24 (m, 2H, NCH ₂) ; 3.47 (br s, 4H, NCH ₂) ; 3.56 (d, J=12Hz, 2H, NCH ₂) ; 4.19 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 4.35-4.43 (m, 1H, NCH) ; 6.57 (d, J=2Hz, 1H, Ar-H) ; 6.79-6.81 (m, 2H, Ar-H) ; 7.20-7.22 (m, 1H, Ar-H) ; 7.29 (d, J=9Hz, 2H, Ar-H) ; 7.51 (t, J=8.5Hz, 1H, Ar-H) ; 7.58-7.62 (m, 2H, Ar-H) ; 7.74-7.76 (m, 2H, Ar-H)

Bsp. #	R1	Name	NMR-Daten
9		3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-(1-thiophen-3-ylmethyl-piperidin-4-yl)-amino]-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.19 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.64-1.74 (m, 2H, CH ₂) ; 2.30 (d, J=14Hz, 2H, CH ₂) ; 3.23 (t, J=13Hz, 2H, NCH ₂) ; 3.40 (br s, 4H, NCH ₂) ; 3.53 (d, J=12Hz, 2H, NCH ₂) ; 4.32 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 4.36-4.43 (m, 1H, NCH) ; 6.79 (d, J=8.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.20-7.22 (m, 2H, Ar-H) ; 7.29 (d, J=8.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.49-7.53 (m, 1H, Ar-H) ; 7.55-7.58 (m, 2H, Ar-H) ; 7.67 (d, J=2Hz, 1H, Ar-H) ; 7.75 (d, J=8.5Hz, 1H, Ar-H)
10		3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-(1-pyridin-2-ylmethyl-piperidin-4-yl)-amino]-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.17 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.84-1.86 (m, 2H, CH ₂) ; 2.31 (d, J=13Hz, 2H, CH ₂) ; 3.43-3.60 (m, 6H, NCH ₂) ; 3.63 (br s, 2H, NCH ₂) ; 4.48 (br s, 1H, NCH) ; 4.55 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 6.81-6.83 (m, 2H, Ar-H) ; 7.25-7.32 (m, 3H, Ar-H) ; 7.52-7.57 (m, 1H, Ar-H) ; 7.62-7.63 (m, 2H, Ar-H) ; 7.70-7.72 (m, 1H, Ar-H) ; 7.78-7.80 (m, 1H, Ar-H) ; 8.07-8.11 (m, 1H, Ar-H) ; 8.72-8.73 (m, 1H, Ar-H)
11		3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-[1-(3H-imidazol-4-ylmethyl)-piperidin-4-yl]-amino]-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.17 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.80 (q, J=12Hz, 2H, CH ₂) ; 2.30 (d, J=14Hz, 2H, CH ₂) ; 3.31-3.48 (m, 6H, NCH ₂) ; 3.60 (d, J=11Hz, 2H, NCH ₂) ; 4.40-4.46 (m, 1H, NCH) ; 4.52 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 6.80 (d, J=8.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.21 (d, J=7.5Hz, 1H, Ar-H) ; 7.28 (d, J=9.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.50 (t, J=8.5Hz, 1H, Ar-H) ; 7.57 (s, 1H, Ar-H) ; 7.74 (d, J=7.5Hz, 1H, Ar-H) ; 7.87 (s, 1H, Ar-H) ; 9.07 (s, 1H, Ar-H)
12		3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-(1-thiazol-2-ylmethyl-piperidin-4-yl)-amino]-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.19 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.76 (q, J=12Hz, 2H, CH ₂) ; 2.30 (d, J=14Hz, 2H, CH ₂) ; 3.36-3.49 (m, 6H, NCH ₂) ; 3.70 (d, J=12Hz, 2H, NCH ₂) ; 4.40-4.48 (m, 1H, NCH) ; 4.72 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 6.80 (d, J=8.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.24 (d, J=8.5Hz, 1H, Ar-H) ; 7.28-7.31 (m, 2H, Ar-H) ; 7.52 (t, J=8.5Hz, 1H, Ar-H) ; 7.59 (s, 1H, Ar-H) ; 7.76-7.78 (m, 2H, Ar-H) ; 7.93 (d, J=4Hz, 1H, Ar-H)

Bsp. #	R ¹	Name	NMR-Daten
13		3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-(1-thiophen-2-ylmethyl-piperidin-4-yl)-amino]-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.17 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.63-1.74 (m, 2H, CH ₂) ; 2.30 (d, J=14Hz, 2H, CH ₂) ; 3.28 (t, J=14Hz, 2H, NCH ₂) ; 3.41 (br s, 4H, NCH ₂) ; 3.56 (d, J=12Hz, 2H, NCH ₂) ; 4.35-4.42 (m, 1H, NCH) ; 4.53 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 6.78 (d, J=9.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.11-7.13 (m, 1H, Ar-H) ; 7.18-7.21 (m, 1H, Ar-H) ; 7.25-7.31 (m, 3H, Ar-H) ; 7.47-7.51 (m, 1H, Ar-H) ; 7.57 (t, J=2Hz, 1H, Ar-H) ; 7.61 (d, J=6.5Hz, 1H, Ar-H) ; 7.74 (d, J=8.5Hz, 1H, Ar-H)
14		3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-(1-pyridin-3-ylmethyl-piperidin-4-yl)-amino]-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.17 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.79-1.88 (m, 2H, CH ₂) ; 2.29 (d, J=14Hz, 2H, CH ₂) ; 3.38-3.49 (m, 6H, NCH ₂) ; 3.62 (d, J=12Hz, 2H, NCH ₂) ; 4.41-4.49 (m, 1H, NCH) ; 4.62 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 6.80 (d, J=8.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.21 (d, J=8.5Hz, 1H, Ar-H) ; 7.28 (d, J=8.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.49 (t, J=8Hz, 1H, Ar-H) ; 7.57 (s, 1H, Ar-H) ; 7.73 (d, J=7.5Hz, 1H, Ar-H) ; 8.17-8.20 (m, 1H, Ar-H) ; 8.84 (d, J=8.5Hz, 1H, Ar-H) ; 8.98 (d, J=5.5Hz, 1H, Ar-H) ; 9.17 (s, 1H, Ar-H)
15		3-[[1-(4-Chloro-benzyl)-piperidin-4-yl]-4-diethylcarbamoyl-phenyl]-amino]-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.17 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.63-1.74 (m, 2H, CH ₂) ; 2.27 (d, J=14Hz, 2H, CH ₂) ; 3.24 (t, J=10Hz, 2H, NCH ₂) ; 3.30-3.52 (m, 6H, NCH ₂) ; 4.28 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 4.35-4.43 (m, 1H, NCH) ; 6.78 (d, J=9.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.19-7.21 (m, 1H, Ar-H) ; 7.26-7.29 (m, 2H, Ar-H) ; 7.45-7.51 (m, 5H, Ar-H) ; 7.57 (d, J=2Hz, 1H, Ar-H) ; 7.74 (d, J=8.5Hz, 1H, Ar-H)
16		3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-[1-(1H-imidazol-2-ylmethyl)-piperidin-4-yl]-amino]-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.17 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.80-1.91 (m, 2H, CH ₂) ; 2.31 (d, J=14Hz, 2H, CH ₂) ; 3.42-3.48 (m, 6H, NCH ₂) ; 3.64 (d, J=12Hz, 2H, NCH ₂) ; 4.42-4.48 (m, 1H, NCH) ; 4.73 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 6.81 (d, J=8.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.21 (d, J=9.5Hz, 1H, Ar-H) ; 7.29 (d, J=8.5Hz, 2H, Ar-H) ; 7.48-7.52 (m, 1H, Ar-H) ; 7.57 (s, 1H, Ar-H) ; 7.73-7.74 (m, 3H, Ar-H)

Bsp. #	R1	Name	NMR-Daten
17		3-((4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-[1-(4-methoxybenzyl)-piperidin-4-yl]-amino)-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.17 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.60-1.71 (m, 2H, CH ₂) ; 2.27 (d, J=14Hz, 2H, CH ₂) ; 3.17-3.23 (m, 2H, NCH ₂) ; 3.30-3.51 (m, 6H, NCH ₂) ; 3.79 (s, 3H, OCH ₃) ; 4.20 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 4.34-4.40 (m, 1H, NCH) ; 6.76-6.79 (m, 2H, Ar-H) ; 6.97-7.00 (m, 2H, Ar-H) ; 7.18-7.20 (m, 1H, Ar-H) ; 7.25-7.28 (m, 2H, Ar-H) ; 7.36-7.38 (m, 2H, Ar-H) ; 7.47-7.51 (m, 1H, Ar-H) ; 7.55-7.56 (m, 1H, Ar-H) ; 7.73 (d, J=7.5Hz, 1H, Ar-H)
18		3-((4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-[1-(4-fluorobenzyl)-piperidin-4-yl]-amino)-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.16 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.62-1.68 (m, 2H, CH ₂) ; 2.28 (d, J=14Hz, 2H, CH ₂) ; 3.23 (t, J=13Hz, 2H, NCH ₂) ; 3.41-3.52 (m, 6H, NCH ₂) ; 4.27 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 4.35-4.41 (m, 1H, NCH) ; 6.76-6.79 (m, 2H, Ar-H) ; 7.17-7.22 (m, 3H, Ar-H) ; 7.25-7.28 (m, 2H, Ar-H) ; 7.47-7.52 (m, 3H, Ar-H) ; 7.55-7.57 (m, 1H, Ar-H) ; 7.73 (d, J=7.5Hz, 1H, Ar-H)
19		3-((4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-[1-(1H-pyrrol-2-ylmethyl)-piperidin-4-yl]-amino)-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.20 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.63-1.73 (m, 2H, CH ₂) ; 2.29 (d, J=13Hz, 2H, CH ₂) ; 3.18 (t, J=13Hz, 2H, NCH ₂) ; 3.34-3.51 (m, 6H, NCH ₂) ; 4.25 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 4.34-4.40 (m, 1H, NCH) ; 6.15-6.17 (m, 1H, Ar-H) ; 6.32-6.33 (m, 1H, Ar-H) ; 6.79 (d, J=8.5Hz, 2H, Ar-H) ; 6.82-6.89 (m, 1H, Ar-H) ; 7.20 (dd, J=1, 2Hz, 1H, Ar-H) ; 7.29 (d, J=9Hz, 2H, Ar-H) ; 7.51 (t, J=8Hz, 1H, Ar-H) ; 7.55-7.60 (m, 1H, Ar-H) ; 7.74-7.76 (m, 1H, Ar-H) ; 10.64 (br s, 1H)
20		3-((4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-[1-(1-methyl-1H-pyrrol-2-ylmethyl)-piperidin-4-yl]-amino)-benzamid	(400MHz, CD ₃ OD) 1.20 (br s, 6H, CH ₃) ; 1.67-1.72 (m, 2H, CH ₂) ; 2.31 (d, J=13Hz, 2H, CH ₂) ; 3.24 (t, J=13Hz, 2H, NCH ₂) ; 3.35-3.57 (m, 6H, NCH ₂) ; 3.68 (s, 3H, CH ₃) ; 4.32 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 4.34-4.42 (m, 1H, NCH) ; 6.10-6.13 (m, 1H, Ar-H) ; 6.33-6.34 (m, 1H, Ar-H) ; 6.79-6.83 (m, 3H, Ar-H) ; 7.20-7.23 (m, 1H, Ar-H) ; 7.29 (d, J=9Hz, 2H, Ar-H) ; 7.51 (t, J=8Hz, 1H, Ar-H) ; 7.57-7.60 (m, 1H, Ar-H) ; 7.75 (dd, J=1, 8Hz, 1H, Ar-H).

Pharmazeutische Zusammensetzungen

[0059] Die neuen Verbindungen gemäß der vorliegenden Erfindung können oral, sublingual, intramuskulär, subkutan, topisch, intranasal, intraperitoneal, intrathorakal, intravenös, epidural, intrathekal, intracerebroventrikular und durch Injektion in die Gelenke verabreicht werden.

[0060] Eine bevorzugte Verabreichungsweise ist oral, intravenös oder intramuskulär.

[0061] Die Dosierung richtet sich nach der Verabreichungsweise, dem Schweregrad der Krankheit, dem Alter und Gewicht des Patienten und anderen Faktoren, die normalerweise vom behandelnden Arzt bei der Festlegung des individuellen Verabreichungsplans und der für einen bestimmten Patienten am besten geeigneten Dosierung in Betracht gezogen werden.

[0062] Bei der Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen aus den erfindungsgemäßen Verbindungen können die inerten, pharmazeutisch annehmbaren Träger entweder fest oder flüssig sein. Zu den Zubereitungen in fester Form zählen Pulver, Tabletten, dispergierbare Granulate, Kapseln, Oblatenkapseln und Zäpfchen.

[0063] Bei einem festen Träger kann es sich um eine oder mehrere Substanzen handeln, die auch als Verdünnungsmittel, Geschmacksstoffe, Lösungsvermittler, Gleitmittel, Suspendiermittel, Bindemittel oder Tablettenpulpa dienen können; es kann sich dabei auch um ein Verkapselungsmaterial handeln.

[0064] Bei Pulvern handelt es sich bei dem Träger um einen feinteiligen Feststoff, der sich in einer Mischung mit der feinteiligen aktiven Komponente befindet. Bei Tabletten wird die aktive Komponente in geeigneten Verhältnissen mit dem Träger mit den erforderlichen Bindungseigenschaften gemischt und zu der gewünschten Größe und Form verpreßt.

[0065] Bei der Zubereitung von Zäpfchenzusammensetzungen schmilzt man zunächst ein Wachs mit niedrigem Schmelzpunkt, wie z.B. eine Mischung aus Fettsäureglyceriden und Kakaobutter, und dispergiert den Wirkstoff darin, beispielsweise durch Rühren. Die geschmolzene homogene Mischung wird dann in Formen der entsprechenden Größe gegossen und abkühlen und verfestigen gelassen.

[0066] Geeignete Träger sind Magnesiumcarbonat, Magnesiumstearat, Talkum, Lactose, Zucker, Pektin, Dextrin, Stärke, Tragacanth, Methylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose, ein Wachs mit niedrigem Schmelzpunkt, Kakaobutter und dergleichen.

[0067] Salze schließen pharmazeutisch annehmbare Salze ein, sind jedoch nicht auf diese beschränkt. In den Schutzbereich der vorliegenden Erfindung fallende pharmazeutisch annehmbare Salze schließen beispielsweise die folgenden ein: Acetat, Benzolsulfonat, Benzoat, Hydrogencarbonat, Bitartrat, Bromid, Calciumacetat, Camsylat, Carbonat, Chlorid, Citrat, Dihydrochlorid, Eddat, Edisylat, Estolat, Esylat, Fumarat, Glucaptat, Gluconat, Glutamat, Glycolylarsanilat, Hexylresorcinat, Hydrabamin, Hydrobromid, Hydrochlorid, Hydroxynaphthoat, Isethionat, Lactat, Lactobionat, Malat, Maleat, Mandelat, Mesylat, Methylbromid, Methylnitrat, Methylsulfat, Mucat, Napsylat, Nitrat, Pamoat (Embonat), Pantothenat, Phosphat/Diphosphat, Polygalacturonat, Salicylat, Stearat, Subacetat, Succinat, Sulfat, Tannat, Tartrat, Teoclat, Triethiodid und Benzathin.

[0068] Beispiele für in den Schutzbereich der vorliegenden Erfindung fallende pharmazeutisch nicht annehmbare Salze schließen die folgenden ein: Hydroiodid, Perchlorat, Tetrafluorborat. Pharmazeutisch nicht annehmbare Salze könnten aufgrund ihrer vorteilhaften physikalischen und/oder chemischen Eigenschaften wie Kristallinität von Nutzen sein.

[0069] Bevorzugte pharmazeutisch annehmbare Salze sind die Hydrochloride, Sulfate und Bitartrate. Besonders bevorzugt sind die Hydrochlorid- und Sulfatsalze.

[0070] Der Ausdruck „Zusammensetzung“ soll die Formulierung der aktiven Komponente mit Verkapselungsmaterial als Träger, der eine Kapsel bereitstellt, in der die aktive Komponente (mit oder ohne andere Träger) von einem Träger umgeben ist, mit dem er somit assoziiert ist, einschließen. In ähnlicher Weise sind Oblatenkapseln eingeschlossen.

[0071] Tabletten, Pulver, Oblatenkapseln und Kapseln können als für eine orale Verabreichung geeignete feste Dosierungsformen verwendet werden.

[0072] Zusammensetzungen in flüssiger Form schließen Lösungen, Suspensionen und Emulsionen ein. Als Beispiel für eine parenterale Verabreichung geeignete flüssige Zubereitungen können sterile Wasser- oder Wasser-Propylenglykol-Lösungen der Wirkstoffe angeführt werden. Flüssige Zusammensetzungen können auch in Lösung in wässriger Polyethylenglykollösung formuliert werden.

[0073] Wässrige Lösungen für die orale Verabreichung lassen sich darstellen, indem man die aktive Komponente in Wasser löst und wie gewünscht geeignete Farbstoffe, Geschmacksstoffe, Stabilisatoren und Verdickungsmittel zusetzt. Wässrige Suspensionen für die orale Anwendung lassen sich herstellen, indem man die feinteilige aktive Komponente zusammen mit einem zähflüssigen Material wie natürlichen synthetischen Gummis, Harzen, Methylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose und anderen in der Galenik bekannten Suspendiermitteln in Wasser dispergiert.

[0074] Die pharmazeutischen Zusammensetzungen liegen vorzugsweise in Einheitsdosisform vor. In dieser Form ist die Zusammensetzung in Einheitsdosen unterteilt, die entsprechende Mengen der aktiven Komponente enthalten. Bei der Einheitsdosisform kann es sich um eine abgepackte Zubereitung handeln, wobei die Packung getrennte Mengen der Zubereitungen enthält, beispielsweise abgepackte Tabletten, Kapseln und Pulver in Vials oder Ampullen. Bei der Einheitsdosisform kann es sich auch selbst um eine Kapsel, eine Oblatenkapsel

oder eine Tablette handeln oder um die entsprechende Anzahl einer dieser abgepackten Formen.

BIOLOGISCHE UNTERSUCHUNG

In-Vitro-Modell

Zellkultur

A. Humane 293S-Zellen, die klonierte humane μ -, δ und κ -Rezeptoren exprimierten und neomycinresistant waren, wurden in Suspension bei 37°C und 5% CO₂ in Schüttelflaschen, die calciumfreies DMEM 10% FBS, 5% BCS, 0,1% Pluronic F-68 und 600 µg/ml Geneticin enthielten, herangezogen.

B. Mäuse- und Rattenhirne wurden gewogen und mit eiskaltem PBS (mit 2,5 mM EDTA, pH-Wert 7,4) gewaschen. Die Hirne wurden mit einem Polytron 15 Sekunden lang (Mäuse) oder 30 Sekunden lang (Ratten) in eiskaltem Lysepuffer (50 mM Tris, pH-Wert 7,0, 2,5 mM EDTA, wobei unmittelbar vor der Verwendung aus einer 0,5 M Stammlösung in DMSO:Ethanol Phenylmethylsulfonylfluorid bis zu einer Konzentration von 0,5 mM zugesetzt wurde) homogenisiert.

Membranzubereitung

[0075] Die Zellen wurden pelletiert und in Lysepuffer (50 mM Tris, pH 7,0, 2,5 mM EDTA, wobei unmittelbar vor der Verwendung aus einer 0,1 M Stammlösung in Ethanol PMSF bis zu einer Konzentration von 0,1 mM zugesetzt wurde) resuspendiert, 15 min auf Eis inkubiert und dann 30 s mit einem Polytron homogenisiert. Die Suspension wurde bei 4°C 10 min lang bei 1000 g (max) zentrifugiert. Der Überstand wurde auf Eis zurückgelegt, und die Pellets wurden resuspendiert und wie oben zentrifugiert. Die Überstände aus beiden Zentrifugierungen wurden vereinigt und 30 min bei 46000 g (max) zentrifugiert. Die Pellets wurden in kaltem Tris-Puffer (50 mM Tris/Cl, pH 7,0) resuspendiert und nochmals zentrifugiert. Die letztendlich erhaltenen Pellets wurden in Membranpuffer (50 mM Tris, 0,32 M Saccharose, pH 7,0) resuspendiert. Aliquots (1 ml) in Polypropylenröhren wurden in Trockeneis/Ethanol gefroren und bis zum Gebrauch bei -70°C aufbewahrt. Die Proteinkonzentrationen wurden durch einen modifizierten Lowry-Assay mit SDS bestimmt.

Bindungsassays

[0076] Die Membranen wurden bei 37°C aufgetaut, auf Eis gekühlt, 3mal durch eine 25-G-Nadel gegeben und in Bindungspuffer (50 mM Tris, 3 mM MgCl₂, 1 mg/ml BSA (Sigma A-7888), pH 7,4, der nach dem Filtrieren durch einen 0,22-m-Filter bei 4°C aufbewahrt und dann frisch mit 5 µg/ml Aprotinin, 10 µM Bestatin und 10 µM Diprotin A ohne DDT versetzt worden war) verdünnt. 100-µl-Aliquots wurden in eisgekühlte 12 × 75-mm-Polypropylenröhren gegeben, die 100 µl des entsprechenden Radioliganden und 100 µl Testpeptide in verschiedenen Konzentrationen enthielten. Die Gesamtbinding (TB) und die nichtspezifische Bindung (NS) wurden in Abwesenheit bzw. Gegenwart von 10 µM Naloxon bestimmt. Die Röhren wurden gevortext und 60–75 min bei 25°C inkubiert, woraufhin die Inhalte schnell vakuumfiltriert und mit etwa 12 ml/Röhren eiskaltem Waschpuffer (50 mM Tris, pH 7,0, 3 mM MgCl₂) durch GF/B-Filter (Whatman), die wenigstens 2 h in 0,1% Polyethylenimin voreingeweicht worden waren, gewaschen wurden. Die auf den Filtern zurückgehaltene Radioaktivität (dpm) wurde mit einem Beta-Zähler gemessen, nachdem die Filter wenigstens 12 h in Minivials mit 6–7 ml Szintillationsflüssigkeit eingeweicht worden waren. Wird der Assay in Platten mit 96 tiefen Vertiefungen durchgeführt, so erfolgt die Filtration durch in PEI eingeweichte Unifilter mit 96 Vertiefungen, die mit 3 × 1 ml Waschpuffer gewaschen und 2 h bei 55°C in einem Ofen getrocknet wurden. Die Filterplatten wurden nach Zugabe von 50 µl MS-20-Szintillationsflüssigkeit/Vertiefung in einem TopCount (Packard) ausgezählt.

Funktionsassays

[0077] Die Agonistenaktivität der Verbindungen wird gemessen, indem man das Ausmaß bestimmt, zu dem der Komplex aus Verbindungen und Rezeptor die Bindung von GTP an die G-Proteine, an die die Rezeptoren gekoppelt sind, aktiviert. Beim GTP-Bindungsassay wird GTP[γ]³⁵S mit den Testverbindungen und den Membranen von HEK-293S-Zellen, die die klonierten humanen Opioidrezeptoren exprimieren, oder von homogenisiertem Ratten- und Mäusehirn kombiniert. Agonisten stimulieren die GTP[γ]³⁵S-Bindung in diesen Membranen. Die EC₅₀- und E_{max}-Werte der Verbindungen werden aus den Dosis-Reaktions-Kurven bestimmt. Mit dem delta-Antagonisten Naltrindol werden Rechtsverschiebungen der Dosis-Reaktions-Kurve vorgenommen, wodurch verifiziert wird, daß die Agonistenaktivität über delta-Rezeptoren vermittelt wird.

[0078] Die Platten werden gevortext und 60 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubiert und auf Unifiltern

GF/B (die zuvor in Wasser eingeweicht worden waren) mit einem Tomtec- oder Packard-Harvester unter Verwendung von 4 ml Waschpuffer (50 mM Tris, 5 mM MgCl₂, 50 mM NaCl, pH-Wert 7,0) filtriert. Die Filter werden 1 Stunde lang bei 55°C getrocknet. Nach Zugabe von 65 µl MS-20 Szintillationsflüssigkeit/Vertiefung wird die Radioaktivität (cpm) in einem TopCount (Packard) ausgezählt. Die Stimulation (SB) in Gegenwart von Liganden wird in Prozent des E_{max} des Referenzagonisten ausgedrückt. Die EC₅₀-Werte für Liganden bei der Stimulierung der Bindung von Radioliganden wird mit Activity Base berechnet. Für die Liganden, von denen wenigstens drei Dosis-Reaktions-Kurven getestet wurden, sind die Mittelwerte ± Standardabweichungen für EC₅₀ und %E_{max} angegeben.

Vorschrift für Rattenhirn-GTP

[0079] Rattenhirnmembranen werden bei 37°C aufgetaut, dreimal durch eine 25-G-Nadel mit stumpfem Ende gegeben und mit GTPyS-Bindungspuffer (50 mM Hepes, 20 mM NaOH, 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 5 mM MgCl₂, pH-Wert 7,4, frisch zugesetzt: 1 mM DTT, 0,1% BSA) verdünnt. 120 µM GDP Ende wird Membranverdünnungen zugesetzt. EC₅₀ und Emax der Verbindungen werden aus 10 Punkten erstellten Dosis-Reaktions-Kurven abgeleitet, die in 300 µl mit der entsprechenden Menge an Membranprotein (20 µg/Vertiefung) und 100000–130000 dpm GTPy³⁵S pro Vertiefung (0,11–0,14 nM) aufgenommen wurden. Der Bindungsgrundwert und der Bindungswert bei maximaler Stimulierung werden in Abwesenheit und Gegenwart von 3 µM SNC-80 bestimmt.

Datenanalyse

[0080] Die spezifische Bindung (SB) wurde als TB-NS berechnet, und die SB in Gegenwart von verschiedenen Testpeptiden wurde in Prozent der Kontroll-SB ausgedrückt. Die IC₅₀-Werte und Hill-Koeffizienten (n_H) für Liganden beim Verdrängen von spezifisch gebundenen Radioliganden wurden aus Logit-Auftragungen oder mittels Kurvenanpassungsprogrammen wie Ligand, GraphPad Prism, Sigma-Plot oder ReceptorFit berechnet. Die K_i-Werte wurden aus der Cheng-Prusoff-Gleichung berechnet. Für Liganden, die in wenigstens drei Verdrängungskurven getestet wurden, wurden Mittelwert ± Standardabweichung von IC₅₀, K_i und n_H angegeben. Die biologische Aktivität der Verbindungen der vorliegenden Erfindung sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2: Biologische Daten

Bsp. Nr.	HDELTA (nM)			RATTENHIRN (nM)		MÄUSEHIRN (nM)	
	IC ₅₀	EC ₅₀	%EMax	EC ₅₀	%EMax	EC ₅₀	%EMax
1- 20	1,155- 1,47	0,246- 11,643	86,24- 116,13	1,319- 146,254	39,687- 175,63	1,875- 342,917	27,893- 173,21

Rezeptorsättigungsexperimente

[0081] Die K_s-Werte für die Radioliganden wurden bestimmt, indem man die Bindungsassays an Zellmembranen mit den entsprechenden Radioliganden in Konzentrationen im Bereich des 0,2- bis 5fachen (bis zum 10fachen, wenn dies die erforderlichen Mengen an Radioligand zuließen) des geschätzten K_s durchführte. Die spezifische Bindung des Radioliganden wurde in pmol/mg Membranprotein ausgedrückt. K_s- und B_{max}-Werte der einzelnen Experimente wurden aus nichtlinearen Anpassungen von spezifisch gebundenen (B) im Vergleich zu nM an freiem (F) Radioliganden der einzelnen gemäß einem Ein-Bindungsstellen-Modell erhalten.

BESTIMMUNG DER MECHANALLOODYNIE MIT DEM VON-FREY-TEST

[0082] Der Test wurde zwischen 08:00 und 16:00 Uhr unter Anwendung der von Chaplan et al. (1994) beschriebenen Methode durchgeführt. Ratten wurden in Käfige aus Plexiglas auf einen Boden aus Drahtnetz, der Zugang zu der Pfote erlaubte, gesetzt, woraufhin sich die Tiere 10–15 min eingewöhnen konnten. Bei der getesteten Region handelte es sich um die Mitte der Sohle der linken Hinterpfote, wodurch die weniger empfindlichen Fußballen vermieden wurden. Die Pfote wurde mit einer Reihe von 8 Von-Frey-Haaren mit logarithmisch zunehmender Steifheit (0,41, 0,69, 1,20, 2,04, 3,63, 5,50, 8,51, und 15,14 Gramm, Stoelting, III., USA) berührt. Das Von-Frey-Haar wurde von der Unterseite des Bodennetzes senkrecht zur Oberfläche der Sohle herangeführt, mit einer Kraft, die so stark war, daß es gegen die Pfote zu einer leichten Verbiegung kam, und ungefähr 6–8 Sekunden gehalten. Eine positive Reaktion wurde festgehalten, wenn die Pfote ruckartig zurückgezogen wurde. Ein Zucken während des Entfernens des Haars wurde ebenfalls als positive Reaktion gewertet. Ein Um-

herwandern wurde als zweideutige Reaktion betrachtet, und in diesen Fällen wurde der Stimulus wiederholt.

Testverfahren

[0083] In der mit FCA behandelten Gruppe wurden die Tiere am Tag 1 nach der Operation getestet. Die Schwelle, bei der es bei 50% zu einem Zurückziehen kam, wurde mit der Up-Down-Methode von Dixon (1980) bestimmt. Der Test wurde mit dem 2,04-g-Haar aus der Mitte der Reihe begonnen. Die Stimuli wurden in jedem Fall in einer aufeinanderfolgenden Weise präsentiert, gleich ob ansteigend oder absteigend. Kam es bei dem zunächst ausgewählten Haar nicht zu einer Reaktion, bei der die Pfote zurückgezogen wurde, so wurde ein stärkerer Stimulus präsentiert; wurde die Pfote zurückgezogen, so wurde der nächstschwächere Stimulus gewählt. Für eine optimale Schwellenwertberechnung mittels dieser Methode sind 6 Reaktionen in unmittelbarer Nähe des 50%-Schwellenwerts erforderlich, wobei mit dem Zählen dieser 6 Reaktionen begonnen wurde, wenn die erste Reaktionsveränderung auftrat, z.B. wenn der Schwellenwert das erste Mal überschritten wurde. In Fällen, bei denen die Schwellenwerte außerhalb des Stimusbereichs fielen, wurden Werte von 15,14 (normale Empfindlichkeit) beziehungsweise 0,41 (maximal allodyn) zugeordnet. Das so erhaltene Muster an positiven und negativen Reaktionen wurde tabellarisch erfaßt, wobei X = kein Zurückziehen, O = Zurückziehen ist, und der Schwellenwert, bei dem es bei 50% zu einem Zurückziehen kam, wurde mit der Formel:

$$50\% \text{ g Schwelle} = 10^{(X_f+k\delta)} / 10000$$

interpoliert, mit X_f = Wert des letzten verwendeten Von-Frey-Haars (log-Einheiten); k = Tabellenwert (aus Chaplan et al. (1994)) für das Muster von positiven/negativen Reaktionen; und δ = mittlerer Unterschied zwischen Stimuli (log-Einheiten). Hier ist $\delta = 0,224$.

[0084] Die Von-Frey-Schwellenwerte wurde gemäß Chaplan et al., 1994, in Prozent der maximal erzielbaren Wirkung (% MPE (maximum possible effect)) umgerechnet. Zur Berechnung von % MPE wurde die folgende Gleichung angewendet:

$$\% \text{ MPE} = \frac{\text{Schwellenwert bei Behandlung mit Arzneimittel (g)} - \text{Allodynie-Schwellenwert (g)}}{\text{Kontroll-Schwellenwert (g)} - \text{Allodynie-Schwellenwert (g)}} \times 100$$

VERABREICHUNG VON TESTSUBSTANZ

[0085] Vor dem Von-Frey-Test wurde den Ratten eine Testsubstanz injiziert (subkutan, intraperitoneal, intravenös oder oral); die Zeitspanne zwischen der Verabreichung der Testverbindung und dem Von-Frey-Test richtete sich nach der Art der Testverbindung.

KRÜMMUNGSTEST

[0086] Bei intraperitonealer Verabreichung an Mäuse löst Essigsäure Kontraktionen in der Bauchgegend aus. Die Mäuse strecken dann ihren Körper auf eine typische Weise. Werden analgetische Arzneimittel verabreicht, so wird diese beschriebene Bewegung weniger häufig beobachtet, und das Arzneimittel wird als potentieller guter Kandidat ausgewählt.

[0087] Als vollständiger und typischer Krümmungsreflex werden nur die betrachtet, bei denen die folgenden Elemente vorhanden sind: Das Tier befindet sich nicht in Bewegung; der untere Rücken ist leicht durchgedrückt; von beiden Pfoten sind die Sohlen zu sehen. In diesem Test zeigten die Verbindungen der vorliegenden Erfindung eine signifikante Inhibition der Krümmungsreaktionen nach Verabreichung einer oralen Dosis von 1–100 µmol/kg.

(i) Zubereitung der Lösungen

[0088] Essigsäure (AcOH): 120 µl Essigsäure werden zu 19,88 ml destilliertem Wasser gegeben, so daß man ein Endvolumen von 20 ml mit einer Endkonzentration von 0,6% AcOH erhält. Die Lösung wird dann gemischt (Vortex) und ist fertig für die Injektion.

[0089] Verbindung (Arzneimittel): Die einzelnen Verbindungen werden hergestellt und nach Standardvorschriften in dem am besten geeigneten Vehikel gelöst.

(ii) Verabreichung der Lösungen

[0090] Die Verbindung (das Arzneimittel) wird 20, 30 oder 40 Minuten (entsprechend der Klasse der Verbindung und ihren Eigenschaften) vor dem Test oral, intraperitoneal (i.p.), subkutan (s.c.) oder intravenös (i.v.) in einer Dosis von 10 ml/kg (unter Beachtung des durchschnittlichen Körpergewichts der Mäuse) verabreicht. Bei zentraler Verabreichung der Verbindung: Ein Volumen von 5 µl wird intraventrikulär (i.c.v.) oder intrathekal (i.t.) verabreicht.

[0091] Die AcOH wird unmittelbar vor dem Test an zwei Stellen in einer Dosis von 10 ml/kg (wobei das durchschnittliche Körpergewicht der Mäuse beachtet wird) intraperitoneal (i.p.) verabreicht.

(iii) Test

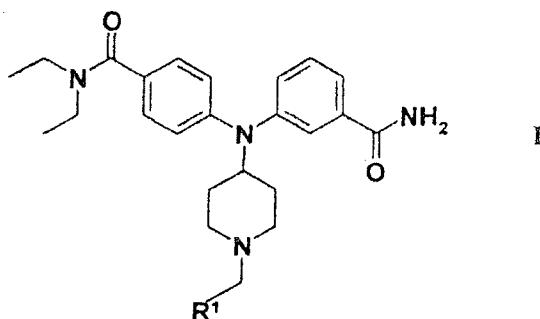
[0092] Das Tier (Maus) wird über einen Zeitraum von 20 Minuten beobachtet, und die Anzahl an Ereignissen (Krümmungsreflexen) wird aufgezeichnet und am Ende des Experiments zusammengestellt. Die Mäuse werden einzeln in „Schuhkarton“-Käfigen mit Kontaktstreu gehalten. Gewöhnlich werden insgesamt 4 Mäuse gleichzeitig beobachtet: eine zur Kontrolle und drei, denen Arzneimittel verabreicht worden ist.

[0093] Was Angstzustände und Indikationen, die Angstzuständen ähnlich sind, betrifft, so wurde die Wirksamkeit durch den Geller-Seifter-Konflikttest an Ratten bestätigt.

[0094] Was die Indikation von funktionellen Erkrankungen des Magen-Darm-Systems betrifft, so lässt sich die Wirksamkeit durch den von Coutinho SV et al. in American Journal of Physiology – Gastrointestinal & Liver Physiology 282(2):G307–16, Feb. 2002, beschriebenen Assay an Ratten bestätigen.

Patentansprüche

1. Verbindung der Formel I



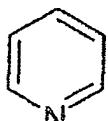
wobei

R¹ ausgewählt ist aus

(i) Phenyl



(ii) Pyridinyl



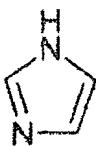
(iii) Thienyl



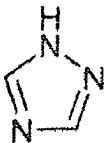
(iv) Furanyl



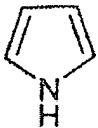
(v) Imidazolyl



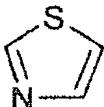
(vi) Triazolyl



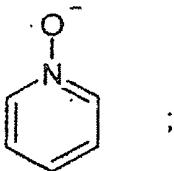
(vii) Pyrrolyl



(viii) Thiazolyl



(ix) Pyridyl-N-oxid



wobei der R¹-Phenylring und die heteroaromatischen R¹-Ringe jeweils unabhängig voneinander durch 1, 2 oder 3 Substituenten ausgewählt aus geradkettigem und verzweigtem C₁₋₆-Alkyl, NO₂, CF₃, C₁₋₆-Alkoxy, Chlor, Fluor, Brom und Iod weiter substituiert sein können, und deren Salze.

2. Verbindung nach Anspruch 1, wobei der R¹-Phenylring und die heteroaromatischen R¹-Ringe jeweils unabhängig voneinander durch 1, 2 oder 3 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus Methyl, CF₃, Chlor, Fluor, Brom und Iod weiter substituiert sein können.

3. Verbindung nach Anspruch 1, wobei der R¹-Phenylring und die heteroaromatischen R¹-Ringe jeweils unabhängig voneinander durch eine Methylgruppe weiter substituiert sein können.

4. Verbindung nach Anspruch 1, wobei R¹ für Phenyl, Pyrrolyl, Pyridinyl, Thienyl oder Furanyl steht.

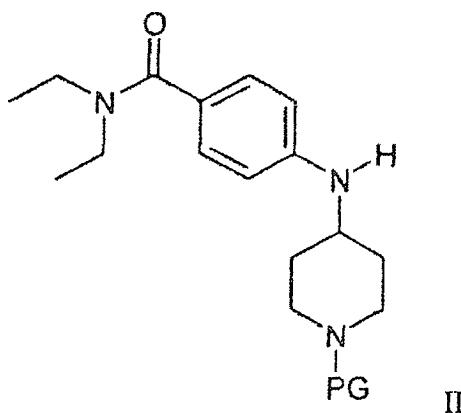
5. Verbindung nach Anspruch 1, ausgewählt aus den folgenden Verbindungen

- 3-[(1-Benzyl-piperidin-4-yl)-(4-diethylcarbamoylphenyl)-amino]benzamid,
- 3-[[1-(2,4-Dichlor-benzyl)-piperidin-4-yl)-(4-diethylcarbamoyl-phenyl)-amino]benzamid,
- 3-[[4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-(1-pyridin-4-ylmethyl-piperidin-4-yl)-amino]benzamid,
- 3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-[(1-methyl-1H-imidazol-2-ylmethyl)-piperidin-4-yl]-amino]benzamid,
- 3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-(1-Furan-2-ylmethyl-piperidin-4-yl)-amino]benzamid,
- 3-[[1-(4-Brom-benzyl)-piperidin-4-yl)-(4-diethylcarbamoyl-phenyl)-amino]benzamid,
- 3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-[1-(4-methylbenzyl)-piperidin-4-yl]-amino]benzamid,
- 3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-(1-furan-3-ylmethyl)-piperidin-4-yl]-amino]benzamid,

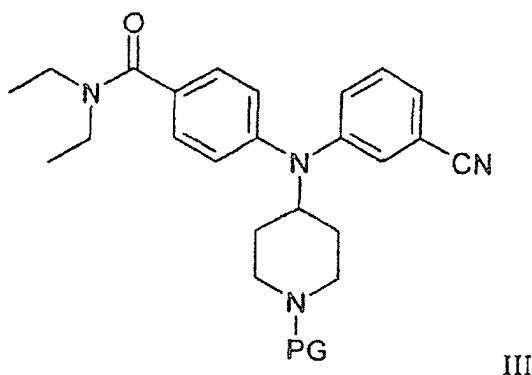
3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-(1-thiophen-3-ylmethyl-piperidin-4-yl)-amino]-benzamid,
 3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-(1-pyridin-2-ylmethyl-piperidin-4-yl)-amino]-benzamid,
 3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-[1-(3H-imidazol-4-ylmethyl)-piperidin-4-yl]-amino]-benzamid,
 3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-(1-thiazol-2-ylmethyl-piperidin-4-yl)-amino]-benzamid,
 3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-(1-thiophen-2-ylmethyl-piperidin-4-yl)-amino]-benzamid,
 3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-(1-pyridin-3-ylmethyl-piperidin-4-yl)-amino]-benzamid,
 3-[[1-(4-Chlor-benzyl)-piperidin-4-yl]- (4-diethylcarbamoyl-phenyl)-amino]-benzamid,
 3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-[1-(1H-imidazol-2-ylmethyl)-piperidin-4-yl]-amino]-benzamid,
 3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-[1-(4-methoxybenzyl)-piperidin-4-yl]-amino]-benzamid,
 3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-[1-(4-fluorobenzyl)-piperidin-4-yl]-amino]-benzamid,
 3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-[1-(1H-pyrrol-2-ylmethyl)-piperidin-4-yl]-amino]-benzamid und
 3-[(4-Diethylcarbamoyl-phenyl)-[1-(1-methyl-1H-pyrrol-2-ylmethyl)-piperidin-4-yl]-amino]-benzamid.

6. Verbindung nach einem der vorhergehenden Ansprüche in Form ihrer Hydrochlorid-, Dihydrochlorid-, Sulfat-, Tartrat-, Difluoracetat- oder Citratsalze.

7. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel I nach Anspruch 1, bei dem man eine Verbindung der allgemeinen Formel II

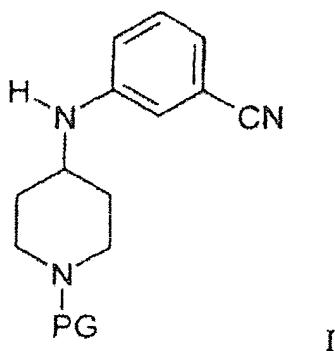


in welcher PG für eine Urethanschutzgruppe wie Boc oder CBZ oder eine Benzyl- oder substituierte Benzylschutzgruppe wie 2,4-Dimethoxybenzyl steht, unter Verwendung eines Palladiumkatalysators, z.B. $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ in Gegenwart einer Base, z.B. Natrium-tert.-butanolat, mit 3-Brombenzonitril zu Verbindungen der allgemeinen Formel III

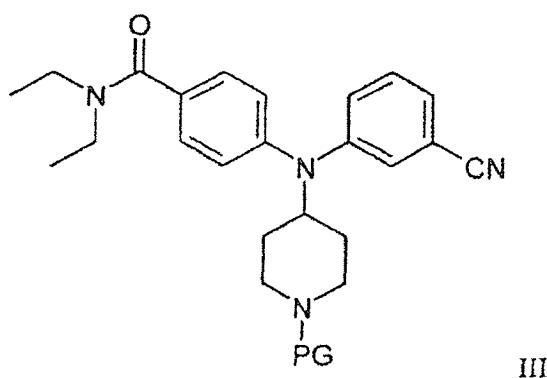


umsetzt, die anschließend unter Standardbedingungen entschützt und unter reduktiven Bedingungen mit einer Verbindung der allgemeinen Formel R¹-CHO alkyliert werden, wodurch man Verbindungen der allgemeinen Formel I erhält.

8. Verfahren zur Herstellung der Verbindung der Formel I nach Anspruch 1, bei dem man eine Verbindung der allgemeinen Formel IV



in welcher PG für eine Urethanschutzgruppe wie Boc oder CBZ oder eine Benzyl- oder substituierte Benzylschutzgruppe wie 2,4-Dimethoxybenzyl steht, unter Verwendung eines Palladiumkatalysators, z.B. $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, in Gegenwart einer Base, z.B. Natrium-tert.-butanolat, mit N,N-Diethyl-4-Brombenzamid zu Verbindungen der allgemeinen Formel III



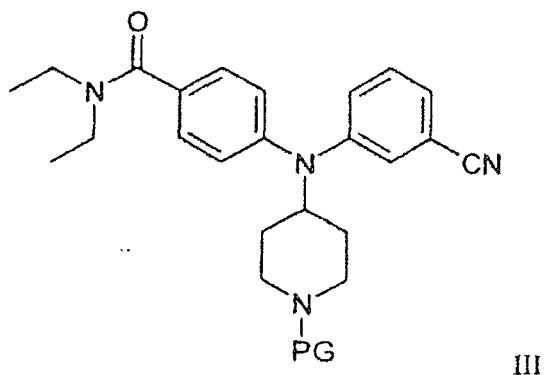
umsetzt, die anschließend unter Standardbedingungen entschützt und unter reduktiven Bedingungen mit einer Verbindung der allgemeinen Formel $\text{R}^1\text{-CHO}$ alkyliert werden, wodurch man Verbindungen der allgemeinen Formel I erhält.

9. Verbindungen nach Anspruch 1 zur Verwendung in der Therapie.

10. Verwendung einer Verbindung der Formel I nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung von Schmerzen, Ängstlichkeit oder funktionellen gastrointestinalen Erkrankungen.

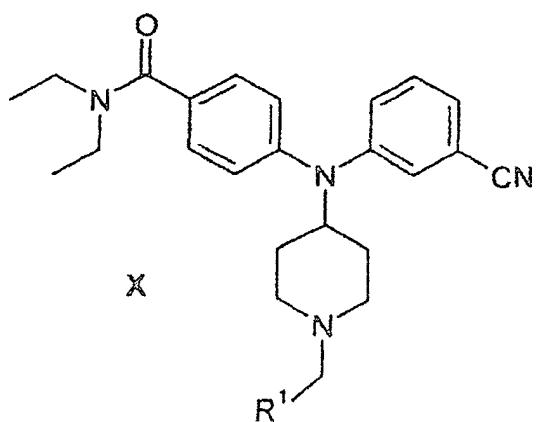
11. Pharmazeutische Zusammensetzung, enthaltend eine Verbindung der Formel I nach Anspruch 1 als Wirkstoff, zusammen mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger.

12. Verbindung der Formel III



wobei PG für eine Urethanschutzgruppe wie Boc oder CBZ oder eine Benzyl- oder eine substituierte Benzylschutzgruppe wie 2,4-Dimethoxybenzyl steht.

13. Verbindung der Formel X



in welcher R¹ ausgewählt ist aus Phenyl, Pyridinyl, Thienyl, Furanyl, Imidazolyl, Triazolyl, Pyrrolyl, Thiazolyl oder Pyridyl-N-oxid.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen