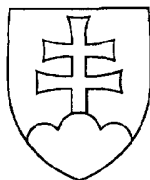


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

PATENTOVÝ SPIS

- (21) Číslo prihlášky: **885-2002**
(22) Dátum podania prihlášky: **15. 12. 2000**
(24) Dátum nadobudnutia účinkov patentu: **6. 7. 2007**
Vestník ÚPV SR č.: **7/2007**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **9904673-2**
(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**
(47) Dátum sprístupnenia patentu verejnosti: **28. 6. 2007**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/SE00/02559**
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO01/45637**

(11) Číslo dokumentu:

285753

(13) Druh dokumentu: **B6**

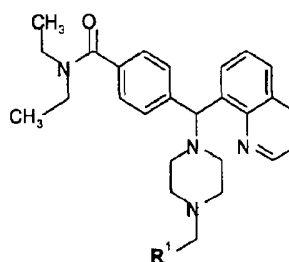
(51) Int. Cl. (2006):

C07D 401/00
C07D 405/00
C07D 409/00
A61K 31/496
A61P 25/00

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

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

- (57) Anotácia:
Opisujú sa deriváty všeobecného vzorca (I), v ktorom R¹ je zvolené zo skupiny zahrnujúcej fenylyl, pyridinyl, tiofenyl, furanyl a imidazolyl; pričom každý fenylový kruh a heteroaromatický kruh je prípadne a nezávisle ďalej substituovaný jedným, dvomi alebo tromi substituentmi, ktoré sú zvolené zo skupiny zahrnujúcej 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 nové zlúčeniny a ich použitie pri liečení, predovšetkým pri liečbe bolesti.



(I)

Oblasť techniky

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 opioídnych receptorov (μ , δ a κ) je v súčasnosti veľmi dobre potvrdená a všetky tri sa zjavne vyskytujú tak v centrálnom, ako 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 opioídne 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.

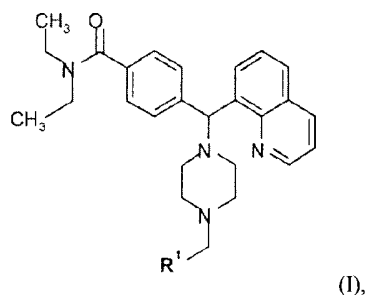
Základným problémom, ktorý rieši predložený vynález bolo teda nájsť nové analgetiká, ktoré majú zlepšené analgetické účinky, ale tiež vykazujú zlepšený profil vedľajších účinkov v porovnaní so súčasnými μ agonistmi, a taktiež vykazujú zlepšenú systémovú účinnosť.

Analgetiká, ktoré boli schválené a sú súčasťou doterajšieho stavu techniky, majú mnohé nevýhody v tom, že majú slabé farmakokinetiky a nepôsobia analgeticky, ak sa podávajú systémovými cestami. Taktiež bolo zdokumentované, že výhodné δ agonistické zlúčeniny, opísané v rámci doterajšieho stavu techniky, majú významné konvulzívne účinky, ak sa podávajú systémovo.

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*, v porovnaní so zlúčeninami opísanými v medzinárodnom patentovom dokumente WO 98/28270, ak sa podávajú systémovo. Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu vykazujú významné a neočakávané zvýšenie hladiny agonizmu delta receptora a metabolickú stabilitu.

Podstata vynálezu

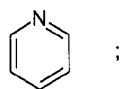
Predložený vynález sa týka derivátov benzamidu definovaných všeobecným vzorcom (I)



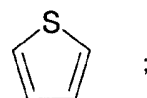
v ktorom
R¹ je zvolené zo skupiny zahrňujúcej

(i) fenyly;

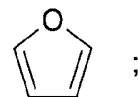
(ii) pyridinyl



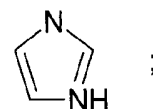
(iii) tiofenyl



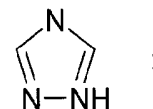
(iv) furanyl



(v) imidazolyl



(vi) triazolyl



kde každý R¹ fenylový kruh a R¹ heteroaromatický kruh môžu byť prípadne a nezávisle ďalej substituované jedným, dvomi alebo tromi substituentmi, ktoré sú zvolené zo skupiny zahrňujúcej lineárnu a rozvetvenú C₁-C₆-alkylovú skupinu, NO₂, CF₃, C₁-C₆-alkoxykupinu, chlór, fluór, bróm a jód. Substitúcie na fenylovom kruhu a na heteroaromatickom kruhu sa môžu uskutočňovať v akejkoľvek polohe na uvedených kruhových systémoch.

Do rozsahu predloženého vynálezu sú tiež zahrnuté farmaceuticky prijateľné soli zlúčenín vzorca (I), ako aj ich izoméry.

Vo výhodnom uskutočnení podľa vynálezu sú zlúčeniny vzorca I prítomné vo forme (+)-enantioméru alebo vo forme (-)-enantioméru.

Po pojmom "izoméry" sa rozumejú zlúčeniny vzorca (I), ktoré sa odlišujú polohou svojej funkčnej skupiny a/alebo orientáciou. Pod pojmom "orientácia" máme na mysli stereoizoméry, diastereoizoméry, regioizoméry a enantioméry.

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 antinádorové činidlá a antivírusové činidlá.

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

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sú využiteľné pri liečení ochorení, ako je diareja, depresia, úzkosť, močová inkontinencia, rozličné mentálne ochorenia, kašeľ, edém pľúc, rozličné gastrointestinálne ochorenia, poranenia chrčnice a závislosť od drog vrátane liečenia závislosti od alkoholu, nikotínu, opiátov 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 činidiel 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.

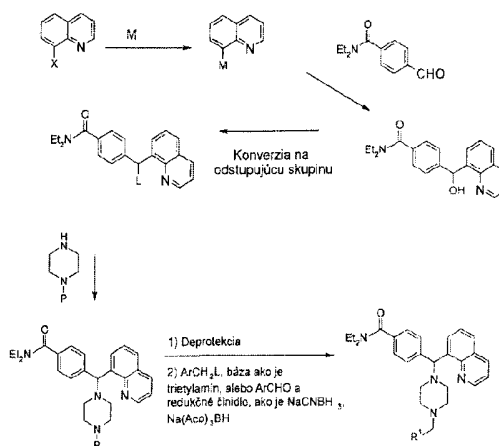
Do rozsahu predloženého vynálezu je taktiež zahrnuté použitie ktorejkoľvek zo zlúčenín uvedeného vzorca (I), na výrobu liečiva na liečenie ktoréhokoľvek z uvedených stavov.

Do rozsahu predloženého vynálezu sú tiež zahrnuté všetky nové medziprodukty opísané na schéme I, ktoré sú využiteľné pri syntéze uvedených zlúčenín vzorca (I).

Spôsoby prípravy

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sa môžu pripraviť podľa ktoréhokoľvek postupu opísaného na schémach I, II, III a IV. Tieto známe postupy sú opísané v: J. March, *Advanced Organic Chemistry*, 4th Edition, John Wiley and Sons (1992); Katritsky, A. R., Lan, X. *Chem. Soc. Rev.*, str. 363 - 373 (1994), ktoré sú tu týmto zahrnuté ako odkaz.

Schéma I



P = ochranná skupina, ako je Bn, Boc, CBz
M = Li, Mg, Zn
X = Br, I
L = Cl, Br, OMs, OTs, I
R' = ako je definované vyššie vo vzorci I

Schéma II

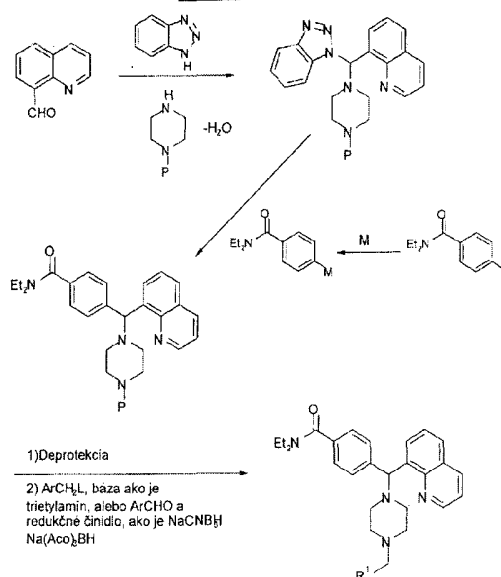
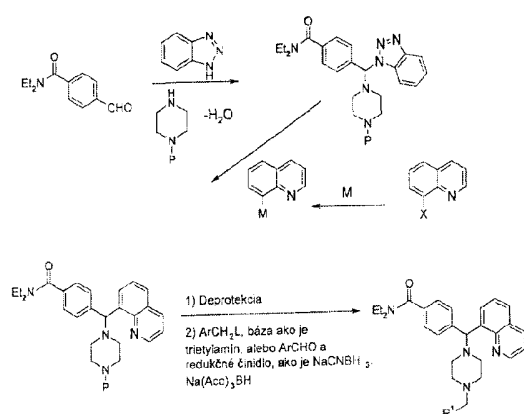
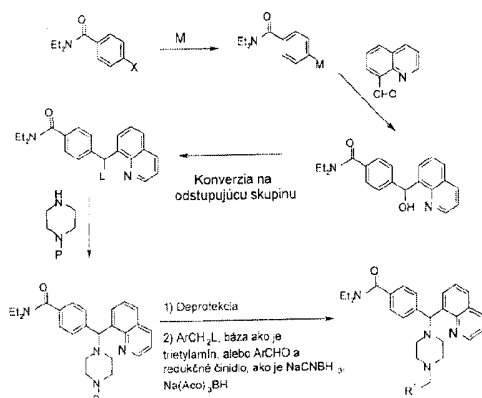


Schéma III



P = chrániaca skupina, ako je Bn, Boc, CBz
M = Li, Mg, Zn
X = Br, I
L = Cl, Br, OMs, OTs, I
R' = ako je definované vyššie vo vzorci I

Schéma IV



P = chrániaca skupina, ako je Bn, Boc, CBz
M = Li, Mg, Zn
X = Br, I
L = Cl, Br, OMs, OTs, I
R' = ako je definované vyššie vo vzorci I

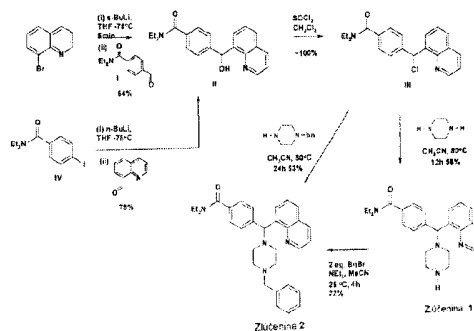
Príklady uskutočnenia vynálezu

Predložený vynález bude v ďalšom opísaný podrobnejšie pomocou nasledujúcich príkladov, ktoré však v žiadnom prípade nie sú mienené ako obmedzenie rozsahu vynálezu.

Príklad 1

Príprava dihydrochloridu 4-[(4-benzyl-1-piperazinyl)(8-chinoliny)metyl]-N,N-dietyl-benzamidu (zlúčenina 2)
Zlúčenina 2, uvedená v názve, sa pripravila podľa postupu syntézy uvedeného v schéme 1.

Schéma 1



(i) Príprava N,N-dietyl-4-formylbenzamidu (zlúčenina I)

4-Formylbenzoová kyselina (11,2 g, 74,6 mmol) a trietylamin (10,4 ml, 75 mmol) sa rozpustili v THF (100 ml) a ochladili sa na teplotu -10°C . Pridal sa *i*-butylchlórformiát (10,3 ml, 78 mmol) a v miešaní sa pokračovalo počas 10 minút pri teplote -10°C a potom sa pridal dietylamin (9,7 ml, 94 mmol) a roztok sa nechal dosiahnuť teplotu 25°C . Po zahutnení, spracovaní s vodou a chromatografií na oxide kremičitom (0 až 100 % EtOAc v heptáne) sa získala zlúčenina I v celkovom množstve 7,4 g (50 %).

(ii) Príprava N,N-dietyl-4-[hydroxy(8-chinoliny)metyl]-benzamidu (zlúčenina II)

8-Brómchinolín (3,0 g, 14,4 mmol) sa rozpustí v suchom THF (150 ml) a ochladil sa na teplotu -78°C pod dusíkom. Po kvapkách sa v priebehu 5 minút pridal *s*-BuLi (11,1 ml, 1,3 M v pentáne, 14,4 mmol) (Preparation and reactions with 8-lithioquinoline: Suggs, J. Org. Chem. 1980, 45, 1514.). Po ďalších 5 minútach sa pridal N,N-dietyl-4-formylbenzamid (3,5 g, 17,0 mmol) rozpustený v THF (5 ml). Roztok sa miešal počas jednej hodiny, potom sa pridal NH_4Cl (vodný). Po zahutnení, spracovaní s vodou a chromatografií na oxide kremičitom (0 až 100 % EtOAc v heptáne) sa získala zlúčenina II v celkovom množstve 3,5 g (70 %).

MS: 334, 262, 234, 215, 204, 178, 156, 129.

Alternatívny spôsob prípravy zlúčeniny II z N,N-dietyl-4-jódbenzamidom (zlúčenina IV)

Zlúčenina IV (0,67 g, 2,2 mmol) sa rozpustila v suchom THF (25 ml) a ochladila sa na teplotu -78°C pod dusíkom. Po kvapkách sa v priebehu 5 minút pridal *n*-BuLi (1,3 ml, 1,6 M v hexáne, 2,2 mmol). Po ďalších 10 minútach sa pridal 8-formylchinolín (0,17 g, 1,1 mmol) (8-formylchinolín sa pripravil z 8-metylchinolínu oxidáciou s oxidom seleničitým pri teplote 150 až 155°C počas 12 hodín (Kingsbury, J. Med. Chem. 1993, 3308) rozpustený v THF (1 ml). Roztok sa miešal počas jednej hodiny, potom sa pridal NH_4Cl (vodný). Po zahutnení, spracovaní s vodou a chromatografií na oxide kremičitom (0 až 100 % EtOAc v heptáne) sa získala zlúčenina II v celkovom množstve 0,29 g (78 %).

(iii) Príprava 4-[chlór(8-chinoliny)metyl]-N,N-dietylbenzamidu (zlúčenina III)

Zlúčenina II (2,0 g, 6,6 mmol) sa rozpustila v suchom CH_2Cl_2 (25 ml) a pridal sa SOCl_2 (0,53 ml, 7,3 mmol). Roztok sa miešal pri teplote 25°C počas 30 minút a rozpúšťadlo sa potom odparilo vo vákuu. Zlúčenina III sa získala.

kala vo forme oleja (~ 100 %) a použila sa v nasledujúcej reakcii bez ďalšieho čistenia.
MS: 348, 333, 233, 215, 204, 156.

(iv) Príprava *N,N*-dietyl-4-[1-piperaziny(8-chinolinyl)metyl]benzamid (zlúčenina 1)

Surový produkt zlúčenina III (~ 6,6 mmol) a piperazín (2,3 g, 26 mmol) sa rozpustili v suchom MeCN (50 ml) a zahrievali sa pod refluxom počas 12 hodín. Rozpúšťadlo sa odstránilo vo vákuu, zvyšok sa rozpustil v CH₂Cl₂ a premyl sa s vodou a organická fáza sa vysušila (K₂CO₃) a odparila vo vákuu. Po chromatografii na oxide kremičitom (0 až 20 % MeOH v CH₂Cl₂, 1 % NH₄OH) sa získala zlúčenina 1 v celkovom množstve 1,8 g (68 %, 2 kroky). Ďalšie prečistenie by sa dalo dosiahnuť s použitím chromatografie s reverznou fázou (LiChroprep RP-18, 10 až 50 % MeCN vo vode, 0,1 % TFA), za získania 1,2 g bezfarebného produktu. Dihydrochloridová soľ sa pripravila spracovaním s 2 ekvivalentov HCl v éteri.
T.t.: 180 až 190 °C.

IR (KBr, $\nu_{\max}$): 3297, 2982, 2716, 2474, 1611, 1434, 1380, 1288, 1098 cm⁻¹.

MS (amín): 402, 318, 246, 217, 109.

¹H NMR (amín, CDCl₃): δ 1,2, 1,1 (2s, 6H), 2,94, 2,51 (2m, 8H), 3,5 - 3,1 (m, 5H), 6,05 (s, 1H), 8,94 - 7,20 (m, 10H).

Analýza (C₂₅H₃₀N₄O x 3,2 CF₃CO₂H) C, N; H: vypočítané, 4,36; nájdené, 3,90.

(v) Príprava dihydrochloridu 4-[(4-benzyl-1-piperaziny)(8-chinolinyl)metyl]-*N,N*-dietyl-benzamid (zlúčenina 2)

Zlúčenina 1 (1,3 g, 3,2 mmol) a trietylamin (0,90 ml, 6,4 mmol) sa rozpustili v MeCN (10 ml). Za miešania sa pri teplote 25 °C pridal benzylbromid (0,77 ml, 6,4 mmol). Po 4 hodinách sa roztok zahustil a prečistil sa pomocou chromatografie na oxide kremičitom (0 až 5 % MeOH v CH₂Cl₂ alebo pomocou chromatografie s reverznou fázou (LiChroprep RP-18, 20 až 80 % MeCN vo vode, 0,1 % TFA). Získalo sa celkové množstvo 2,2 g (72 %) zlúčeniny 2, uvedenej v názve. Spracovanie s 2 ekvivalentmi HCl (vodná) a vysušenie vymrazením poskytlo dihydrochloridovú soľ (3,6 g).

IR (2 X HCl, KBr): 2388, 1606, 1434, 1356, 1287 (cm⁻¹).

¹H NMR (voľný amín, CDCl₃): δ = 1,05 (m, 6H), 2,5 (m, 8H), 3,1 - 3,6 (m, 6H), 6,04 (s, 1H), 7,18 - 8,98 (m, 15H).
Analýza (C₃₂H₃₈Cl₂N₄O) C, H, N.

Alternatívny spôsob prípravy zlúčeniny 2, uvedenej v názve, zo zlúčeniny vzorca (III)

Surový produkt, zlúčenina III (~ 13,2 mmol), trietylamin (2,0 ml, 14,5 mmol) a *N*-benzylpiperazín (2,6 g, 14,5 mmol) sa rozpustili v suchom MeCN (50 ml) a zahrievali sa pod refluxom počas 12 hodín. Pridal sa ďalší *N*-benzylpiperazín (0,5 g, 2,8 mmol) a v zahrievaní sa pokračovalo počas 12 hodín. Rozpúšťadlo sa odstránilo vo vákuu, zvyšok sa rozpustil v CH₂Cl₂ a premyl sa s vodou a organická fáza sa vysušila (K₂CO₃) a odparila vo vákuu. Po chromatografii na oxide kremičitom (0 až 10 % MeOH v CH₂Cl₂) sa celkovo získalo 3,5 g (53 %) zlúčeniny 2, uvedenej v názve.

Príklady 2 a 3

Rozdelenie enantiomérov zlúčeniny 2 (zlúčeniny 3 a 4)

Preparatívne rozdelenie tejto zlúčeniny sa uskutočnilo na kolóne Chiralcel OD (50 mm x 50 cm) s použitím zmesi hexán/EtOH/dietylamin v pomere 85 : 15 : 0,1 ako mobil-

nej fázy. Zistilo sa, že na kolóne Chiralcel OD sa (+)-izomér eluoval ako prvý.

Príklad 2

(-)-4-[(4-Benzyl-1-piperaziny)(8-chinolinyl)metyl]-*N,N*-dietylbenzamid (zlúčenina 3)

[α]_D²⁵: -130° (c 0,78, MeOH)

¹H NMR: (CD₃OD): δ = 1,05 (m, 6H), 3,0 - 3,6 (m, 14H), 5,90 (s, 1H), 7,22 - 8,20 (m, 13H), 8,78 (m, 1H), 9,50 (m, 1H).

Analýza: vypočítané s 3,1 H₂O, C: 61,85, H: 7,17, N: 9,02. Nájdené C: 61,84, H: 6,60, N: 8,89

Príklad 3

(+)-4-[(4-Benzyl-1-piperaziny)(8-chinolinyl)metyl]-*N,N*-dietylbenzamid (zlúčenina 4)

[α]_D²⁵: +130° (c 0,69, MeOH)

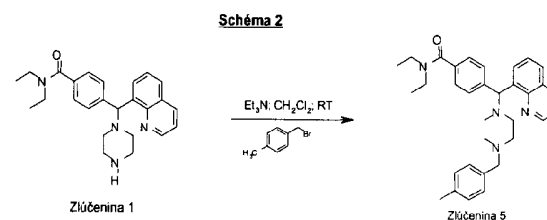
¹H NMR: (CD₃OD): δ = 1,05 (m, 6H), 3,0 - 3,6 (m, 14H), 5,90 (s, 1H), 7,22 - 8,20 (m, 13H), 8,78 (m, 1H), 9,50 (m, 1H).

Analýza: vypočítané s 3,2 H₂O, C: 61,67, H: 7,18, N: 8,99. Nájdené C: 61,70, H: 6,46, N: 8,84

Príklad 4

Príprava *N,N*-dietyl-4-[[4-(4-metylbenzyl)-1-piperaziny](8-chinolinyl)metyl]benzamid (zlúčenina 5)

Zlúčenina 5, uvedená v názve, sa pripravila podľa nasledujúceho postupu syntézy uvedenej v schéme 2.



K roztoku zlúčeniny 1 (0,80 g; 1,99 mmol) v CH₂Cl₂ (20 ml) sa pridal Et₃N (0,83 ml; 5,97 mmol) a následne sa pridal *p*-metylbenzylbromid (773 mg; 4,18 mmol). Reakčná zmes sa miešala cez noc a potom sa zahustila pri zníženom tlaku. Prečistila sa pomocou HPLC s reverznou fázou s použitím 10 % až 30 % CH₃CN/H₂O.

(M+1) vypočítané: 507,70, (M+1) pozorované: 507,20

IR (NaCl, voľný amín) 2969, 2807, 2360, 1628, 1455, 1425, 1286, 1134, 1095 (cm⁻¹).

¹H NMR (CDCl₃, voľný amín) δ = 1,0, 1,1 (2m, 6H, amid-Me), 2,31 (s, 3H, Ar-Me), 2,5 (m, 8H, piperazín-H), 3,2, 3,5 (2m, amid-CH₂), 3,49 (s, 2H, ArCH₂N), 6,03 (s, 1H, Ar₂CH), 7,06 - 7,68 (m, 11H, Ar-H), 8,01 - 8,12 (m, 2H, Ar-H), 8,93 (m, 1H, Ar-H).

Analýza. (C₃₂H₃₈Cl₂N₄O) C, H, N.

Príklady 5 a 6

Rozdelenie enantiomérov zlúčeniny 5 za získania zlúčenín 6 a 7

Preparatívne rozdelenie tejto zlúčeniny sa uskutočnilo na semi-preparatívnej kolóne Chiralcel AD (21 mm x 25 cm) s použitím zmesi hexán/EtOH/dietylamin v pomere 80 : 20 : 0,1 ako mobilnej fázy. Zistilo sa, že na kolóne Chiralcel AD sa (-)-izomér eluoval ako prvý.

Príklad 5

(-)-4-[[4-(4-Metylbenzyl)-1-piperaziny](8-chinoliny)metyl]-*N,N*-dietylbenzamid (zlúčenina 6)

$[\alpha]_D^{25}$: -131° (c 1,0, MeOH)

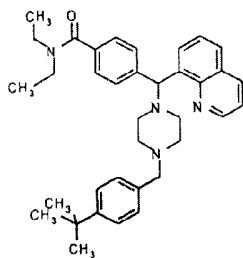
Príklad 6

(+)-4-[[4-(4-Metylbenzyl)-1-piperaziny](8-chinoliny)metyl]-*N,N*-dietylbenzamid (zlúčenina 7)

$[\alpha]_D^{25}$: +124° (c 1,4, MeOH)

Príklad 7

Príprava dihydrochloridu 4-[[4-[4-(*tert*-butyl)benzyl]-1-piperaziny](8-chinoliny)metyl]-*N,N*-dietylbenzamid (zlúčenina 8)



Zlúčenina 8

Analogickým postupom ako pri uvedenom spôsobe prípravy zlúčeniny 2, sa pripravila zlúčenina 8, uvedená v názve. Alkylácia sa uskutočnila s použitím 4-*tert*-butylbenzylbromidu.

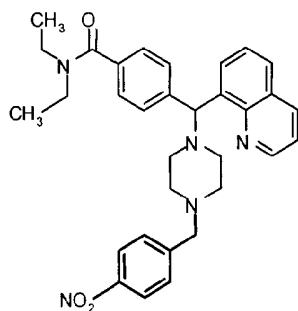
MS (ES) 549,53 (MH⁺).

IR (NaCl, voľný amín) 2963, 2807, 2360, 1631, 1456, 1425, 1285, 1135, 1094, 1001 (cm⁻¹).

¹H NMR (CDCl₃, voľný amín) δ = 1,0, 1,2 (2m, 6H), 1,29 (s, 9H), 2,50 (m, 8H), 3,2, 3,5 (2m), 3,50 (s, 2H), 6,04 (s, 1H), 7,16 - 7,68 (m, 11H), 7,98 - 8,10 (m, 2H), 8,92 (m, 1H). Analýza. (C₃₆H₄₆Cl₂N₄O) C, H, N.

Príklad 8

Príprava dihydrochloridu *N,N*-dietyl-4-[[4-(4-nitrobenzyl)-1-piperaziny](8-chinoliny)metyl]benzamid (zlúčenina 9)



Zlúčenina 9

Analogickým postupom ako pri uvedenom spôsobe prípravy zlúčeniny 2, sa pripravila zlúčenina 9, uvedená v názve. Alkylácia sa uskutočnila s použitím 4-nitrobenzylbromidu.

MS (ES) 538,04 (MH⁺).

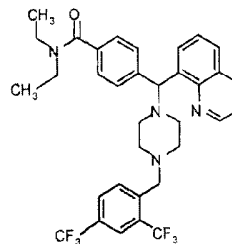
IR (NaCl, voľný amín) 2969, 2809, 2360, 1626, 1518, 1456, 1426, 1343, 1286, 1134, 1095, 1001 (cm⁻¹).

¹H NMR (CDCl₃, voľný amín) δ = 1,0, 1,2 (2m, 6H), 2,50 (m, 8H), 3,2, 3,5 (2m), 3,60 (s, 2H), 6,05 (s, 1H), 7,18 - 8,16 (m, 13H), 8,94 (m, 1H).

Analýza. (C₃₂H₃₇Cl₂N₅O₃) C, H, N.

Príklad 9

Príprava dihydrochloridu 4-[[4-[2,4-bis(trifluórmetyl)benzyl]-1-piperaziny](8-chinoliny)metyl]-*N,N*-dietylbenzamid (zlúčenina 10)



Zlúčenina 10

Analogickým postupom ako pri uvedenom spôsobe prípravy zlúčeniny 2, sa pripravila zlúčenina 10, uvedená v názve. Alkylácia sa uskutočnila s použitím 2,4-bis(trifluórmetyl)benzylbromidu.

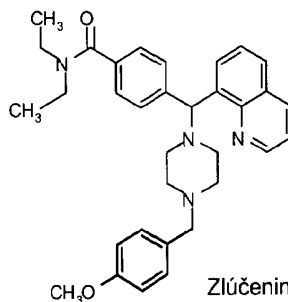
MS (ES) 629,08 (MH⁺).

IR (NaCl, voľný amín) 2970, 2811, 2360, 1628, 1456, 1426, 1346, 1275, 1170, 1128 (cm⁻¹).

¹H NMR (CDCl₃, voľný amín) δ = 1,0, 1,2 (2m, 6H), 2,48 (m, 8H), 3,2, 3,5 (2m), 3,71 (s, 2H), 6,06 (s, 1H), 7,20 - 8,14 (m, 12H), 8,95 (m, 1H). Analýza. (C₃₄H₃₆Cl₂F₆N₄O) C, H, N.

Príklad 10

Príprava dihydrochloridu *N,N*-dietyl-4-[[4-(4-metoxybenzyl)-1-piperaziny](8-chinoliny)metyl]benzamid (zlúčenina 11)



Zlúčenina 11

Analogickým postupom ako pri uvedenom spôsobe prípravy zlúčeniny 2, sa pripravila zlúčenina 11, uvedená v názve. Alkylácia sa uskutočnila s použitím 4-metoxybenzylchloridu.

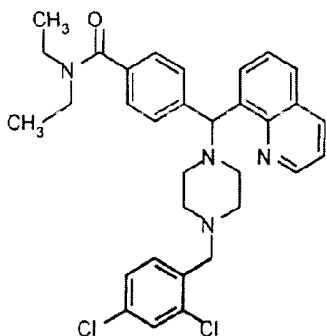
MS (ES) 523,45 (MH⁺).

IR (NaCl, voľný amín) 2966, 2806, 2360, 1627, 1510, 1456, 1426, 1286, 1246, 1134, 1095 (cm⁻¹).

¹H NMR (CDCl₃, voľný amín) δ = 1,0, 1,2 (2m, 6H), 2,48 (m, 8H), 3,2, 3,5 (2m), 3,47 (s, 2H), 3,78 (s, 3H), 6,03 (s, 1H), 6,80 - 7,68 (m, 11H), 8,01 - 8,12 (m, 2H), 8,93 (m, 1H). Analýza. (C₃₃H₄₀Cl₂N₄O₂) C, H, N.

Príklad 11

Príprava dihydrochloridu 4-[[4-(2,4-dichlórbenzyl)-1-piperaziny](8-chinoliny)metyl]-*N,N*-dietylbenzamid (zlúčenina 12)



Zlúčenina 12

Analogickým postupom ako pri uvedenom spôsobe prípravy zlúčeniny 2, sa pripravila zlúčenina 12, uvedená v názve. Alkylácia sa uskutočnila s použitím 2,4-dichlórbenzylchloridu.

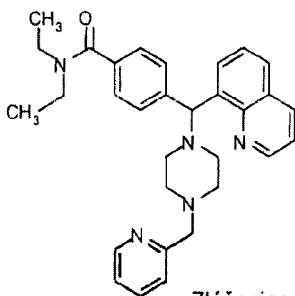
MS (ES) 562,45 (MH⁺).

IR (NaCl, voľný amín) 2968, 2810, 2360, 2341, 1627, 1470, 1426, 1285, 1134, 1095 (cm⁻¹).

¹H NMR (CDCl₃, voľný amín) δ = 1,0, 1,1 (2m, 6H), 2,5 (m, 8H), 3,2, 3,5 (2m), 3,58 (s, 2H), 6,05 (s, 1H), 7,14 - 7,70 (m, 10H), 8,06 (m, 2H), 8,94 (m, 1H). Analýza. (C₃₂H₃₆Cl₄N₄O) C, H, N.

Príklad 12

Príprava dihydrochloridu *N,N*-dietyl-4-[[4-(2-pyridinylmetyl)-1-piperaziny](8-chinoliny)metyl]benzamid (zlúčenina 13)



Zlúčenina 13

Zlúčenina 1 (80 mg, 0,20 mmol) sa rozpustila v MeOH (2 ml) s 2-pyridyl-karboxaldehydom (39 µl, 0,40 mmol) a HOAc (1 µl, 0,02 mmol). Pridal sa kyánhydridoboritan sodný (26 mg, 0,40 mmol) a v miešaní sa pokračovalo počas 48 hodín. Rozpúšťadlo sa odparilo a zvyšok sa prečistil pomocou chromatografie na oxide kremičitom (0 až 10 % MeOH v CH₂Cl₂). Získalo sa 38 mg (39 %) produktu.

MS (ES) 494,19 (MH⁺).

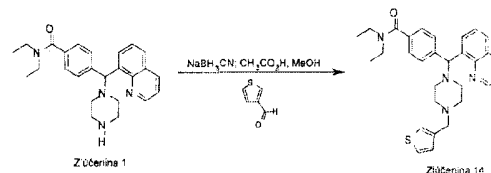
IR (NaCl, voľný amín) 2968, 2809, 2360, 1626, 1455, 1428, 1286, 1134, 1094, 1001 (cm⁻¹).

¹H NMR (CDCl₃, voľný amín) δ = 1,0, 1,2 (2m, 6H), 2,50 (m, 8H), 3,2, 3,5 (2m), 3,69 (s, 2H), 6,05 (s, 1H), 7,12 - 7,70 (m, 10H), 8,08 (m, 2H), 8,54 (m, 1H), 8,94 (m, 1H). Analýza. (C₃₁H₃₇Cl₂N₅O) C, H, N.

Príklad 13

Príprava *N,N*-dietyl-4-[[4-(3-tienylmetyl)-1-piperaziny](8-chinoliny)metyl]benzamid (zlúčenina 14)

Zlúčenina 14, uvedená v názve, sa pripravila podľa postupu syntézy uvedenej v schéme 3.



Ku roztoku zlúčeniny 1 (500 mg; 0,99 mmol) v metanole (10 ml) sa pridal tiofén-3-karboxaldehyd (104 µl; 1,19 mmol) a následne sa pridala kyselina octová (0,1 ml; 1 %) a kyánhydridoboritan sodný (186,6 mg; 2,97 mmol). Reakčná zmes sa miešala cez noc, potom sa pridal hydroxid sodný 2 N a zmes sa extrahovala s metylénchloridom (3 X). Spojené metylénchloridové extrakty sa vysušili nad Na₂SO₄, prefiltrovali sa a zahustili pri zníženom tlaku. Prečistenie pomocou chromatografie s reverznou fázou s použitím 10 % až 30 % CH₃CN/H₂O (TFA ako pufr) poskytlo 258 mg požadovaného produktu (TFA sol').

HPLC čistota: > 99 % (215 nm); > 95 % (254 nm)

(M+1) vypočítané: 499,25, (M+1) pozorované: 499,46

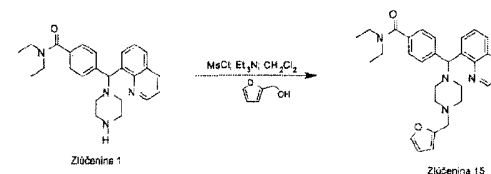
Analýza: vypočítané pre (C₃₀H₃₄N₄OS X 2,80 C₂H₃O₃F₃ X 1,80 H₂O): C: 50,28 %; H: 4,79 %; N: 6,59 %; O: 15,80 %; S: 3,77 %; F: 18,77 % nájdené: C: 50,28 %; H: 4,83 %; N: 6,53 %

¹H NMR: 8,95 (dd, 1H, J = 4,4, 2,0 Hz), 8,38 (dd, 1H, J = 8,0, 2,0 Hz), 8,00 (dd, 1H, J = 7,2, 1,6 Hz), 7,84 (dd, 1H, J = 8,0, 1,6 Hz), 7,52 - 7,62 (m, 5H), 7,45 (dd, 1H, J = 4,8, 2,8 Hz), 7,20 (dd, 2H, J = 8,8, 2,2 Hz), 7,11 (dd, 1H, J = 4,8, 1,6 Hz), 5,96 (s, 1H), 4,27 (s, 2H), 3,34 - 3,44 (m, 2H), 3,22 - 3,28 (m, 4H), 3,04 - 3,14 (m, 2H), 2,66 - 2,88 (m, 4H), 1,04 - 1,14 (m, 3H), 0,88 - 0,98 (m, 3H)

Príklad 14

Príprava *N,N*-dietyl-4-[[4-(2-furanylmetyl)-1-piperaziny](8-chinoliny)metyl]benzamid (zlúčenina 15)

Zlúčenina 15, uvedená v názve, sa pripravila podľa postupu syntézy uvedenej v schéme 4.



K roztoku furfurylalkoholu (0,19 ml; 2,24 mmol) a trietylaminu (0,52 ml; 3,73 mmol) v metylénchloride (4 ml) s teplotou 0 °C sa pridal metánsulfonfylchlorid (0,17 ml; 2,24 mmol). Zmes sa miešala počas jednej hodiny pri teplote 0 °C, potom sa pridala zlúčenina 1 (300 mg; 0,75 mmol). Reakčná zmes sa nechala zahriať na laboratórnu teplotu a miešala sa cez noc, potom sa zahriala na teplotu 45 °C a miešala sa počas 1,5 hodiny. Reakčná zmes sa nechala ochladiť na laboratórnu teplotu a pridala sa 2 N NaOH, až do alkalického hodnoty pH. Zmes sa extrahovala s metylénchloridom (3 X). Spojené metylénchloridové extrakty sa vysušili nad Na₂SO₄, prefiltrovali sa a zahustili pri zníže-

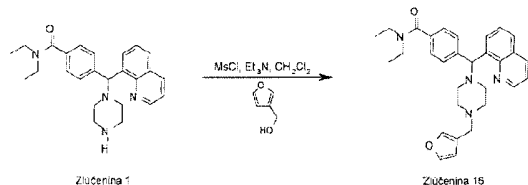
nom tlaku. Prečistenie pomocou HPLC s reverznou fázou s použitím 10 % až 25 % $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (TFA ako pufer) poskytlo 197 mg požadovaného produktu (TFA soľ).
HPLC čistota: > 99 % (215 nm, 254 nm a 280 nm)
(M+1) vypočítané: 483,63, (M+1) pozorované: 483,30
 ^1H NMR: 8,89 (dd, 1H, $J = 4,4, 1,6$ Hz), 8,29 (dd, 1H, $J = 8,0, 1,6$ Hz), 7,97 (dd, 1H, $J = 7,2, 1,6$ Hz), 7,79 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz), 7,61 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 7,52 - 7,58 (m, 2H), 7,48 (dd, 1H, $J = 8,0, 4,4$ Hz), 7,19 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 6,56 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz), 6,40 (dd, 1H, $J = 3,2, 2,4$ Hz), 6,02 (s, 1H), 4,26 (s, 2H), 3,34 - 3,44 (m, 2H), 3,16 - 3,26 (m, 4H), 3,04 - 3,14 (m, 2H), 2,68 - 2,86 (m, 4H), 1,06 - 1,14 (m, 3H), 0,90 - 0,98 (m, 3H)

Príklad 15

Príprava *N,N*-dietyl-4-[[4-(3-furanylmetyl)-1-piperaziny]-1-(8-chinolinyl)metyl]benzamid (zlúčenina 16)

Zlúčenina 16, uvedená v názve, sa pripravila podľa postupu syntézy uvedenej v schéme 5.

Schéma 5



K roztoku 3-furanmetanolu (220 mg; 2,24 mmol) a trietylamínu (0,52 ml; 3,73 mmol) v metylénochloride (4 ml) s teplotou 0 °C sa pridala metánsulfonylchlorid (0,17 ml; 2,24 mmol). Zmes sa miešala počas jednej hodiny pri teplote 0 °C, potom sa pridala zlúčenina 1 (300 mg; 0,75 mmol). Reakčná zmes sa nechala zahriať na laboratórnu teplotu a miešala sa cez noc, potom sa zahriala na teplotu 45 °C a miešala sa počas 3,5 hodín. Reakčná zmes sa nechala ochladiť na laboratórnu teplotu a pridala sa 2 N NaOH, až do alkalického pH. Zmes sa extrahovala s metylénochloridom (3 X). Spojené metylénochloridové extrakty sa vysušili nad Na_2SO_4 , prefiltrovali sa a zahustili pri zníženom tlaku. Prečistenie pomocou chromatografie s reverznou fázou s použitím 10 % až 25 % $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (TFA ako pufer) poskytlo 293 mg požadovaného produktu (TFA soľ).
HPLC čistota: > 98 % (215 nm a 280 nm); > 99 % (254 nm)

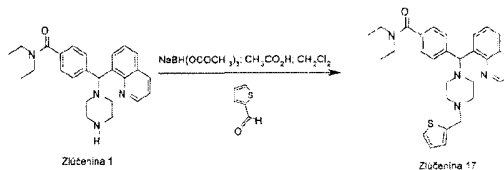
(M+1) vypočítané: 483,63, (M+1) pozorované: 483,34
Analýza: vypočítané pre ($\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_2 \times 3,10 \text{ C}_2\text{HO}_2\text{F}_3 \times 1,70 \text{ H}_2\text{O}$): C: 50,17 %; H: 4,71 %; N: 6,46 %; O: 18,27 %; F: 20,39 % nájdené: C: 50,14 %; H: 4,76 %; N: 6,38 %
 ^1H NMR: 8,93 (dd, 1H, $J = 4,4, 2,0$ Hz), 8,36 (dd, 1H, $J = 8,6, 2,0$ Hz), 8,00 (dd, 1H, $J = 7,4, 1,2$ Hz), 7,82 (dd, 1H, $J = 7,6, 1,2$ Hz), 7,48 - 7,66 (m, 6H), 7,19 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 6,46 (s, 1H), 5,97 (s, 1H), 4,13 (s, 2H), 3,32 - 3,44 (m, 2H), 3,20 - 3,28 (m, 4H), 3,04 - 3,14 (m, 2H), 2,66 - 2,86 (m, 4H), 1,04 - 1,14 (m, 3H), 0,88 - 0,98 (m, 3H)

Príklad 16

Príprava dihydrochloridu *N,N*-dietyl-4-[[4-(2-tiofenylmetyl)-1-piperaziny]-1-(8-chinolinyl)metyl]benzamid (zlúčenina 17)

Zlúčenina 17, uvedená v názve, sa pripravila podľa postupu syntézy uvedenej v schéme 6.

Schéma 6



K roztoku zlúčeniny 1 (0,99 mmol) v metylénochloride (10 ml) sa pridala 2-tiofenkarboxaldehyd (190 μl ; 1,98 mmol) a následne sa pridala kyselina octová (0,1 ml; 1 %). Zmes sa miešala počas 30 minút, potom sa pridala triacetoxyhydrido-boritan sodný (0,63 g; 2,97 mmol) a reakčná zmes sa miešala cez noc. Reakčná zmes sa neutralizovala s 2 N hydroxidom sodným a extrahovala sa s metylénochloridom (3 X). Spojené metylénochloridové extrakty sa vysušili nad Na_2SO_4 , prefiltrovali sa a zahustili pri zníženom tlaku. Prečistenie pomocou chromatografie s reverznou fázou s použitím 10 % až 30 % $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (TFA ako pufer) poskytlo 115 mg požadovaného produktu (TFA soľ).

HPLC čistota: > 99 % (215 nm); > 96 % (254 nm)
(M+1) vypočítané: 499,25, (M+1) pozorované: 499,33
Analýza: vypočítané pre ($\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{OS} \times 2,50 \text{ C}_2\text{HO}_2\text{F}_3 \times 0,10 \text{ H}_2\text{O}$): C: 53,51 %; H: 4,71 %; N: 7,13 %; O: 12,42 %; S: 4,08 %; F: 18,14 % nájdené: C: 53,49 %; H: 4,63 %; N: 7,49 %

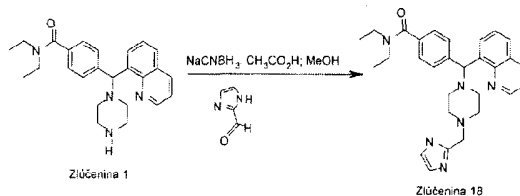
^1H NMR: 8,91 (dd, 1H, $J = 4,0, 1,6$ Hz), 8,30 (dd, 1H, $J = 8,8, 1,6$ Hz), 7,96 (dd, 1H, $J = 7,4, 1,4$ Hz), 7,81 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz), 7,62 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 7,46 - 7,58 (m, 3H), 7,20 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 7,14 - 7,22 (m, 1H), 7,00 (dd, 1H, $J = 5,2, 3,6$ Hz), 6,03 (s, 1H), 4,38 (s, 2H), 3,34 - 3,44 (m, 2H), 3,14 - 3,22 (m, 4H), 3,06 - 3,12 (m, 2H), 2,74 - 2,88 (m, 4H), 1,04 - 1,14 (m, 3H), 0,88 - 0,98 (m, 3H)

Príklad 17

Príprava dihydrochloridu *N,N*-dietyl-4-[[4-(2-imidazolylmetyl)-1-piperaziny]-1-(8-chinolinyl)metyl]benzamid (zlúčenina 18)

Zlúčenina 18, uvedená v názve, sa pripravila podľa postupu syntézy uvedenej v schéme 7.

Schéma 7



K roztoku zlúčeniny 1 (0,99 mmol) v metanole (10 ml) sa pridala 2-imidazol-karboxaldehyd (114 mg; 1,19 mmol) a následne sa pridala kyselina octová (0,5 ml; 5 %). Zmes sa miešala počas 3 hodín, potom sa pridala kyánhydridoboritan sodný (186,6 mg; 2,97 mmol) a reakčná zmes sa miešala cez noc. Reakčná zmes sa neutralizovala s 2 N hydroxidom sodným a extrahovala sa s metylénochloridom (3 X). Spojené metylénochloridové extrakty sa vysušili nad Na_2SO_4 , prefiltrovali sa a zahustili pri zníženom tlaku. Prečistenie pomocou chromatografie s reverznou fázou s použitím 10 % až 30 % $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (TFA ako pufer) poskytlo TFA soľ. HCl soľ sa pripravila s použitím zmesi HCl/éter. Výťažok: 60,3 mg požadovaného produktu (HCl soľ).
HPLC čistota: > 95 % (215 nm); > 93 % (254 nm)

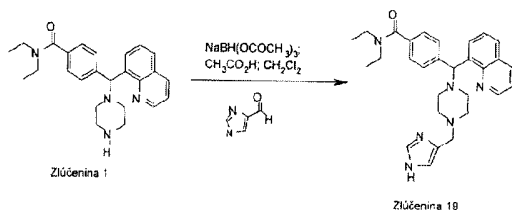
(M+1) vypočítané: 483,29, (M+1) pozorované: 483,19
¹HNMR: 9,12 - 9,22 (m, 1H), 8,54 - 8,62 (m, 1H), 8,08 - 8,16 (m, 1H), 7,98 - 8,04 (m, 1H), 7,60 - 7,86 (m, 4H), 7,38 - 7,46 (m, 2H), 7,22 - 7,32 (m, 2H), 6,32 (s, 1H), 4,11 (s, 2H), 2,94 - 3,40 (m, 12H), 0,88 - 1,12 (m, 6H).

Príklad 18

Príprava dihydrochloridu N,N-dietyl-4-[[4-(4-imidazolylmetyl)-1-piperaziny]](8-chinoliny)metyl]benzamid (zlúčenina 19)

Zlúčenina 19, uvedená v názve, sa pripravila podľa postupu syntézy uvedenej v schéme 8.

Schéma 8



K roztoku 434 (400 mg; 0,99 mmol) a 4-imidazol-karboxaldehydu (95,5 mg; 0,99 mmol) v metylénchloride (10 ml) zahriatemu na laboratórnu teplotu sa pridala kyselina octová (0,1 ml). Zmes sa miešala počas 5 hodín, potom sa pridala triacetoxyhydridoboritan sodný (632 mg; 2,98 mmol). Reakčná zmes sa miešala cez noc a potom sa neutralizovala s 2 N hydroxidom sodným. Zmes sa extrahovala s metylénchloridom (3 X). Spojené metylénchloridové extrakty sa vysušili nad Na₂SO₄, prefiltrovali sa a zahustili pri zníženom tlaku. Prečistenie pomocou chromatografie s reverznou fázou s použitím 15 % CH₃CN/H₂O (TFA ako pufer) poskytlo 103 mg požadovaného produktu (TFA sol'). HPLC čistota: > 99 % (215 nm, 254 nm a 280 nm)

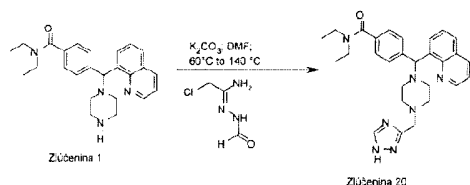
(M+1) vypočítané: 483,28, (M+1) pozorované: 482,96
 Analýza: vypočítané pre (C₂₉H₃₄N₆O X 3,80 C₂H₂O₂F₃ X 0,80 H₂O): C: 47,25 %; H: 4,27 %; N: 9,03 %; O: 16,17 %; F: 23,28 % nájdené: C: 47,31 %; H: 4,40 %; N: 8,87 %
¹HNMR: 8,99 (dd, 1H, J = 4,4, 1,2 Hz), 8,76 (d, 1H, J = 1,2 Hz), 8,39 (dd, 1H, J = 8,8, 1,2 Hz), 7,93 (dd, 1H, J = 7,2, 1,6 Hz), 7,86 (dd, 1H, J = 8,0, 1,6 Hz), 7,71 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 7,60 (dd, 1H, J = 8,8, 4,4 Hz), 7,56 (dd, 1H, J = 8,0, 7,2 Hz), 7,40 (s, 1H), 7,27 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 6,12 (s, 1H), 3,74 (s, 2H), 3,38 (q, 2H, J = 6,4 Hz), 3,10 - 3,25 (m, 6H), 3,06 (q, 2H, J = 7,2 Hz), 2,75 - 2,90 (m, 2H), 1,08 (t, 3H, J = 6,4 Hz), 0,92 (t, 3H, J = 7,2 Hz)

Príklad 19

Príprava dihydrochloridu N,N-dietyl-4-[[4-(3-triazolylmetyl)-1-piperaziny]](8-chinoliny)metyl]benzamid (zlúčenina 20)

Zlúčenina 20, uvedená v názve, sa pripravila podľa postupu syntézy uvedenej v schéme 9.

Schéma 9



K roztoku 434 (200 mg; 0,50 mmol) v dimetylformamide (10 ml) sa pri laboratórnej teplote pridali uhličitan draselný (275 mg; 1,99 mmol), a následne sa pridali N-formamido-2-(chlórmetyl)acetamidín (170 mg; 1,24 mmol). Reakčná zmes sa zahriala na teplotu 60 °C a miešala sa počas 2 dní, teplota sa potom zvýšila na 140 °C a zmes sa miešala počas 3 hodín. Reakčná zmes sa nechala ochladiť na laboratórnu teplotu a pridala sa voda. Zmes sa extrahovala s etylacetátom (3 X). Spojené etylacetátové extrakty sa vysušili nad Na₂SO₄, prefiltrovali sa a zahustili pri zníženom tlaku. Prečistenie pomocou chromatografie s reverznou fázou s použitím 20 % CH₃CN/H₂O (TFA ako pufer) poskytlo 21 mg požadovaného produktu (TFA sol'). HPLC čistota: > 99 % (215 nm, 254 nm a 280 nm)

(M+1) vypočítané: 484,28, (M+1) pozorované: 483,92

Analýza: vypočítané pre (C₂₈H₃₃N₇O X 3,30 C₂H₂O₂F₃ X 3,30 H₂O): C: 45,20 %; H: 4,70 %; N: 10,66 %; O: 18,97 %; F: 20,46 % nájdené: C: 45,12 %; H: 4,60 %; N: 10,84 %

¹HNMR: 8,94 (dd, 1H, J = 4,4, 1,6 Hz), 8,38 (s, 1H), 8,33 (dd, 1H, J = 8,0, 1,2 Hz), 7,93 (d, 1H, J = 7,2 Hz), 7,85 (d, 1H, J = 7,2 Hz), 7,65 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 7,51 - 7,58 (m, 2H), 7,23 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 6,15 (s, 1H), 4,21 (s, 2H), 3,40 - 3,50 (m, 2H), 3,10 - 3,30 (m, 8H), 2,90 - 3,10 (m, 2H), 0,90 - 1,30 (m, 6H)

Farmaceutické kompozície

Deriváty benzamid 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 konkrétneho 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 zahŕňajú prášky, tablety, dispergovateľné granuly, kapsuly, kašety a čapíky.

Pevným nosičom môže byť jedna alebo viac látok, ktoré môžu tiež pôsobiť ako riedidlá, aromatické činidlá, rozpúšťadlá, masť, suspenzné 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 čapíkových kompozícií sa vosk s nízkou teplotou topenia, ako je zmes glyceridov mastných kyselín a kakaového masla, najskôr tavi 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 sol'ami sú acétat, benzén-sulfonát, benzoát, hydrogenuhličitan, bivián, bromid, octan vápenatý, kamsylát, uhličitan, chlorid, citrát, dihydroch-

lorid, edetát, edisylát, estolát, ezylát, fumarát, glukaptát, glukonát, glutamát, glykolyarsanilát, hexylrezorcinát, hydrobamin, hydrobromid, hydrochlorid, hydroxynaftoát, jodid, izetionát, laktát, laktobionát, malát, maleát, mandelát, mezylát, metylbromid, metylnitrát, metylsulfát, mukonát, napsylát, nitrát, pamoát (embonát), pantotenát, fosfát/difosfát, polygalakturonát, salicylát, stearát, subacetát, jantaran, sulfát, soľ kyseliny tieslovej, vlnan, teoklát, trietidid, benzatín, chlórprokaín, cholín, dietanolamín, etyléndiamín, meglumín, prokaín, hliník, vápnik, lítium, horčík, draslík, sodík a zinok. Výhodnými farmaceuticky prijateľnými soľami sú hydrochloridy a bivinány. Hydrochloridové soli sú predovšetkým výhodné.

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

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

Kvapalné formy kompozície zahŕňajú roztoky, suspenzie a emulzie. Ako kvapalnú prípravku vhodné na parentálne podávanie sa rovnako môžu spomenúť sterilné vodné alebo vodno-propylénglykolové roztoky účinných zlúčenín. Kvapalnú kompozíciu sa môžu tiež formulovať v roztoku, vo vodnom roztoku polyetylén glykolu.

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 gúmy, živice, metylcelulóza, nátriumkarboxymetylcelulóza 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, kapsuly 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 % CO_2 v trepacích baničkách obsahujúcich DMEM 10 % FBS bez obsahu vápnika, 5 % BCS, 0,1 % Pluronic F-68 a 600 $\mu\text{g/ml}$ geneticínu.

Príprava membrán

Bunky sa peletizovali a resuspendovali v lýznom pufrí (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 odstredovala 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. Supernatanty z obidvoch odstredení sa spojili a odstredovali sa pri 46 000 g (max) počas 30 minút. Pelety sa resuspendovali v chladnom Tris pufrí (50 mM Tris/Cl, pH 7,0) a znova sa odstredili. Finálne pelety sa resuspendovali v membránovom pufrí (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 pufr (50 mM Tris, 3 mM MgCl_2 , 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 $\mu\text{g/ml}$ aprotinínu, 10 μM bestatinu, 10 μM diprotinu A, žiaden DTT). Alikvótne podiely 100 μl (μg proteínu pozri tabuľka 1) sa pridali do ľadového 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 prevírli a inkubovali sa pri teplote 25 °C počas 60 až 75 minút, po tomto čase sa obsahy rýchle prefiltrovali za vákuu a premyli sa s približne 12 ml/skúmavku ľadového premývacieho pufru (50 mM Tris, pH 7,0, 3 mM MgCl_2) 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.

Analytické dáta

Špecifická väzbovosť (SB) sa vypočítala ako TB-NS a špecifická väzbovosť v prítomnosti rozličných testovaných peptidov sa vyjadřila 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-Prussoffovej 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. Biologické údaje sú uvedené v tabuľke 1.

Tabuľka 1
Súhrn biologických údajov

Príklad #	HDELTA			Mozog potkanov		Mozog myši		MLM		RLM	
		EC ₅₀	% EMAX	EC ₅₀	% EMAX	EC ₅₀	% EMAX	10000 % rem.	100000 % rem.	100000 % rem.	1000000 % rem.
12	0,692	0,76	97,73	20,99	106,43	27,14	91,34	0	53,5	21,5	66
13	1,033	1,44	101,18	17,7	111,96	25,77	112,68	1,667	71,667	10	62,667
14	0,181	0,76	88,65	14,26	102,02	20,49	106,48	0	49	13,5	84,5
15	0,787	0,79	88,99	14,16	108,81	16,01	109,85	0	68	10	86
16	1,509	2,39	99,36	30,83	100,5	24,2	98,41	0,5	46,5	9,5	64,5
17	1,091	3,03	95,66	49,47	105,91	75,1	92,47	0	21,5	5,5	75
18	1,54	5,85	93,82	452,31	111,01	429,56	108,41				
19	18,751	85,24	97,88	2807,47	56,35	1365,82	48,68				

Experimenty nasýtenia receptora

Hodnoty rádioligandu K_δ sa stanovili uskutočnením skúšok väzbovosti na bunkových membránach s vhodnými rádioligandmi v koncentráciách v rozsahu od 0,2-násobku do

5-násobku hodnoteného K_δ (až do 10-násobku, ak sú množstvá požadovaného rádioligandu možné). Špecifická väzbovosť rádioligandu sa vyjadřila ako pmol/mg proteínu

membrány. Hodnoty K_δ 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 klieťok, 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 logaritmicke sa zvyšujúcou silou (0,41, 0,69, 1,20, 2,04, 3,63, 5,50, 8,51 a 15,14 gramov; Stoelting, Ill, USA). Von Freyova niť sa aplikovala zo spodnej časti pletiva podlahy kolmo na plantárny povrch s dostatočnou silou, aby spôsobila miernu deformáciu voči labke a takto sa udržiavala približne počas 6 až 8 sekúnd. Pozitívna reakcia sa zaznamenala, ak sa labka prudko odtiahla. Odtiahnutie bezprostredne po odstránení nite sa tak tiež považovalo za pozitívnu reakciu. Chôdza sa považovala za nejednoznačnú reakciu 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 série. Podnety sa vždy uskutočňovali postupným spôsobom, či vzostupným alebo klesajúcim. Pri neprítomnosti reakcie odtiahnutia labky na počiatku 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 reakcií v bezprostrednej blízkosti 50 % prahu a výpočet týchto 6 reakcií sa začal vtedy, keď sa objavila prvá zmena v reakcii, napríklad keď sa po prvý raz prekročil prah. V prípadoch, keď sa prahy ocitli mimo rozsahu podnetov, priradili sa im hodnoty 15,14 (normálna citlivosť) alebo 0,41 (maximálne alodýnické). Výsledné vzory pozitívnych a negatívnych reakcií sa usporiadali do tabuľky s použitím konvenčných označení, X = žiadne odtiahnutie; O = odtiahnutie a prah odtiahnutia 50 % sa interpoloval podľa vzorca:

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

kde Xf = hodnota pre poslednú použitú niť podľa von Freya (log jednotky); k = tabuľková hodnota (podľa Chaplan a kol. (1994)) pre vzor pozitívnych/negatívnych reakcií; 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:

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

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 varioval 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: zviera nie

je v pohybe; dolná časť chrbta je mierne znížená; je pozorovateľný plantárny aspekt obidvoch labiek.

(i) Príprava roztokov

Kyselina octová (AcOH): 120 µl 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 (vĺrenie) a bol pripravený na 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 centrálnou: Intraventrikulárne (i.c.v.) alebo intratekálne (i.t.), podával sa objem 5 µl.

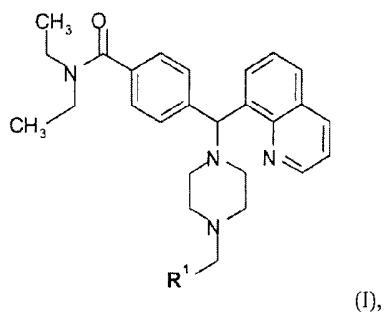
Kyselina octová sa podávala intraperitoneálne (i.p.) v dvoch miestach v množstve 10 ml/kg bezprostredne pred testovaním (pričom sa zohľadnila priemerná telesná hmotnosť myši).

(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 „škátule na topánky“ s kontaktným uložením. Celkovo sa zvyčajne pozorovali štyri myši v rovnakom čase: jedna kontrola a tri s dávkami liečiva.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Deriváty benzamidu všeobecného vzorca (I)

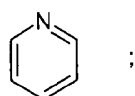


v ktorom

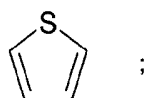
R¹ je zvolené zo skupiny zahrnujúcej

(i) fenyľ;

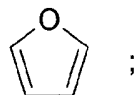
(ii) pyridinyl



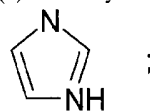
(iii) tiofenyl



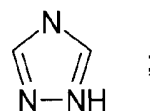
(iv) furanyl



(v) imidazolyl



(vi) triazolyl



kde každý R¹ fenylový kruh a R¹ heteroaromatický kruh môžu byť prípadne a nezávisle ďalej substituované jedným, dvomi alebo tromi substituentmi, ktoré sú zvolené zo skupiny zahrnujúcej lineárnu a rozvetvenú C₁-C₆-alkylovú skupinu, NO₂, CF₃, C₁-C₆-alkoxyskupinu, chlór, fluór, bróm a jód;

ako aj ich farmaceuticky prijateľné soli a ich izoméry.

2. Zlúčenina podľa nároku 1, kde prípadný substituent(y) na aromatickom alebo heteroaromatickom kruhu (kruhoch) je zvolený zo skupiny zahrnujúcej ktorýkoľvek zo substituentov, ako je NO₂, izo-butyl, CF₃, metoxyskupina, metylová skupina alebo chlór.

3. Zlúčenina podľa nároku 1 alebo 2, zvolená zo skupiny zahrnujúcej
 dihydrochlorid 4-[(4-benzyl-1-piperazinyl)(8-chinoliny)-metyl]-N,N-dietylbenzamid;
 N,N-dietyl-4-[[4-(4-metylbenzyl)-1-piperazinyl](8-chinoliny)metyl]benzamid;
 dihydrochlorid 4-[[4-(4-(*tert*-butyl)benzyl)-1-piperazinyl](8-chinoliny)metyl]-N,N-dietylbenzamid;
 dihydrochlorid N,N-dietyl-4-[[4-(4-nitrobenzyl)-1-piperazinyl](8-chinoliny)metyl]-benzamid;
 dihydrochlorid 4-[[4-{2,4-bis(trifluórmetyl)benzyl}-1-piperazinyl](8-chinoliny)metyl]-N,N-dietylbenzamid;
 dihydrochlorid N,N-dietyl-4-[[4-(4-metoxymetyl)-1-piperazinyl](8-chinoliny)metyl]-benzamid;
 dihydrochlorid 4-[[4-(2,4-dichlórbenzyl)-1-piperazinyl](8-chinoliny)metyl]-N,N-dietylbenzamid;
 dihydrochlorid N,N-dietyl-4-[[4-(2-pyridinylmetyl)-1-piperazinyl](8-chinoliny)metyl]-benzamid;
 N,N-dietyl-4-[[4-(3-tienylmetyl)-1-piperazinyl](8-chinoliny)metyl]benzamid;
 N,N-dietyl-4-[[4-(2-furanyl)metyl]-1-piperazinyl](8-chinoliny)metylbenzamid;
 N,N-dietyl-4-[[4-(3-furanyl)metyl]-1-piperazinyl](8-chinoliny)metylbenzamid;
 dihydrochlorid N,N-dietyl-4-[[4-(2-tiofenylmetyl)-1-piperazinyl](8-chinoliny)metyl]-benzamid;
 dihydrochlorid N,N-dietyl-4-[[4-(2-imidazolylmetyl)-1-piperazinyl](8-chinoliny)metyl]-benzamid;

dihydrochlorid *N,N*-dietyl-4-[[4-(4-imidazolylmetyl)-1-piperaziny]](8-chinoliny)metyl]benzamid;

dihydrochlorid *N,N*-dietyl-4-[[4-(3-triazolylmetyl)-1-piperaziny]](8-chinoliny)metyl]benzamid.

4. Zlúčenina podľa niektorého z nárokov 1 až 3, pričom zlúčenina je prítomná ako (+)-enantiomér.

5. Zlúčenina podľa niektorého z nárokov 1 až 3, pričom zlúčenina je prítomná ako (-)-enantiomér.

6. Zlúčenina podľa niektorého z predchádzajúcich nárokov, vo forme hydrochloridovej, sulfátovej, vinanovej alebo citrátovej soli.

7. Zlúčenina podľa nároku 4, zvolená z niektorého z (+)4-[(4-benzyl-1-piperaziny)](8-chinoliny)metyl]-*N,N*-dietylbenzamid; a

(+)4-[[4-(4-metylbenzyl)-1-piperaziny]](8-chinoliny)metyl]-*N,N*-dietylbenzamid.

8. Zlúčenina podľa nároku 5, zvolená z niektorého z (-)4-[(4-benzyl-1-piperaziny)](8-chinoliny)metyl]-*N,N*-dietylbenzamid; a

(-)4-[[4-(4-metylbenzyl)-1-piperaziny]](8-chinoliny)metyl]-*N,N*-dietylbenzamid.

9. Zlúčenina podľa niektorého z nárokov 1 až 8 na použitie pri liečení.

10. Zlúčenina podľa nároku 9, kde liečením je liečenie bolesti.

11. Zlúčenina podľa nároku 9, kde liečenie je zamerané na gastrointestinálne ochorenia.

12. Zlúčenina podľa nároku 9, kde liečenie je zamerané na poranenia chrbtice.

13. Zlúčenina podľa nároku 9, kde liečenie je zamerané na ochorenia sympatického nervového systému.

14. Použitie zlúčeniny vzorca (I) podľa nároku 1, na výrobu liečiva na použitie pri liečení bolesti.

15. Použitie zlúčeniny vzorca (I) podľa nároku 1, na výrobu liečiva na použitie pri liečení gastrointestinálnych ochorení.

16. Použitie zlúčeniny vzorca (I) podľa nároku 1, na výrobu liečiva na použitie pri liečení poranení chrbtice.

17. Farmaceutická kompozícia, **v y z n a č u j ú c a s a t ý m**, že ako účinnú zložku obsahuje zlúčeninu vzorca (I) podľa nároku 1, spolu s farmakologicky a farmaceuticky prijateľným nosičom.

Koniec dokumentu
