

TK

A2

**4-[4-Piperidinilidén-(3-karbamoil-fenil)-metil]-benzamid-származékok
és alkalmazásuk fájdalom, gerincsérülések vagy gasztrointesztinális****rendellenességek kezelésére és ezeket**

tartalmazó gyógyszerkészítmények

KOZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

A találmány tárgyát új vegyületek, az előállításukra szolgáló eljárás, alkalmazásuk és ezeket az új vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítmények képezik. Az új vegyületek a gyógyászatban és különösen fájdalom kezelésére hasznosíthatók.

A δ -receptorról kimutatták, hogy számos testi funkcióban szerepe van, így a keringési és a fájdalomérzetet közvetítő rendszerben is, következésképpen jogos az a feltételezés, hogy a δ -receptor ligandumai esetleg fájdalomcsillapító és/vagy vérnyomáscsökkentő hatóanyagként hasznosíthatók. Ismeretes továbbá, hogy a δ -receptor ligandumai immunmodulátor hatást is mutatnak.

Legalább három különböző opioid receptor típust ismerünk, ezeket a μ , δ és κ görög betűkkel jelölik, és számos faj esetében, így az embernél is, mind a három megtalálható akár a központi, akár a perifériás idegrendszerben. Ezek közül a receptorok közül egyet vagy többet aktiválva, számos állatkísérletes modellben megfigyelhető a fájdalomcsillapítás.

Kevés kivétellel az opioid δ -receptor jelenleg hozzáférhető szelektív ligandumai peptidszerű vegyületek, ezért szisztémás alkalmazásuk nem lehetséges. A nem-peptid típusú δ -receptor agonisták egyike például az SNC80 [lásd E.J. Bilsky et al., Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics **273**(1), 359-366 (1995)], mindazonáltal továbbra is fennáll az igény olyan szelektív δ -agonista hatóanyagokra, amelyek azonfelül, hogy jobb

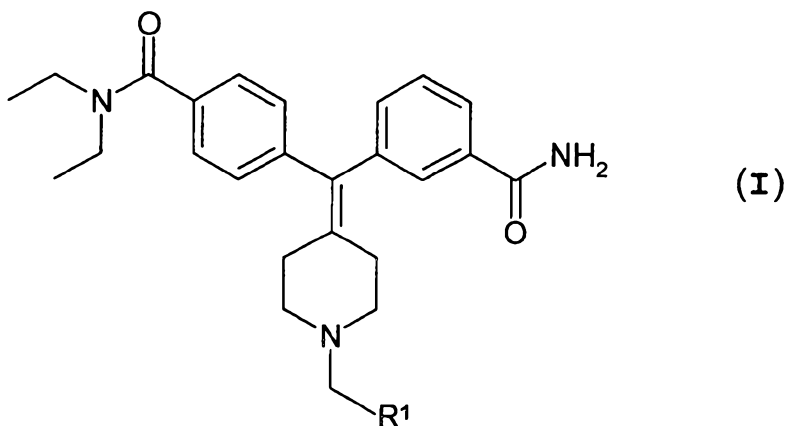
szelektivitást mutatnak, mellékhatás-profiljuk is kedvezőbb az eddig ismertekénél.

A találmány háttérében tehát az a szándék húzódik meg, hogy olyan új hatóanyagokat találjunk, amelyek egyrészt a fájdalomcsillapító hatás tekintetében felülmúlják az eddig ismerteket, másrészt a mellékhatás-profiljuk jobb, mint a jelenlegi μ -agonistáké, emellett szisztémás hatásosságuk is kedvezőbb.

A technika állásának megfelelő, jelenleg is alkalmazott fájdalomcsillapítóknak ugyanis számos előnytelen tulajdonságuk van, így említhetjük például a kedvezőtlen farmakokinetikai jellemzőket, továbbá azt, hogy szisztémásan alkalmazva nincs analgetikus hatásuk. Emellett adatok vannak arra vonatkozóan is, hogy a leginkább preferált és eddig ismert δ -agonisták szisztémás alkalmazás esetén szignifikáns görcskeltő (konvulzív) hatást mutatnak.

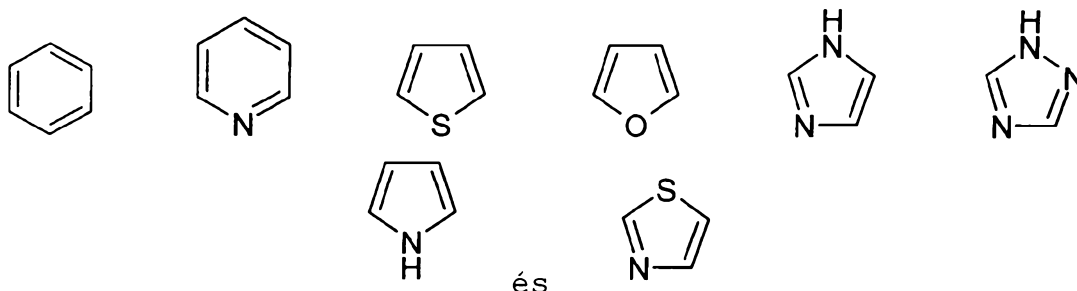
Azt találtuk, hogy különböző, a WO 98/28275 számú szabadalmi iratban különösen nem ismertetett, azonban a találmány oltalmi körébe tartozó vegyületek meglepően jó δ -agonista tulajdonságokat és in vivo hatásosságot mutatnak.

A találmány tárgyát az



általános képletű új vegyületek — a képletben

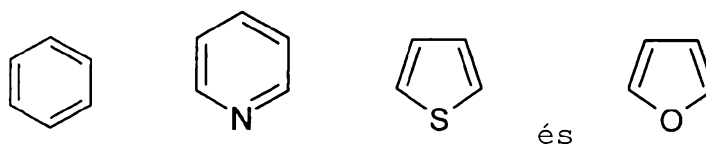
R^1 jelentése a



képletekkel ábrázolható vegyületekből származtatható fenil-, piridil-, tienil-, furil-, imidazolil-, triazolil-, pirrolil- vagy tiazolil-csoport, ahol mindegyik R^1 benzol gyűrű és R^1 heteroaromás gyűrű, adott esetben, mindentől függetlenül további 1, 2 vagy 3 szubsztituenszt hordozhat, és a szubsztituenseket, egymástól függetlenül, az egyenes vagy elágazó láncú 1-6 szénatomos alkil-, nitro-, trifluor-metil- vagy 1-6 szénatomos alkoxicsoport, valamint klór-, fluor-, bróm- vagy jódatom közül választjuk ki —

képezik. A benzolgyűrűn és a heteroaromás gyűrűn a szubsztitúciók az illető gyűrűrendszer bármelyik helyzetében lehetségesek.

A találmány szerinti új vegyületek különösen azok az (I) általános képletű vegyületek, amelyekben R^1 jelentését a



képletekkel ábrázolható vegyületekből származtatható fenil-, piridil-, tienil- és furil-csoportok közül választjuk ki.

Az (I) általános képletű vegyületek sói és enantiomerei is a találmány oltalmi körébe tartoznak.

Amennyiben a benzolgyűrű és a heteroaromás gyűrű(k) szubsztituáltak, az előnyös szubsztituenseket, egymástól függetlenül, a

trifluor-metil- és metilcsoport, valamint a jód-, bróm-, fluor- és klóratom közül választjuk ki.

A találmány szerinti új vegyületek a gyógyászatban, különösen a különböző, fájdalommal járó állapotok, úgymint a krónikus fájdalom, neuropátiás fájdalom, akut fájdalom, rákbetegségben fellépő fájdalom, reumás ízületi gyulladás és migrén által kiváltott fájdalom, zsigeri fájdalom, és így tovább kezelésében alkalmazhatók. Ezt a listát azonban nem tekinthetjük kimerítőnek.

A találmány szerinti vegyületek immunmodulátorokként, különösen autoimmun betegségekben, például ízületi gyulladásban, bőrátültetésben, szervátültetésben és hasonló sebészeti igényekben, kollagén betegségekben, különböző allergiákban, továbbá daganatellenes és vírusellenes szerekként alkalmazhatók.

A találmány szerinti vegyületek azokban a betegségi állapotokban alkalmazhatók, amelyekre az opioid receptorok degenerációja vagy hibás működése jellemző vagy az illető receptorok ebben a paradigmában szerepet játszanak. Ez magával hozhatja izotóppal jelzett találmány szerinti vegyületek alkalmazását a diagnosztikus és a képalkotó eljárásokban, például a pozitron emissziós tomográfiában (PET).

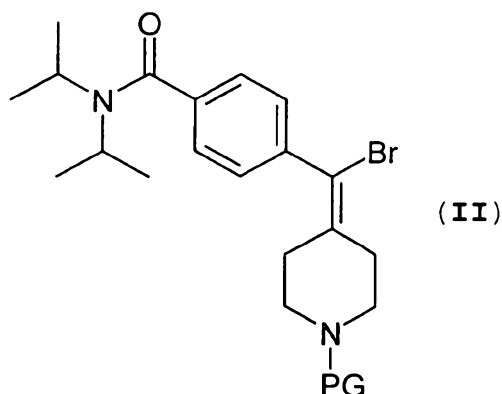
A találmány szerinti vegyületeket a hasmenés, depresszió, szorongás, vizelet visszatartási képtelenség (inkontinencia), különböző mentális betegségek, köhögés, tüdőödéma, különböző gyomor-bélrendszeri rendellenességek, gerincsérülések és drogfüggőség, ideértve az alkohol, nikotin, opiát és egyéb drogfüggőségeket, illetve a szimpatikus idegrendszer rendellenességei, például a magas vérnyomás kezelésében alkalmazhatók.

A találmány szerinti vegyületek fájdalomcsillapító szerként alkalmazhatók az általános érzéstelenítésben és az ellenőrzött érzéstelenítési ellátásban. A különböző tulajdonságú hatóanyagok kombinációit gyakran alkalmazzák a szükséges hatások egyensúlyának elérésére azzal a céllal, hogy az érzéstelenség állapotát (például amnézia, érzéstelenség, izomrelaxáció és nyugtatás) fenntartsák. Ezekbe a kombinációkba tartoznak a belélegeztetési (inhalációs) érzéstelenítők, altatók, feszültségoldók (anxiolitikumok), neuromuszkuláris blokkolók és az opioidok.

Bármelyik (I) általános képletű vegyület bármelyik fentebb említett állapot kezelésére alkalmas gyógyszer előállításában való alkalmazása is a találmány oltalmi körébe tartozik.

A találmány tárgyát képezi továbbá eljárás a fentebb említett bármelyik rendellenességben szenvedő alany kezelésre, amelyben egy ilyen kezelést igénylő páciensnek egy (I) általános képletű vegyület hatékony mennyiségét adjuk be.

További szempontból a találmány tárgyát képezik a



általános képletű köztitermékek, amelyek képletében

PG jelentése uretán-védőcsoport, például terc-butoxi-karbonil- (Boc) vagy (benzil-oxi)-karbonil- (CBZ) vagy benzil- vagy

szubsztituált benzil-csoport, például 2,4-dimetoxi-benzil-csoport.

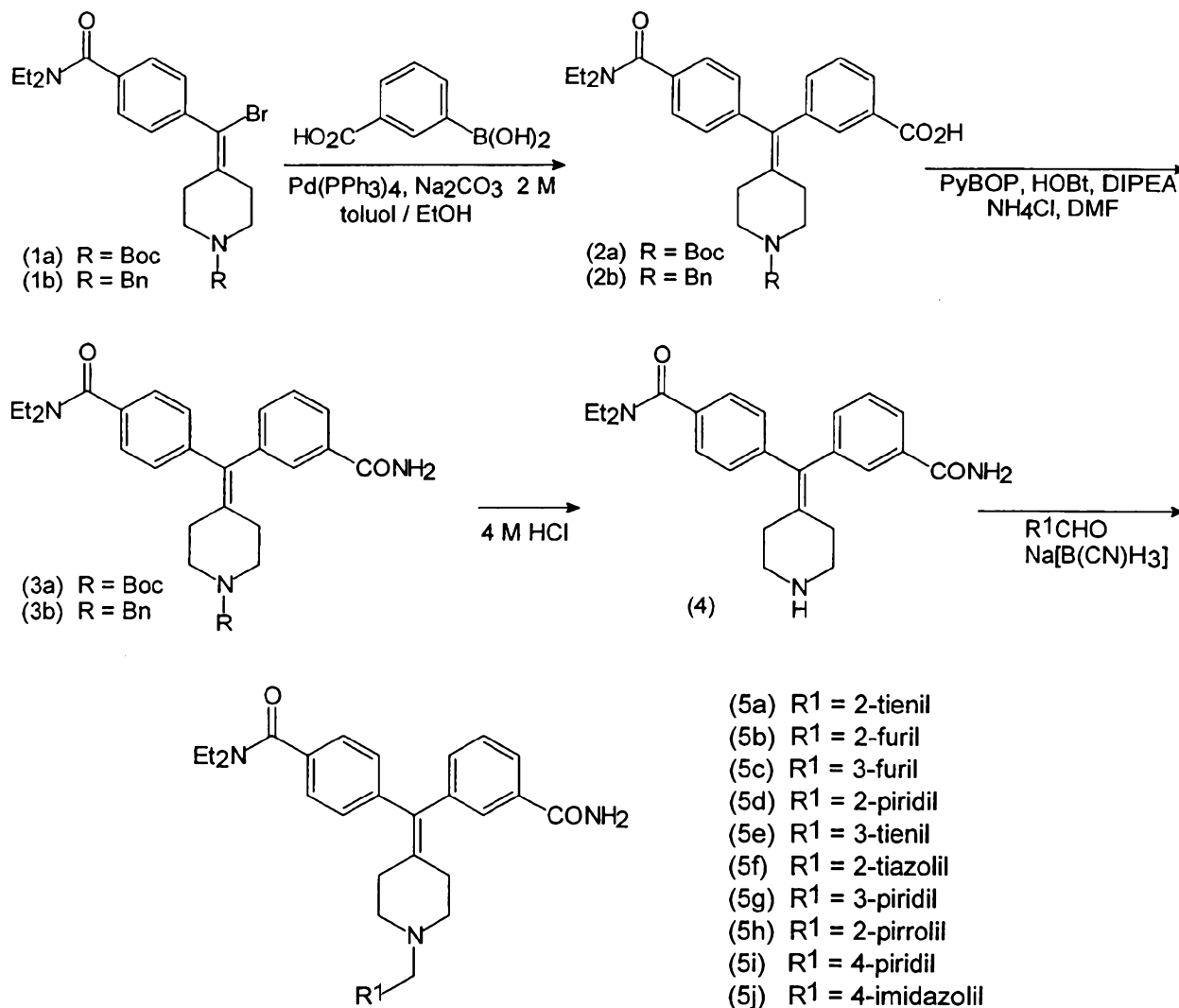
ELŐÁLLÍTÁSI MÓDSZEREK

Kiviteli példák

A továbbiakban a találmányt az itt következő reakcióvázlatokkal és kiviteli példákkal részletesebben ismertetjük, amelyeket azonban úgy állítottunk össze, hogy ezek a találmány oltalmi körét semmilyen tekintetben ne korlátozzák.

1. reakcióvázlat

Szintetikus eljárás a találmány szerinti vegyületek előállítására



**N,N-Dietil-4-[N-Boc-piperidin-4-ilidén-(3-karboxi-fenil)-
-metil]-benzamid [(2a) képletű vegyület]**

451 mg (1,0 mmol) 4-{bróm-[4-(dietil-karbamoil)-fenil]-metilén}-piperidin-1-karbonsav-terc-butyl-észter [(1a) képletű vegyület], 330 mg (2,0 mmol) 3-karboxi-fenilboronsav, 3,0 ml 2 M vizes nátrium-karbonát-oldat és 25 mg tetrakis(trifenil-foszfín)-palládium(0) katalizátor 10 ml oxigén-mentesített toluollal és 10 ml oxigén-mentesített etanollal készített elegyét nitrogéngáz atmoszférában 90°C hőmérsékleten melegítjük 4 órán keresztül. A reakcióelegyet lehűtjük 0°C hőmérsékletre, vizes ammónium-klorid-oldatot adunk hozzá, ezzel a reakciót leállítjuk. A kapott elegyet 2 x 50 ml etil-acetáttal extraháljuk. Az egyesített szerves fázisokat telített vizes nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáton szárítjuk, majd az illó anyagokat ledesztilláljuk. A visszamaradó nyersterméket szilikagél oszlopon végzett kromatográfiával tisztítva megkapjuk a kívánt (2a) képletű vegyületet. Kitermelés: 345 mg, az elméleti érték 70 %-a.

¹H-NMR spektrum (CDCl₃): δ ppm = 1,15 (széles m, 3H, CH₃-CH₂-), 1,23 (széles m, 3H, CH₃-CH₂-), 1,47 [s, 9H, -C(CH₃)₃], 2,31 (m, 2H, piperidin CH-), 2,35 (m, 2H, piperidin CH-), 3,30 (széles m, 2H, CH₃CH₂N-), 3,48 (m, 4H, piperidin CH-), 3,54 (széles m, 2H, CH₃CH₂N-), 7,14 (d, J=8,0 Hz, 2H, ArH), 7,24 (m, 1H, ArH), 7,33 (d, J=8,0 Hz, 2H, ArH), 7,42 (t, J=7,6 Hz, 1H, ArH), 7,86 (s, 1H, ArH), 7,97 (d, J=7,6 Hz, 1H, ArH).

IR spektrum (NaCl): 2976, 1718, 1691, 1598, 1430, 1233, 1166 cm⁻¹.

**N,N-Dietil-4-[(1-benzil-piperidin-4-ilidén)-(3-karboxi-fenil)-
-metil]-benzamid [(2b) képletű vegyület]**

441 mg (1,0 mmol) (**1b**) képletű vegyületet és 330 mg (2,0 mmol) 3-karboxi-fenilboronsavat a (**2a**) képletű vegyület előállításánál leírtak szerint reagáltatva megkapjuk a kívánt (**2b**) képletű vegyületet. Kitermelés: 325 mg, az elméleti érték 67 %-a.

$^1\text{H-NMR}$ spektrum (CDCl_3): δ ppm = 1,11 (széles m, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 1,22 (széles m, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 2,63 (m, 4H, piperidin CH-), 2,90 (m, 4H, piperidin CH-), 3,26 (széles m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N-}$), 3,52 (széles m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N-}$), 4,00 (s, 2H, $\text{-CH}_2\text{N-}$), 7,11 (d, $J=8,0$ Hz, 2H, ArH), 7,16 (m, 1H, ArH), 7,30 (m, 6H, ArH), 7,42 (m, 2H, ArH), 7,84 (s, 1H, ArH), 7,96 (d, $J=7,6$ Hz, 1H, ArH).

N,N-Dietil-4-[(1-benzil-piperidin-4-ilidén)-(3-karbamoil-fenil)-metil]-benzamid [(3b) képletű vegyület]

241 mg (0,5 mmol) N,N-Dietil-4-[(1-benzil-piperidin-4-ilidén)-(3-karboxi-fenil)-metil]-benzamid [(2b) képletű vegyület], 780 mg (1,5 mmol) PyBOP és 200 mg (1,5 mmol) HOBt 4 ml N,N-dimetil-formamiddal készített oldatához hozzáadunk 0,58 ml (4 mmol) N,N-diizopropil-etil-amint (DIPEA) és 50 mg (10,0 mmol) ammónium-kloridot. A reakcióelegyet 0,5 órán keresztül szobahőmérsékleten keverjük, majd a reakcióelegyhez vizet és dietil-étert adva a reakciót leállítjuk. A kiváló fehér csapadékot szűrjük, ez a kívánt (**3b**) képletű vegyület. Kitermelés: 152 mg, az elméleti érték 63 %-a.

$^1\text{H-NMR}$ spektrum (CDCl_3): δ ppm = 1,10 (széles m, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 1,21 (széles m, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 2,62 (m, 4H, piperidin CH-), 2,89 (m, 4H, piperidin CH-), 3,26 (széles m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N-}$), 3,52 (széles m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N-}$), 4,00 (s, 2H, $\text{-CH}_2\text{N-}$), 7,11 (d, $J=8,0$ Hz,

2H, ArH), 7,16 (m, 1H, ArH), 7,30 (m, 6H, ArH), 7,42 (m, 2H, ArH), 7,84 (s, 1H, ArH), 7,96 (d, J=7,6 Hz, 1H, ArH).

Az elemi analízis értékei a $C_{31}H_{35}N_3O_2 \cdot 6,0HCl$ összegképletre:

számított %: C, 53,16, H, 5,90;

talált %: C, 53,07, H, 5,54.

N,N-Dietil-4-[(piperidin-4-ilidén)-(3-karbamoil-fenil)-metil]-benzamid [(4) képletű vegyület]

150 mg (0,30 mmol) (2a) képletű vegyületből kiindulva és a (3b) képletű vegyület előállítására leírt eljárást alkalmazva előállítjuk a (3a) képletű vegyületet. Kitermelés: 105 mg, az elméleti érték 70 %-a.

1H -NMR spektrum ($CDCl_3$): δ ppm = 1,14 (széles m, 3H, $\underline{CH}_3-CH_2-$), 1,22 (széles m, 3H, $\underline{CH}_3-CH_2-$), 1,46 (s, 9H, $-C(CH_3)_3$), 2,28 (m, 2H, piperidin $\underline{CH}-$), 2,33 (m, 2H, piperidin $\underline{CH}-$), 3,30 (széles m, 2H, CH_3CH_2N-), 3,46 (m, 4H, piperidin $\underline{CH}-$), 3,55 (széles m, 2H, CH_3CH_2N-), 7,13 (d, J=8,0 Hz, 2H, ArH), 7,30 (m, 3H, ArH), 7,39 (t, J=7,6 Hz, 1H, ArH), 7,61 (s, 1H, ArH), 7,68 (d, J=7,6 Hz, 1H, ArH).

A fenti (3b) képletű terméket 10 ml 4,0 M dioxános hidrogén-klorid-oldattal szobahőmérsékleten 4 órán keresztül reagáltatjuk. Az illó anyagok ledesztillálása után a maradékot feloldjuk 10 ml vízben, majd a szennyezéseket 2 x 20 ml etil-acetáttal extraháljuk. A vizes fázist ammónium-hidroxiddal lúgosítjuk, majd 3 x 20 ml etil-acetáttal extraháljuk. Az egyesített szerves fázisokat telített vizes nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáton szárítjuk, majd az illó anyagokat ledesztilláljuk, ekkor kvantitatív kitermeléssel kapjuk meg a (4) képletű vegyületet.

^1H -NMR spektrum (CDCl_3): δ ppm = 1,15 (széles m, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 1,23 (széles m, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 1,90 (széles jel, 2H, -NH_2), 2,31 (m, 2H, piperidin CH-), 2,34 (m, 2H, piperidin CH-), 2,92 (m, 4H, piperidin CH-), 3,32 (széles m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N-}$), 3,55 (széles m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N-}$), 7,13 (d, $J=8,0$ Hz, 2H, ArH), 7,30 (m, 3H, ArH), 7,38 (t, $J=7,6$ Hz, 1H, ArH), 7,58 (s, 1H, ArH), 7,66 (d, $J=7,6$ Hz, 1H, ArH).

Infravörös spektrum (NaCl): 3307, 2973, 1668, 1615, 1435, 1383, 1289 cm^{-1} .

Az elemi analízis értékei a $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot 2,8\text{HCl}$ összegképletre:

számított %: C, 58,40, H, 6,49;

talált %: C, 58,46, H, 6,57.

N,N-Dietil-4-{[1-(2-tienil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-fenil)-metil}-benzamid [(5a) képletű vegyület]

196 mg (0,5 mmol) N,N-dietil-4-[(piperidin-4-ilidén)-(3-karbamoil-fenil)-metil]-benzamid [(4) képletű vegyület], 112 mg (1,0 mmol) tiofén-2-karboxaldehid, 0,1 ml ecetsav és 10 ml metanol elegyéhez részletekben hozzáadunk 200 mg nátrium-[ciano-trihidridoborát(III)] reagenst. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 4 órán keresztül keverjük, majd vizes ammónium-klorid-oldattal a reakciót leállítjuk. Az elegyet 3 x 50 ml metilén-dikloriddal extraháljuk. Az egyesített szerves fázisokat telített vizes nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáton szárítjuk, majd az illó anyagokat ledesztilláljuk. A visszamaradó nyersterméket szilikagél oszlopon végzett kromatográfiával tisztítva megkapjuk a kívánt (5a) képletű vegyületet. Kitermelés: 216 mg, az elméleti

érték 89 %-a.

$^1\text{H-NMR}$ spektrum (CDCl_3): δ ppm = 1,13 (széles m, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 1,22 (széles m, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 2,36 (m, 2H, piperidin CH-), 2,42 (m, 2H, piperidin CH-), 2,54 (m, 4H, piperidin CH-), 3,26 (széles m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N-}$), 3,52 (széles m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N-}$), 3,76 (s, 2H, $\text{-CH}_2\text{N-}$), 5,60 (széles jel, 1H, -NH-), 6,06 (széles jel, 1H, -NH-), 6,91 (s, 1H, ArH), 7,12 (d, $J=8,0$ Hz, 2H, ArH), 7,26 (m, 1H, ArH), 7,30 (m, 3H, ArH), 7,37 (t, $J=7,6$ Hz, 1H, ArH), 7,56 (s, 1H, ArH), 7,64 (d, $J=7,6$ Hz, 1H, ArH).

Infravörös spektrum (NaCl): 3352, 2973, 1668, 1614, 1434, 1290 cm^{-1} .

Az elemi analízis értékei a $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}\cdot 2,3\text{HCl}$ összegképletre:

számított %: C, 60,95, H, 6,23;

talált %: C, 60,96, H, 6,42.

N,N-Dietil-4-{[1-(2-furil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-fenil)-metil}-benzamid [(5b) képletű vegyület]

196 mg (0,5 mmol) (4) képletű vegyületet és 96 mg (1,0 mmol) furán-2-karboxaldehidet az (5a) képletű vegyület előállítására leírt eljárás szerint reagáltatva megkapjuk az (5b) képletű vegyületet. Kitermelés: 158 mg, az elméleti érték 67 %-a.

$^1\text{H-NMR}$ spektrum (CDCl_3): δ ppm = 1,12 (széles m, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 1,22 (széles m, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 2,41 (m, 4H, piperidin CH-), 2,83 (m, 4H, piperidin -CH-), 3,27 (széles m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N-}$), 3,52 (széles m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N-}$), 3,88 (s, 2H, $\text{-CH}_2\text{N-}$), 6,18 (széles jel, 1H, -NH-), 6,35 (m, 1H, ArH), 6,42 (m, 1H, ArH), 6,86 (m, 1H, -NH-), 7,12 (d, $J=8,0$ Hz, 2H, ArH), 7,27 (m, 3H, ArH), 7,32 (m, 1H, ArH), 7,41 (s, 1H, ArH), 7,61 (s, 1H, ArH), 7,69 (d, $J=7,6$

Hz, 1H, ArH).

Az elemi analízis értékei a $C_{29}H_{33}N_3O_3 \cdot 3,0HCl$ összegképletre:

számított %: C, 59,95, H, 6,25;

talált %: C, 59,68, H, 5,98.

N,N-Dietil-4-{[1-(3-furil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-fenil)-metil}-benzamid [(5c) képletű vegyület]

196 mg (0,5 mmol) (4) képletű vegyületet és 96 mg (1,0 mmol) furán-3-karboxaldehidet az (5a) képletű vegyület előállítására leírt eljárás szerint reagáltatva megkapjuk az (5c) képletű vegyületet. Kitermelés: 143 mg, az elméleti érték 61 %-a.

1H -NMR spektrum ($CDCl_3$): δ ppm = 1,13 (széles m, 3H, $\underline{CH}_3$ -CH $_2$ -), 1,25 (széles m, 3H, $\underline{CH}_3$ -CH $_2$ -), 2,42 (m, 4H, piperidin CH-), 2,70 (m, 4H, piperidin -CH-), 3,26 (széles m, 2H, $\underline{CH}_3$ CH $_2$ N-), 3,52 (széles m, 2H, $\underline{CH}_3$ CH $_2$ N-), 3,62 (s, 2H, -CH $_2$ N-), 5,80 (széles jel, 1H, -NH-), 6,46 (m, 1H, ArH), 7,12 (d, J=8,0 Hz, 2H, ArH), 7,28 (m, 3H, ArH), 7,42 (m, 2H, ArH), 7,59 (s, 1H, ArH), 7,66 (d, J=7,6 Hz, 1H, ArH).

Az elemi analízis értékei a $C_{29}H_{33}N_3O_3 \cdot 3,1HCl$ összegképletre:

számított %: C, 59,58, H, 6,22;

talált %: C, 59,44, H, 6,45.

N,N-Dietil-4-{[1-(2-piridil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-fenil)-metil}-benzamid [(5d) képletű vegyület]

196 mg (0,5 mmol) (4) képletű vegyületet és 107 mg (1,0 mmol) piridin-2-karboxaldehidet az (5a) képletű vegyület előállítására leírt eljárás szerint reagáltatva megkapjuk az (5d)

képletű vegyületet. Kitermelés: 35 mg, az elméleti érték 15 %-a.

$^1\text{H-NMR}$ spektrum (CDCl_3): δ ppm = 1,13 (széles m, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 1,24 (széles m, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 2,38 (m, 2H, piperidin CH-), 2,42 (m, 2H, piperidin CH-), 2,56 (m, 4H, piperidin -CH-), 3,26 (széles m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N-}$), 3,54 (széles m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N-}$), 3,68 (s, 2H, $\text{-CH}_2\text{N-}$), 5,64 (széles jel, 1H, -NH-), 6,12 (széles jel, 1H, -NH-), 7,14 (m, 3H, ArH), 7,31 (m, 3H, ArH), 7,35 (m, 1H, ArH), 7,38 (m, 1H, ArH), 7,56 (s, 1H, ArH), 7,66 (m, 2H, ArH), 8,58 (m, 1H, ArH).

N,N-Dietil-4-{[1-(3-tienil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-fenil)-metil}-benzamid [(5e) képletű vegyület]

196 mg (0,5 mmol) (4) képletű vegyületet és 112 mg (1,0 mmol) tiofén-3-karboxaldehidet az (5a) képletű vegyület előállítására leírt eljárás szerint reagáltatva megkapjuk az (5e) képletű vegyületet. Kitermelés: 185 mg, az elméleti érték 76 %-a.

$^1\text{H-NMR}$ spektrum (CDCl_3): δ ppm = 1,13 (széles m, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 1,24 (széles m, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 2,46 (m, 4H, piperidin CH-), 2,84 (m, 4H, piperidin CH-), 3,26 (széles m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N-}$), 3,52 (széles m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N-}$), 3,91 (s, 2H, $\text{-CH}_2\text{N-}$), 5,72 (széles jel, 1H, -NH-), 6,44 (széles jel, 1H, -NH-), 7,13 (s, 2H, ArH), 7,26 (m, 3H, ArH), 7,36 (m, 3H, ArH), 7,61 (s, 1H, ArH), 7,68 (d, $J=7,6$ Hz, 1H, ArH).

Az elemi analízis értékei a $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}\cdot 2,5\text{HCl}$ összegképletre:

számított %: C, 60,18, H, 6,18;

talált %: C, 60,16, H, 6,49.

N,N-Dietil-4-{[1-(2-tiazolil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-fenil)-metil}-benzamid [(5f) képletű vegyület]

300 mg (0,8 mmol) N,N-dietil-4-[(piperidin-4-ilidén)-(3-karbamoil-fenil)-metil]-benzamid [(4) képletű vegyület] 15 ml 1,2-diklór-etánnal készített oldatához hozzáadunk 94 μ l (1,1 mmol) tiazol-2-karboxaldehidet és nátrium-[triacetoxi-hidrido-borát(III)] reagenst. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 20 órán keresztül keverjük, majd vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal a reakciót leállítjuk. Az elegyet 2 x 20 ml metilén-dikloriddal extraháljuk. Az egyesített szerves fázisokat telített vizes nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáton szárítjuk, majd az illó anyagokat ledesztilláljuk. A visszamaradó nyersterméket szilikagél oszlopon végzett kromatográfiával tisztítva sárga színű hab formájában megkapjuk az (5f) képletű vegyületet. Kitermelés: 234 mg, az elméleti érték 63 %-a.

A terméket feloldjuk 5 ml metilén-dikloridban, majd hozzáadunk 1,4 ml (3 ekvivalens) 1 M dietil-éteres hidrogén-klorid-oldatot. 30 perc eltelte után az illó anyagokat ledesztilláljuk, majd a maradékot szárítjuk.

^1H -NMR spektrum (CDCl_3): δ ppm = 1,10 (t, $J=7$ Hz, 3H, CH_3), 1,21 (t, $J=7$ Hz, 3H, CH_3), 2,64 (széles s, 4H, CH_2), 3,27-3,31 (m, 4H, CH_2), 3,48-3,53 (m, 2H, CH_2), 3,67 (széles s, 2H, CH_2), 4,77 (s, 2H, $-\text{NCH}_2\text{Ar}$), 7,27 (d, $J=8,5$ Hz, 2H, $\text{Ar}-\text{H}$), 7,33-7,37 (m, 3H, $\text{Ar}-\text{H}$), 7,44 (t, $J=7,5$ Hz, 1H, $\text{Ar}-\text{H}$), 7,68-7,69 (m, 1H, $\text{Ar}-\text{H}$), 7,75-7,78 (m, 2H, $\text{Ar}-\text{H}$), 7,94 (d, $J=3,5$ Hz, 1H, $\text{Ar}-\text{H}$).

Az elemi analízis értékei a $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_2\text{S} \cdot 2,5\text{HCl}$ összegképletre:

számított %: C, 58,00, H, 6,00, N, 9,66;

talált %: C, 58,00, H, 5,95, N, 9,43.

N,N-Dietil-4-([1-(3-piridil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-fenil)-metil)-benzamid [(5g) képletű vegyület]

176 mg (0,45 mmol) (4) képletű vegyületet és 60 μ l (0,6 mmol) piridin-2-karboxaldehidet az (5f) képletű vegyület előállítására leírt eljárás szerint reagáltatva megkapjuk az (5g) képletű vegyületet. Kitermelés: 91,5 mg, az elméleti érték 42 %-a.

$^1\text{H-NMR}$ spektrum (CDCl_3): δ ppm = 1,09 (t, $J=7$ Hz, 3H, CH_3), 1,21 (t, $J=7$ Hz, 3H, CH_3), 2,68-2,75 (m, 4H, CH_2), 3,26-3,28 (m, 4H, CH_2), 3,43-3,60 (m, 4H, CH_2), 4,65 (s, 2H, $-\text{NCH}_2\text{Ar}$), 7,27 (d, $J=8,5$ Hz, 2H, Ar-H), 7,32-7,36 (m, 3H, Ar-H), 7,43 (t, $J=8$ Hz, 1H, Ar-H), 7,70-7,71 (m, 1H, Ar-H), 7,75-7,78 (m, 1H, Ar-H), 8,19 (dd, $J=6$ Hz, 8 Hz, 1H, Ar-H), 8,88 (d, $J=8$ Hz, 1H, Ar-H), 8,98 (d, $J=6$ Hz, 1H, Ar-H), 9,21 (s, 1H, Ar-H).

Az elemi analízis értékei a $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot 3,1\text{HCl} \cdot 0,4\text{H}_2\text{O}$ összegképletre:
számított %: C, 59,77, H, 6,34, N, 9,29;
talált %: C, 59,70, H, 6,36, N, 9,17.

N,N-Dietil-4-([1-(2-pirrolil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-fenil)-metil)-benzamid [(5h) képletű vegyület]

261 mg (0,7 mmol) (4) képletű vegyületet és 89 mg (0,9 mmol) pirrol-2-karboxaldehidet az (5f) képletű vegyület előállítására leírt eljárás szerint reagáltatva megkapjuk az (5h) képletű vegyületet. Kitermelés: 118,5 mg, az elméleti érték 38 %-a.

$^1\text{H-NMR}$ spektrum (CDCl_3): δ ppm = 1,09 (t, $J=7$ Hz, 3H, CH_3), 1,21 (t, $J=7$ Hz, 3H, CH_3), 2,46-2,53 (m, 2H, CH_2), 2,65-2,77 (m, 2H, CH_2), 2,97-3,04 (m, 2H, CH_2), 3,26-3,30 (m, 2H, CH_2), 3,46-3,52 (m, 4H, CH_2), 4,30 (s, 2H, $-\text{NCH}_2\text{Ar}$), 6,33-6,34 (m, 1H, Ar-H),

6,85-6,86 (m, 1H, Ar-H), 7,24-7,26 (m, 2H, Ar-H), 7,30-7,36 (m, 4H, Ar-H), 7,40-7,45 (m, 1H, Ar-H), 7,67-7,68 (m, 1H, Ar-H), 7,75-7,77 (m, 1H, Ar-H).

Az elemi analízis értékei a $C_{29}H_{34}N_4O_2 \cdot 1,1HCl \cdot 1,8H_2O$ összegképletre:

számított %: C, 64,13, H, 7,18, N, 10,32;

talált %: C, 64,26, H, 7,15, N, 9,94.

N,N-Dietil-4-{[1-(4-piridil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-fenil)-metil}-benzamid [(5i) képletű vegyület]

329 mg (0,8 mmol) (4) képletű vegyületet és 112 µl (1,2 mmol) piridin-4-karboxaldehidet az (5f) képletű vegyület előállítására leírt eljárás szerint reagáltatva megkapjuk az (5i) képletű vegyületet. Kitermelés: 217 mg, az elméleti érték 54 %-a.

1H -NMR spektrum ($CDCl_3$): δ ppm = 1,12 (t, $J=7$ Hz, 3H, CH_3), 1,24 (t, $J=7$ Hz, 3H, CH_3), 2,67-2,82 (m, 4H, CH_2), 3,22-3,34 (m, 4H, CH_2), 3,49-3,65 (m, 4H, CH_2), 4,72 (s, 2H, $-NCH_2Ar$), 7,29 (d, $J=8,5$ Hz, 2H, Ar-H), 7,33-7,40 (m, 3H, Ar-H), 7,46 (t, $J=8$ Hz, 1H, Ar-H), 7,72-7,73 (m, 1H, Ar-H), 7,78-7,80 (m, 1H, Ar-H), 8,37 (d, $J=7$ Hz, 2H, Ar-H), 9,00 (d, $J=7$ Hz, 2H, Ar-H).

N,N-Dietil-4-{[1-(4-imidazolil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-fenil)-metil}-benzamid [(5j) képletű vegyület]

313 mg (0,8 mmol) (4) képletű vegyületet és 108 mg (1,1 mmol) imidazol-4-karboxaldehidet az (5f) képletű vegyület előállítására leírt eljárás szerint reagáltatva megkapjuk az (5j) képletű vegyületet. Kitermelés: 68,2 mg, az elméleti érték 18 %-a.

1H -NMR spektrum ($CDCl_3$): δ ppm = 1,12 (t, $J=7$ Hz, 3H, CH_3), 1,23

(t, $J=7$ Hz, 3H, CH_3), 2,63 (t, $J=6$ Hz, 2H, CH_2), 2,68 (t, $J=6$ Hz, 2H, CH_2), 3,26-3,36 (m, 6H, CH_2), 3,54 (q, $J=7$ Hz, 2H, CH_2), 4,45 (s, 2H, $-\text{NCH}_2\text{Ar}$), 7,28 (d, $J=8$ Hz, 2H, Ar-H), 7,32-7,40 (m, 3H, Ar-H), 7,45 (t, $J=8$ Hz, 1H, Ar-H), 7,66 (s, 1H, Ar-H), 7,71 (t, $J=2$ Hz, 1H, Ar-H), 8,61 (s, 1H, Ar-H).

Gyógyszerkészítmények

A találmány szerinti új vegyületeket szájon át (orálisan), intramuszkulárisan, szubkután, helyileg, orron át, intraperitoneálisan, intrathoracalisan, intravénásan, epidurálisan, intrathecalisan, intracerebroventricularisan és az ízületekbe injekcióval lehet beadni.

Előnyösen orálisan, intravénásan és az intramuszkulárisan lehet ezeket a készítményeket beadni.

A vegyületek dózisa a beadás módjától, a betegség súlyosságától, a páciens életkorától és testtömegétől és egyéb tényezőktől függ, amelyeket a kezelő orvos rendszerint figyelembe vesz, amikor a különös páciensre nézve leginkább megfelelő kezelési eljárást és dózisszintet meghatározza.

A találmány szerinti vegyületekből gyógyszerkészítményeket szilárd vagy folyékony, gyógyszerészetileg elfogadható vivőanyagokkal lehet előállítani. A szilárd gyógyszerformák közé tartoznak a porok, tabletták, diszpergálható granulátumok, kapszulák, ostyakapszulák és a kúpok.

A szilárd vivőanyag egy vagy többféle anyag is lehet, amelyek hígító, ízesítő, oldódást elősegítő, síkosító, szuszpendáló, kötő vagy a tabletták szétesését elősegítő anyagok egyaránt

lehetnek, de ide tartozhatnak a kapszulázó anyagok is.

Porokban a vivőanyag finom eloszlású szilárd anyag, amely a finom eloszlású hatóanyaggal együtt keveréket képez. Tablettákban a hatóanyagot olyan vivőanyaggal keverik össze, megfelelő arányban, amely kötő tulajdonságú, és a kívánt formára és méretre összepréselhető.

Kúp formájú készítmény előállításához alacsony olvadáspontú viaszt, például zsírsav-gliceridek és kakaóvaj keverékét alkalmazták, amelyet először megolvasztanak, majd ebben az olvadékban, például keveréssel, diszpergálják a hatóanyagot. Az olvadt homogén keveréket a szokásos méretű formákba öntik, amelyben a keverék, lehűlés után, megszilárdul.

Megfelelő vivőanyagok a magnézium-karbonát, magnézium-sztearát, talkum, laktóz, cukor, pektin, dextrin, keményítő, tragakant, metil-cellulóz, nátrium-(karboxi-metil)-cellulóz, alacsony olvadáspontú viasz, kakaóvaj és hasonlóak.

A sók közé tartoznak, de ezekre nem korlátozódva, a gyógyszerészetileg elfogadható sók. A találmány oltalmi körébe tartozó, gyógyszerészetileg elfogadható sók a következők: acetát, benzolszulfonát, benzoát, hidrogén-karbonát, bitartarát, bromid, kalcium-acetát, kamszilát, karbonát, klorid, citrát, dihidroklorid, edetát, ediszilát, esztolát, eszilát, fumarát, glükaptát, glükonát, glutamát, glikollilarzanilát, hexil-rezorcinát, hidrabamin, hidrobromid, hidroklorid, hidroxinaftoát, izetionát, laktát, laktobionát, malát, maleát, mandelát, mezilát, metil-bromid, metil-nitrát, metil-szulfát, mukát, napszilát, nitrát, pamoát (embonát), pantotenát, fosz-

fát/difoszfát, poligalakturonát, szalicilát, sztearát, szubacetát, szukcinát, tannát, tartarát, teoklát. A találmány oltalmi körébe tartozó, gyógyszerészetileg el nem fogadható sók a következők: hidrojodid, perklorát és a tetrafluoro-borát.

Előnyös gyógyszerészetileg elfogadható sók a hidrokloridok, szulfátok és a hidrogén-tartarátok.

A hidroklorid és a szulfát sók különösen előnyösek.

A „készítmény” meghatározás a hatóanyag (aktív komponens) kapszulázó anyaggal való formázását jelenti, amely kapszulázó anyag, mint vivőanyag, a kapszulában a (vivőanyaggal együttes vagy vivőanyag nélküli) hatóanyagot körülveszi, és azzal szoros kapcsolatba lép. Hasonló a helyzet az ostyakapszula esetében is. A tablettákat, porokat, ostyakapszulákat és a kapszulákat orális beadásra alkalmas szilárd gyógyszerformákként alkalmazhatjuk.

A folyékony készítmények közé tartoznak az oldatok, a szuszpenziók és az emulziók. A hatóanyagok steril vízzel vagy víz-propilénglikol eleggyel készített oldatokat említhetjük, mint amelyek parenterális beadásra megfelelőek. Folyékony (oldat) készítményeket vizes polietilénglikol oldattal is előállíthatunk.

Az orális beadásra alkalmas oldatokat a következő módon állítjuk elő: a hatóanyagot vízben feloldjuk, majd megfelelő színező és ízesítő anyagokat, stabilizátorokat és sűrítő szereket adunk hozzá, kívánság szerint. Orális alkalmazásra megfelelő vizes szuszpenziók előállításánál a finom eloszlású hatóanyagot viszkózus anyagokkal, például természetes vagy szintetikus mézgákkal, gyantákkal, metil-cellulózzal, nátrium-(karboxi-metil)-cellulózzal és egyéb szuszpendáló szerekkel együtt, amelyek a

gyógyszerkészítés szakterületén jól ismertek, vízben szuszpendáljuk.

A gyógyszerkészítményeket, előnyösen, egyedi adagolási formában készítjük el. Ez olyan gyógyszerformát jelent, amely esetében a készítményt a hatóanyag megfelelő mennyiségét tartalmazó egyedi adagolási formákra osztjuk fel. Az egyedi adagolási forma lehet egy csomagolt készítmény, ahol a csomag a készítmények diszkrét mennyiségeit tartalmazza, például csomagolt tablettákat, kapszulákat és csövekben vagy ampullákban porokat. Az egyedi adagolási forma maga a kapszula, ostyakapszula vagy a tabletta, vagy a megfelelő számú bármelyik csomagolási forma is lehet.

BIOLÓGIAI ÉRTÉKELES

In vitro modell

Sejtkultúra

A. Humán μ , δ és κ receptorokat expresszáló klónozott, és neomycin rezisztens humán 293S sejteket rázópalackokban 10 % borjúsérumot, 5 % BCS, 0,1 % Pluronic F-68 és 600 $\mu\text{g/ml}$ geneticint tartalmazó kalcium-mentes DMEM tápoldatban szuszpendálunk.

B. Egér és patkány agyakat lemérünk, majd 2,5 mM EDTA-t, pH 7,4, tartalmazó jéghideg PBS oldattal leöblítünk. Az agyakat polytron készülékben, lízis pufferoldatban (50 mM Tris, pH 7,0, 2,5 mM EDTA, amelyhez az alkalmazás előtt 0,5 M DMSO/etanolos törzsoldatból 0,5 mM fenil-metil-szulfonil-fluoridot adunk) az egér agyakat 15 másodpercig, a patkány agyakat 30 másodpercig homogenizáljuk.

Membrán preparálás

A sejteket centrifugával leüleptítjük (pelletezzük), majd lízis pufferoldatban (50 mM Tris, pH 7,0, 2,5 mM EDTA, ehhez közvetlenül a felhasználás előtt fenil-metil-szulfonil-fluorid 0,1 M etanolos törzsoldatából 0,1 mM mennyiséget adunk) újraszuszpendáljuk, jéggel hűtve 15 percig inkubáljuk, majd polytron készülékkel 30 másodpercig homogenizáljuk. A szuszpenziót 1000 g-n és 4°C hőmérsékleten 10 percig centrifugáljuk. A felülúszót jégen tartjuk, az üledéket a fentiek szerint újraszuszpendáljuk, majd centrifugáljuk. A két műveletből származó felülúszót egyesítjük, majd legfeljebb 46,000 g-n 30 percig centrifugáljuk. Az üledéket hideg Tris pufferoldatban (50 mM Tris/HCl, pH 7,0) újraszuszpendáljuk, majd a kapott szuszpenziót ismét centrifugáljuk. Végül az üledéket membrán pufferoldatban (50 mM Tris, 0,32 M szacharóz, pH 7,0) újraszuszpendáljuk. Ebből a membrán szuszpenzióból 1 ml térfogatú alikvotokat polipropilén csőbe mérünk, a csövek tartalmát szárazjég/etanol fürdőben lefagyasztjuk, majd a felhasználásig -70°C hőmérsékleten tároljuk. A protein koncentrációt a módosított Lowry teszttel, nátrium-dodecil-szulfáttal határozzuk meg.

Kötési tesztek

A membránokat 37°C hőmérsékleten felolvasztjuk, azután jéggel lehűtjük, 25-méretű tűn háromszor átengedjük, majd kötési pufferoldattal [50 mM Tris, 3 mM magnézium-klorid, 1 mg/ml borjúsérum albumin (Sigma A-7888), pH 7,4, amelyet 0,22 m szűrőn át való szűrés után 4°C hőmérséklete tárolunk, és amelyhez frissen hozzáadunk 5 µg/ml aprotinit, 10 µM besztatint, 10 µM diproton A-t, ditiotreitet nem] hígítjuk. Jéggel lehűtött 12x75

mm méretű polipropilén csövekbe, amelyek 100 μ l megfelelő radioligandum-oldatot és 100 μ l, különböző koncentrációjú vizsgálandó vegyület-oldatot tartalmaznak, bemérünk 100 μ l alikvotokat a fenti membrán szuszpenzióból. A teljes kötést (TB) és a nem specifikus kötést (NS) 10 μ M naloxon jelenlétében, illetve ennek hiányában meghatározzuk. A csöveket vortex keverővel keverjük, 25°C hőmérsékleten 60-75 percig inkubáljuk, a csövek tartalmát csökkentett nyomás segítségével gyorsan szűrjük, majd GF/B szűrőkön (Whatman; amelyeket előzőleg legalább 2 órán keresztül 0,1 % polietilén-imin-oldatban áztattunk) átszűrt, csövenként mintegy 12 ml jéghideg mosó-pufferoldattal (50 mM Tris, pH 7,0, 3 mM magnézium-klorid), a csöveket mossuk. A szűrőn fennmaradó radioaktivitást (beütés/perc; dpm), miután a szűrőket 6-7 ml szcintillációs folyadékot tartalmazó mini csövekben legalább 12 órán keresztül áztattuk, béta számlálóval megmérjük. Ha a tesztet 96 mély mélyedékes lemezen végezzük, a szűrést poli-etilén-imin-oldattal átitatott 96 helyes szűrőlemezekkel (unifilters) végezzük, ahol a mosást 3 ml mosó-pufferoldattal végezzük, majd a lemezt szárító szekrényben 55°C hőmérsékleten 2 órán keresztül szárítjuk. A szűrőlemezeket, miután mindegyik mélyedéshez hozzáadtunk 50 μ l MS-20 szcintillációs folyadékot, TopCount (Packard) készülékkel számoljuk meg.

Funkcionális tesztek

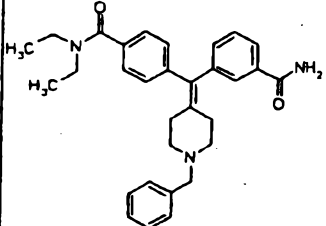
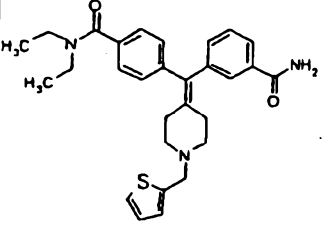
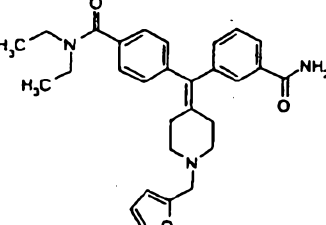
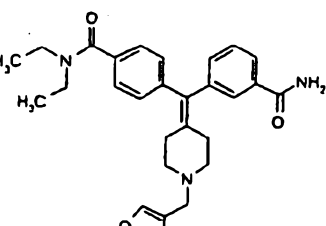
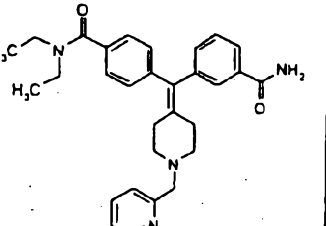
A vegyületek agonista aktivitásának meghatározásánál megmérjük, hogy a vegyület/receptor komplex milyen mértékben aktiválja a GTP-nek a G-proteinhez való kötődését, amely proteinhez kapcsolódik maga a receptor. A GTP kötési tesztben a GTP[γ]³⁵S a

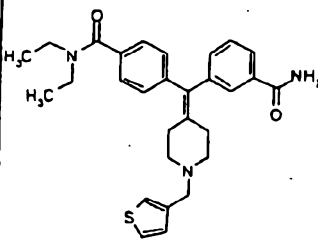
vizsgálandó vegyülettel kombinálódik, és a HEK-293S sejtekből vagy a homogenizált patkány és egér agyakból származó membránok expresszálják a klónozott humán opioid receptorokat. Az agonisták stimulálják a $\text{GTP}[\gamma]^{35}\text{S}$ kötődését ezekben a membránokban. A vegyületek EC_{50} és E_{max} értékeit a dózis-hatás görbékből határozzuk meg. A delta antagonistá naltrexon esetében a dózis hatás görbe jobbra tolódik, amely igazolja, hogy az agonista aktivitás a delta (δ) receptorokon keresztül közvetítődik.

Adat-analízis

A specifikus kötődést (SB) a teljes kötődés és a nem-specifikus kötődés különbözete (TB-NS) adja meg, és a különböző vizsgálandó vegyületek jelenlétében a specifikus kötődést a kontroll specifikus kötődésének százalékában fejezzük ki. A specifikusan kötődött radioligandumot kiszorító ligandumokra vonatkozó IC_{50} és a Hill koeficiens (n_H) értékeket a logaritmikus léptékben szerkesztett diagrammokról vagy görbeillesztő programok (például Ligand, GraphPad Prism, SigmaPlot vagy ReceptorFit) segítségével határozzuk meg. A K_i értékeket a Cheng-Prussoff egyenletből számítjuk ki. A ligandumokra vonatkozó IC_{50} , K_i és n_H középérték $\pm$ a középérték standard hibája ($\text{mean} \pm \text{S.E.M.}$) értékeket legalább három kiszorításos görbe alapján határozzuk meg. A Biológiai adatokat alább az 1. táblázatban adjuk meg.

1. táblázat

Példa	MOLEKULA-SZERKEZET	HDELTA (nM)			PATKÁNYAGY		EGÉRAGY	
		IC ₅₀	EC ₅₀	%EMax	EC ₅₀	%EMax	EC ₅₀	%EMax
3b		0,548	0,091	93,775	0,403	178,94	0,539	164,82
5a		0,373	0,158	98,107	0,613	181,01	0,818	170,24
5b		0,282			0,633	149,28		
5c		0,246			0,367	170,4		
5d		0,278			0,396	179,89		

5e		0,235						
----	---	-------	--	--	--	--	--	--

Receptor telítési kísérletek

A radioligandum K_d értékeinek meghatározása céljából a sejtmembránokon a kötési tesztet a megfelelő radioligandumnak a becsült K_d érték 0,2-5-szörös koncentrációival végezzük (a 10-szeres koncentrációig elmehetünk, ha a radioligandum szükséges mennyisége ezt lehetővé teszi). A specifikus radioligandum kötődést pmol/mg membrán protein értékben fejezzük ki. A K_d és B_{max} értékeket az egyedi kísérletekből a specifikusan kötött (B) radioligandumnak a szabad (F) radioligandum nM-ban kifejezett értékeivel szembeni nem-lineáris illesztésével egy kötőhelyes modell szerint kapjuk meg.

Mechanikus eredetű, a normálistól eltérő fájdalom (Mechano-Allodynia) vizsgálata von Frey tesztben

A tesztet 8,00 és 16,00 órák közötti időpontban, a Chaplan et al., (1994) közleményében leírtak szerint végezzük. A patkányokat plexiüvegből készült ketrecekbe helyezzük, a ketrecek alját drótból készült rács képezi, amely lehetővé teszi a mancs elérését, majd 10-15 percig a ketrechez szoktatjuk az állatokat. A vizsgált terület a bal hátsó mancs közép talpi része, elkerülve a kevésbé érzékeny talppárnákat. A mancsot 8-tagú, logaritmikusan növekvő merevségű (0,41, 0,69, 1,20, 2,04, 3,63, 5,50, 8,51 és 15,14 g; Stoelting, USA) von Frey drótszállal (hairs)

érintjük meg. A von Frey drótszálat alulról, a rácsos aljzathoz képest függőlegesen, megfelelő erővel alkalmazzuk úgy, hogy a manccsal érintkezve enyhén meghajoljon, majd 6-8 másodpercig így tartjuk. Akkor kapunk pozitív választ, ha az állat a mancsát hirtelen visszarántja. A drótszál eltávolítása utáni közvetlen összerándulást is pozitív válasznak értékeljük. A járkálást bizonytalan válasznak tekintjük, és ilyen esetekben a stimulálást megismételjük.

Vizsgálati előírat

Az FCA-kezelt csoport állatait az operációt követő 1. napon kezeljük. Az 50 % visszarántási küszöbértéket Dixon (1980) fel-le (up-down) módszerével határozzuk meg. A tesztet a drótsorozat középső tagjával, a 2,04 merevségű dróttal indítjuk. A stimulációt folyamatosan végezzük akár felfelé, akár lefelé haladunk. Ha a kezdetben kiválasztott dróttal való érintésre az állat mancsrántással nem reagál, erősebb stimulust választunk, míg ha a mancsrántás jelentkezik, gyengébb stimulusra térünk át. Ezzel a módszerrel az optimális küszöbérték számítására 6 válasz szükséges az 50 % küszöbérték közvetlen szomszédságában, és ennek a 6 válasznak a számolása akkor kezdődik, amikor a válaszreakcióban az első változás megtörténik, azaz amikor a küszöbértéket először keresztezzük. Abban az esetben, amikor a küszöbértékek a stimulálás tartományán kívül esnek, a 15,14 (normál érzékenység) vagy a 0,41 (a normálistól maximálisan eltérő) értéket fogadjuk el. A kapott pozitív és negatív válaszok mintázatát a következő konvenció segítségével táblázatba foglaljuk: X = nincs visszarántás, O = visszarántás, és az 50 % küszöbértéket a következő

képletet alkalmazva interpoláljuk:

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

amely képletben

X_f = az utolsóként alkalmazott von Frey drót (log egységekben);

k = táblázatból vett érték [Chaplan et al., (1994) közleményéből] a pozitív/negatív válaszok mintázatára; és

δ = a stimulusok közötti átlagos különbség (log egységekben).

Az itteni esetben $\delta = 0,224$.

A von Frey küszöbértéket Chaplan et al., (1994) szerint a %-ban kifejezett maximális lehetséges hatássá (% MPE) alakítjuk át. A % MPE értékeket a következő egyenletet alkalmazva számítjuk ki:

$$\% \text{ MPE} = \frac{\text{Gyógyszerrel kezelt küszöbérték (g)} - \text{normálistól eltérő fájdalom küszöbérték (g)} \times 100}{\text{kontroll küszöbérték (g)} - \text{normálistól eltérő fájdalom küszöbérték (g)}}$$

A vizsgálandó vegyületek beadása

A patkányoknak a von Frey vizsgálat előtt szubkután, intraperitoneális vagy intravénás injekcióval vagy orálisan adjuk be a vizsgálandó vegyületeket. A vizsgálandó vegyület beadásának időpontja és a von Frey teszt időpontja közötti időtartam a vizsgálandó vegyület természetétől függ.

Writhing teszt

Ha egereknek intraperitoneális injekcióval ecetsavat adunk a hasüregébe, erre az állat alhasi összehúzódással reagál. Ezután az állatok jellegzetes módon nyújtják ki a testüket. Ha érzéstelenítő hatóanyagot adunk az állatoknak, a fenti mozgás kevésbé gyakran figyelhető meg, és az anyagot mint lehetséges gyógyszer-

jelöltet választhatjuk ki.

A Writhing reflex akkor teljes és jellemző, ha a következő elemek megfigyelhetők: az állat nincs mozgásban; a hát alsó részét enyhén leengedi; *mindkét* mancs talpi része megfigyelhető. Ebben a tesztben a találmány szerinti vegyületek 1-100 $\mu\text{mol}/\text{testtömeg kg}$ dózisban szájon át beadva a Writhing válaszokat szignifikánsan gátolják.

(i) Oldatok készítése

Ecetsav (AcOH): 19,88 ml desztillált vízhez hozzáadunk 120 μl ecetsavat, ekkor 20 ml végső térfogatú és 0,6 % végső ecetsavkoncentrációjú oldat keletkezik. Az oldatot megkeverjük (vortex), ekkor kész az injekciózásra.

Vegyület (hatóanyag): mindegyik előállított vegyületet standard eljárások szerint feloldjuk a leginkább megfelelő oldószerben.

(ii) Az oldatok beadása

A vegyület (hatóanyag) oldatát szájon át (p.o.), intraperitoneálisan (i.p.), szubkután (s.c.) vagy intravénásan (i.v.), 10 mg/testtömeg kg dózisban (tekintettel az egerek átlagos testtömegére) a teszt elkezdése előtt 20, 30 vagy 40 perccel (a vegyület csoportja és jellemzői szerint) adjuk be. Ha a vegyületet centrálisan adjuk be, a beadási mód intraventrikuláris (i.c.v.) vagy intrathecalis (i.t.) lehet 5 μl térfogatban.

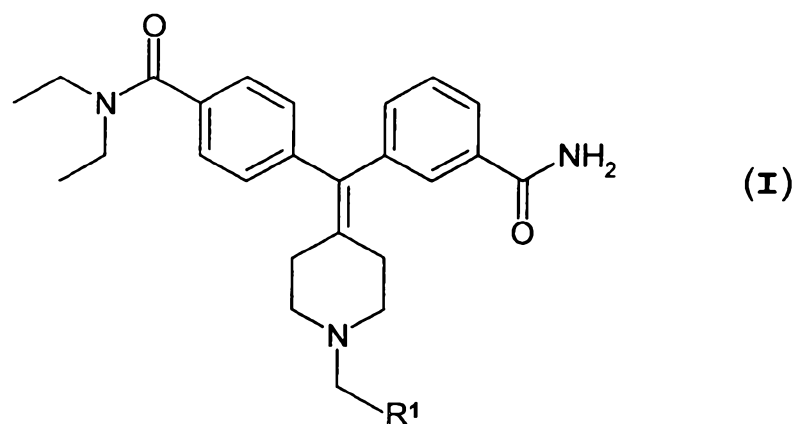
Az ecetsav-oldatot intraperitoneálisan (i.p.) két helyre adjuk be 10 mg/testtömeg kg dózisban (tekintettel az egerek átlagos testtömegére) közvetlenül a teszt elkezdése előtt.

(iii) A teszt elvégzése

Az állatokat (egereket) 20 percen keresztül figyeljük meg, az események (Writhing reflexek) számát feljegyezzük, majd a kísérlet végén értékeljük. Az egereket egyedi „cipősdoboz” ketrecekben kontakt almozás mellett tartjuk. Egyszerre rendszerint 4 egeret vizsgálunk egy kontroll és három gyógyszerrel kezelt csoportban.

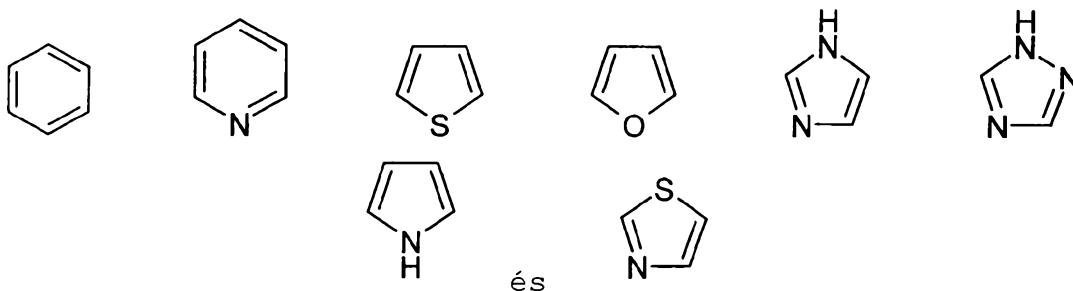
Szabadalmi igénypontok

1. Az



általános képletű vegyületek — amely képletben

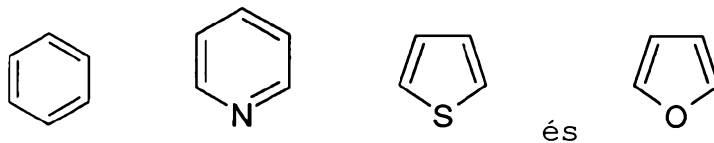
R¹ jelentése a



képletekkel ábrázolható vegyületekből származtatható fenil-, piridil-, tienil-, furil-, imidazolil-, triazolil-, pirrolil- vagy tiazolil-csoport, amely csoportokban a benzolgyűrű vagy heteroaromás gyűrű adott esetben, mindentől függetlenül, további 1, 2 vagy 3 szubsztituenst hordozhat, és a szubsztituensek, egymástól függetlenül, az egyenes vagy elágazó láncú 1-6 szénatomos alkil-, nitro-, trifluor-metil- vagy 1-6 szénatomos alkoxicsoport, valamint klór-, fluor-, bróm- vagy jódatom közül választhatók —

és sóik.

2. Az 1. igénypont szerinti vegyületek, amelyekben R^1 jelentése a



képletekkel ábrázolható vegyületekből származtatható fenil-, piridil-, tienil- vagy furil-csoport.

3. Az 1. igénypont szerinti vegyületek, amelyekben mindegyik R^1 fenilgyűrű és R^1 heteroaromás gyűrű adott esetben, mindentől függetlenül, még további 1, 2 vagy 3 szubsztituenszt hordozhat, amely szubsztituensek, egymástól függetlenül, a metil- vagy trifluor-metil-csoport, illetve a klór-, fluor-, bróm- és jódatom közül választhatók.

4. Az 1. igénypont szerinti alábbi vegyületek:

N,N-dietil-4-[piperidin-4-ilidén-(3-karbamoil-fenil)-metil]-
-benzamid,

N,N-dietil-4-{[1-(2-tienil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-
-fenil)-metil}-benzamid,

N,N-dietil-4-{[1-(2-furil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-
-fenil)-metil}-benzamid,

N,N-dietil-4-{[1-(3-furil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-
-fenil)-metil}-benzamid,

N,N-dietil-4-{[1-(2-piridil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-
-fenil)-metil}-benzamid,

N,N-dietil-4-{[1-(3-tienil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-
-fenil)-metil}-benzamid,

N,N-dietil-4-{[1-(2-tiazolil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-

-fenil)-metil}-benzamid,
N,N-dietil-4-{[1-(3-piridil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-
-fenil)-metil}-benzamid,
N,N-dietil-4-{[1-(2-pirrolil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-
-fenil)-metil}-benzamid,
N,N-dietil-4-{[1-(4-piridil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-
-fenil)-metil}-benzamid és
N,N-dietil-4-{[1-(4-imidazolil-metil)-piperidin-4-ilidén]-(3-karbamoil-
-fenil)-metil}-benzamid.

5. Az 1. igénypont szerinti vegyületek hidroklorid, dihidroklorid, szulfát, tartarát, di(trifluor-acetát) vagy citrát sóik formájában.

6. Az 1-5. igénypontok bármelyike szerinti vegyületek gyógyászatban való alkalmazása.

7. A 6. igénypont szerinti vegyületek gyógyászatban fájdalom kezelésében való alkalmazásra.

8. A 6. igénypont szerinti vegyületek gyógyászatban gyomor-bélrendszeri rendellenességek kezelésében való alkalmazásra.

9. A 6. igénypont szerinti vegyületek gyógyászatban gerinc sérülések kezelésében való alkalmazásra.

10. A 6. igénypont szerinti vegyületek gyógyászatban szimpatikus idegrendszeri rendellenességek kezelésében való alkalmazásra.

11. Az 1. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyületek alkalmazása fájdalom kezelésre szolgáló gyógyszer előállítására.

12. Az 1. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyületek

tek alkalmazása gyomor-bélrendszeri rendellenességek kezelésre szolgáló gyógyszer előállítására.

13. Az 1. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyületek alkalmazása gerincsérülés kezelésére szolgáló gyógyszer előállítására.

14. Gyógyszerkészítmény, amely hatóanyagként egy 1. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyületet tartalmaz gyógyszerészetileg elfogadható vivőanyaggal együtt.

A meghatalmazott:



Ráthonyi Zoltán

szabadalmi ügyvivő

az S.B.G. & K. Szabadalmi Ügyvivői Iroda
tagja

H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 461-1000 Fax: 461-1099

rajz nélkül

2004. 10. 27. PK