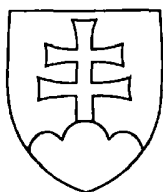


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA

- (22) Dátum podania prihlášky: **30. 3. 2001**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **0001207-0**
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **4. 4. 2000**
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **SE**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **3. 6. 2003**
Vestník ÚPV SR č.: **6/2003**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/SE01/00707**
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO01/74804**

(11), (21) Číslo dokumentu:

1423-2002

(13) Druh dokumentu: **A3**

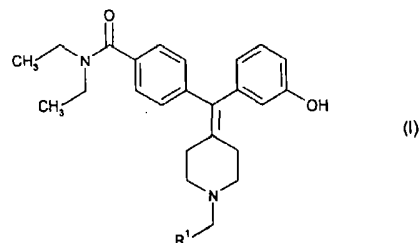
(51) Int. Cl.⁷ :

**C07D401/06,
C07D405/06,
C07D409/06,
C07D211/68,
A61K 31/4523,
A61P 25/04,
A61P 25/00**

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

(54) Názov: **Hydroxyfenylpiperidin-4-ylidénmetylbenzamidové deriváty na liečbu bolesti**

- (57) Anotácia:
Opisujú sa zlúčeniny všeobecného vzorca (I), kde R¹ je vybrané spomedzi nasledujúcich: fenyľ, pyridinyl, tienyl, furanyl, imidazolyl, triazolyl a tiazolyl; kde každý fenylový kruh R¹ a heteroaromatický kruh R¹ môže byť voliteľne a nezávisle ďalej substituovaný 1, 2 alebo 3 substituentmi vybranými spomedzi nasledujúcich: lineárny a rozvetvený C₁-C₆ alkyl, NO₂, CF₃, C₁-C₆ alkoxy, chlór, fluór, bróm a jód. Substitúcie na fenylovom kruhu a na heteroaromatickom kruhu môžu byť v ktorejkoľvek polohe na týchto kruhových systémoch. Uvedené látky sú publikované a nárokované v tejto prihláške spolu so soľami a farmaceutickými kompozíciami obsahujúcimi nové zlúčeniny a ich použitím v terapii, najmä v manažmente bolesti.



Hydroxyfenylpiperidin-4-ylidénmetylbenzamidové deriváty na liečbu bolesti

Oblasť techniky

Predložený vynález sa týka nových zlúčenín, postupu na ich prípravu, ich použitia a farmaceutických kompozícií obsahujúcich tieto nové zlúčeniny. Tieto nové zlúčeniny sú užitočné v terapii a najmä pri liečbe bolesti.

Doterajší stav techniky

Receptor δ bol identifikovaný ako receptor s úlohou v mnohých telesných funkciách, napríklad systému obehu a bolesti. Ligandy pre receptor δ môžu preto nájsť potenciálne využitie ako analgetiká a/alebo antihypertoniká. Ukázalo sa tiež, že ligandy pre receptor δ majú imunomodulačné aktivity.

Identifikácia aspoň troch rôznych populácií receptorov opiátov (μ , δ a κ) je teraz dobre zavedená a všetky tri sú evidentné v centrálnych a periférnych nervových systémoch mnohých druhov vrátane človeka. Pri aktivácii jedného alebo viacerých z týchto receptorov sa pozorovala analgézia na rôznych zvieracích modeloch.

S niekoľko málo výnimkami sú momentálne dostupné selektívne opiátové δ ligandy svojou povahou peptidické a sú nevhodné na podanie systémovými cestami. Jeden príklad nepeptidického δ -agonistu je SNC80 (Bilsky E. J. et al., Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 273(1), s. 359-366 (1995)). Existuje však stále potreba selektívnych δ -agonistov majúcich nielen zlepšenú selektivitu, ale aj zlepšený profil vedľajších účinkov.

Problémom, ktorý bol základom predloženého vynálezu, bolo teda nájdenie nových analgetík so zlepšenými analgetickými účinkami, ale aj so zlepšeným profilom vedľajších účinkov oproti aktuálnym μ agonistom, ako aj majúcich zlepšenú systémovú účinnosť.

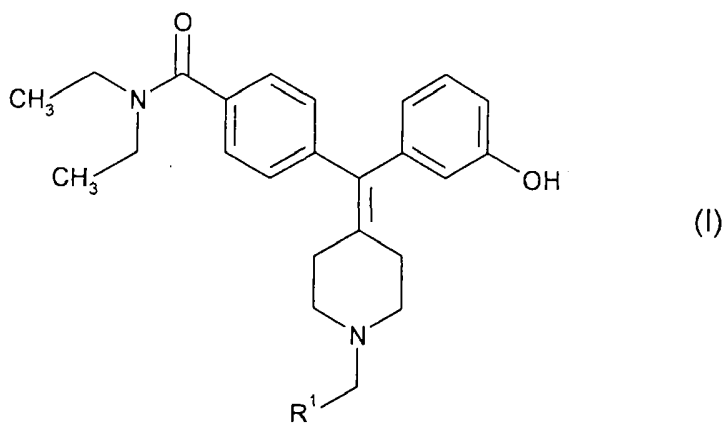
Analgetiká, ktoré boli identifikované a existujú v doterajšom stave techniky, majú mnohé nevýhody v tom, že majú slabú farmakokinetiku a nie sú analgetické, keď sa podajú systémovými cestami. Bolo tiež dokumentované, že výhodné δ agonistické

zlúčeniny opísané v doterajšom stave techniky vykazujú pri systémovom podaní signifikantne konvulzívne účinky.

Teraz sme zistili, že isté zlúčeniny nie špecificky publikované, ale zahrnuté v rozsahu WO 98/28275, vykazujú prekvapujúco zlepšené δ -agonistické vlastnosti a in vivo potenciu.

Podstata vynálezu

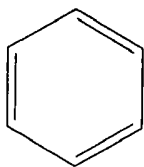
Nové zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sú definované vzorcom I



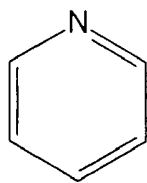
kde

R^1 je vybrané z nasledujúcich:

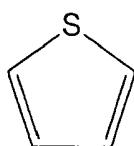
(i) fenyl;



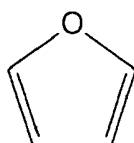
(ii) pyridinyl



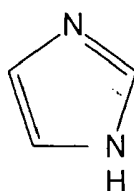
(iii) tienyl



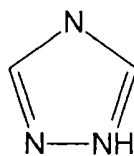
(iv) furanyl



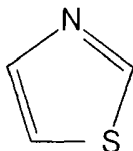
(v) imidazolyl



(vi) triazolyl



(vii) tiazolyl



kde každý fenyl R^1 a heteroaromatický kruh R^1 môže byť voliteľne a nezávisle ďalej substituovaný 1, 2 alebo 3 substituentmi vybranými spomedzi nasledujúcich: lineárny a rozvetvený C_1 - C_6 alkyl, NO_2 , CF_3 , C_1 - C_6 alkoxy, chlór, fluór, bróm, a jód. Substitúcie na fenyle a na heteroaromatickom kruhu môžu prebehnúť v ktorejkoľvek polohe na týchto kruhových systémoch.

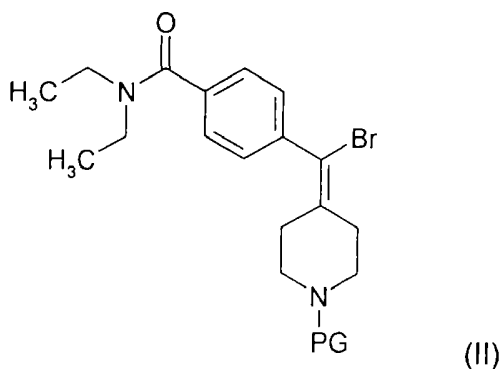
Výhodným uskutočnením predloženého vynálezu je zlúčenina podľa obrázka I, kde R^1 má vyššie uvedený význam a každý fenylový kruh R^1 a heteroaromatický kruh R^1 môže byť nezávisle ďalej substituovaný metylovou skupinou.

Výhodnejším uskutočnením predloženého vynálezu je zlúčenina podľa obrázka I, kde R^1 je pyridinyl, tienyl alebo furanyl.

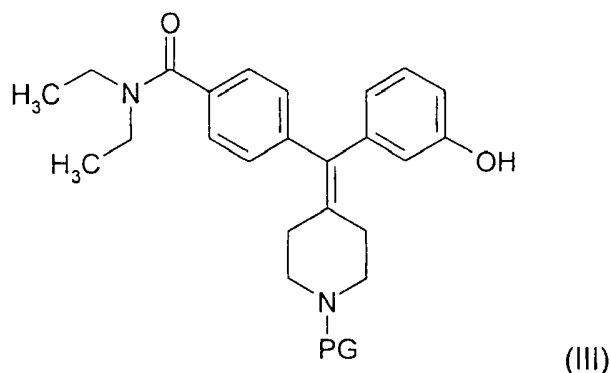
Do rozsahu vynálezu spadajú aj soli a enantioméry zlúčenín vzorca I vrátane solí enantiomérov.

Keď je fenyl a heteroaromatický kruh substituovaný, výhodné substituenty sú vybrané spomedzi nasledujúcich: CF_3 , metyl, jód, bróm, fluór a chlór.

Krok reakcie g v schéme 1 (pozrite ďalej) sa uskutočňuje reakciou intermediátu všeobecného vzorca II



kde PG je uretánová alebo benzylu podobná chrániaca skupina, napríklad Boc, s kyselinou 3-hydroxyfenylboritou použitím paládiového katalyzátora, napr. $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, za prítomnosti bázy, napr. Na_2CO_3 , čím sa získajú zlúčeniny všeobecného vzorca III,



z ktorej sa potom odstráni chrániaca skupina za štandardných podmienok a alkyluje sa za redukčných podmienok zlúčeninou všeobecného vzorca $\text{R}^1\text{-CHO}$ za vzniku zlúčenín všeobecného vzorca I.

Medzi vhodné paládiové katalyzátory okrem iných patrí PdCl_2 (s fosfinom), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (s fosfinom), $\text{Pd}(\text{dba})_2$, $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ CH_2Cl_2 , $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, Pd/C .

Medzi vhodné bázy okrem iných patrí trietylamin, uhličitan sodný a draselný.

Medzi redukovadlá vhodné na použitie patria okrem iných kyanobórhydrid sodný a triacetoxibórhydrid sodný.

Nové zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sú užitočné pri terapii, najmä na liečbu rôznych stavov bolesti, napríklad chronickej bolesti, neuropatickej bolesti, akútnej bolesti, rakovinovej bolesti, bolesti spôsobenej reumatoidnou artritídou, migrénou, viscerálnou bolesťou atď. Tento zoznam by sa však nemal vykladať ako vyčerpávajúci.

Zlúčeniny podľa vynálezu sú užitočné ako imunomodulátory, najmä na autoimunitné choroby, ako je artritída, na kožné šupy, orgánové transplantáty a podobné chirurgické potreby, na kolagénové choroby, rôzne alergie, na použitie ako protinádorové prostriedky a protivírusové prostriedky.

Zlúčeniny podľa vynálezu sú užitočné pri chorobných stavoch, kde je prítomná alebo implikovaná degenerácia alebo dysfunkcia opiátových receptorov. To môže zahŕňať použitie izotopovo označených verzií zlúčenín podľa vynálezu v diagnostických technikách a zobrazovacích aplikáciách, napríklad v pozitronovej emisnej tomografii (PET).

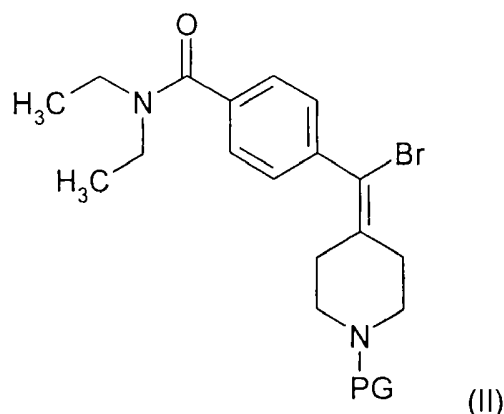
Zlúčeniny podľa vynálezu sú užitočné na liečbu hnačky, depresie, anxiety, inkontinencie moču, rôznych psychických chorôb, kašľa, edému pľúc, rôznych gastrointestinálnych porúch, zranení chrbtice a závislosti od drog, vrátane liečby zneužívania alkoholu, nikotínu, opiátov a iných drog a na poruchy sympatického nervového systému, napríklad hypertenzie.

Zlúčeniny podľa vynálezu sú užitočné ako analgetické prostriedky na použitie počas celkovej anestézie a monitorovanej anestetickkej starostlivosti. Kombinácie prostriedkov s rôznymi vlastnosťami sa často používajú na dosiahnutie rovnováhy účinkov potrebných na udržanie anestetického stavu (napr. amnézie, analgézie, svalovej relaxácie a upokojenia). V tejto kombinácii sú zahrnuté inhalované anestetiká, hypnotiká, anxiolytiká, neuromuskulárne blokátory a opiáty.

Do rozsahu vynálezu spadá aj použitie ktorejkoľvek zo zlúčenín vyššie uvedeného vzorca I na výrobu liečiva na liečbu ktoréhokoľvek z vyššie diskutovaných stavov.

Ďalším aspektom vynálezu je spôsob liečby subjektu trpiaceho ktorýmkoľvek z vyššie diskutovaných stavov, pri ktorom sa podá účinné množstvo zlúčeniny vyššie uvedeného vzorca I pacientovi s potrebou takej liečby.

Ďalším aspektom predloženého vynálezu sú intermediáty všeobecného vzorca II,



kde PG je uretánová alebo benzylo podobná chrániaca skupina, napríklad Boc.

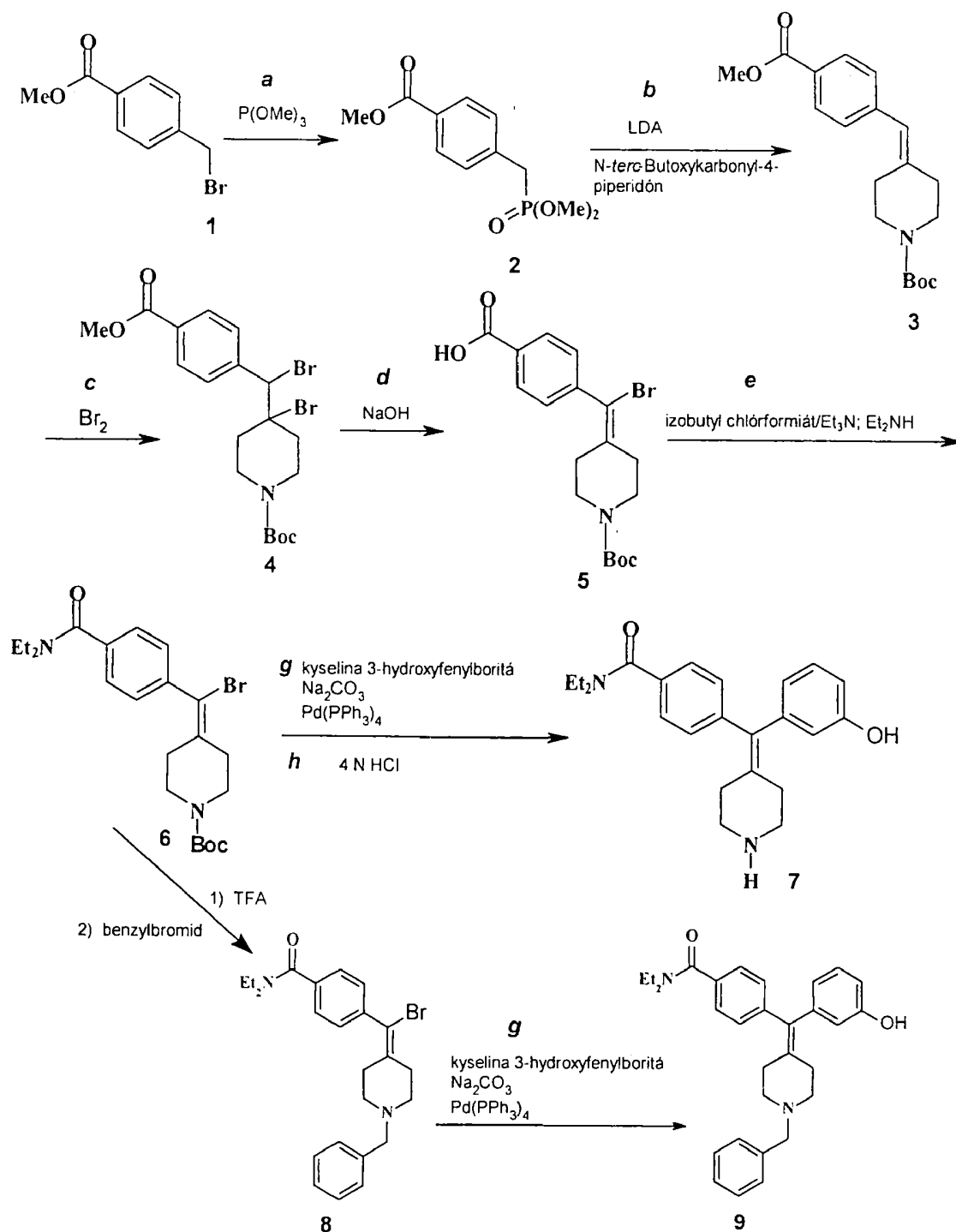
Spôsoby prípravy

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu možno pripraviť podľa známych postupov opísaných napr. v „Advanced Organic Chemistry“, tretie vydanie, Jerry March, John Wiley and Sons Inc.; New York (1985): Krok (a): s. 848; krok (b): s. 848; krok (c): s. 657; krok (d): s. 875; krok (e): s. 371 – 373; krok (f): s. 364 – 366; krok (g): N. Miyaura a A. Suzuki, Chem. Rev., **95**, 2457-2483 (1995); krok (h): „Protective Groups in Organic synthesis“ s. 327 – 329, Theodora W. Greene a Peter G. M. Wuts, druhé vydanie, John Wiley and Sons Inc.; New York (1991). Táto literatúra sa týmto celá zahŕňa odkazom.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Vynález bude teraz opísaný podrobnejšie na nasledujúcich príkladoch, ktoré sa nemajú vysvetľovať ako obmedzenie rozsahu vynálezu.

Schéma 1



Príklad 1

Príprava N,N-dietyl-4-(3-hydroxyfenylpiperidín-4-ylidénmetyl)benzamid (zlúčenina 7)

(i) Príprava *tert*-butylesteru kyseliny 4-(4-metoxycarbonylbenzylidén)piperidín-1-karboxylovej (zlúčenina 3)

Zmes zlúčeniny 1 (11,2 g, 49 mmol) a trimetylfosfitu (25 ml) sa refluxovala pod N₂ 5 hod. Nadbytok trimetylfosfitu sa odstránil oddestilovaním s toluénom, čím sa získala zlúčenina 2 v kvantitatívnom výťažku: ¹H NMR (CDCl₃) δ 3,20 (d, 2H, J = 22 Hz), 3,68 (d, 3H 10,8 Hz), 3,78 (d, 3H, 11,2 Hz), 3,91 (s, 3H), 7,38 (m, 2H), 8,00 (d, 2H, J = 8 Hz).

(ii) Do roztoku vyššie uvedeného produktu (zlúčenina 2) v suchom THF (200 ml) sa po kvapkách pridal diizopropylamid lítny (32,7 ml 1,5 M roztoku v hexánoch, 49 mmol) pri -78 °C. Reakčná zmes sa potom nechala ohriať na laboratórnu teplotu a pridal sa N-*tert*-butoxycarbonyl-4-piperidón (9,76 g, 49 mmol v 100 ml suchého THF). Po 12 hodinách sa reakcia ukončila pridaním vody (300 ml) a extrahovala sa etylacetátom (3 x 300 ml). Spojené organické fázy sa vysušili nad MgSO₄ a odparili sa na surový produkt, ktorý sa vyčistil flash chromatografiou, čím sa získala zlúčenina 3 vo forme bielej tuhej látky (5,64 g, 35 %):

IČ (NaCl) 3424, 2974, 2855, 1718, 1 688, 1606, 1427, 1362, 1276 cm⁻¹;

¹H NMR (CDCl₃) δ 1,44 (s, 1H), 2,31 (t, J = 5,5 Hz, 2H), 2,42 (t, J = 5,5 Hz, 2H), 3,37 (t, J = 5,5 Hz, 2H), 3,48 (t, J = 5,5 Hz, 2H), 3,87(s, 3H), 6,33 (s, 1H), 7,20 (d J = 6,7 Hz, 2H), 7,94 (d, J, = 6,7 Hz, 2H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 28,3, 29,2, 36,19, 51,9, 123,7, 127,8, 128,7, 129,4, 140,5, 142,1, 154,6, 166,8.

(iii) Príprava *tert*-butylesteru kyseliny 4-bróm-4-[bróm-(4-metoxycarbonylfenyl)metyl]piperidín-1-karboxylovej (zlúčenina 4)

Do zmesi zlúčeniny 3 (5,2 g, 16 mmol) a K₂CO₃ (1,0 g) v suchom dichlórmetáne (200 ml) sa pridal roztok brómu (2,9 g, 18 mmol) v 30 ml CH₂Cl₂ pri 0 °C. Po 1,5 hod pri laboratórnej teplote sa roztok po odfiltrovaní K₂CO₃ zahustil. Zvyšok sa potom rozpustil v etylacetáte (200 ml), premyl sa vodou (200 ml), 0,5 M HCl (200 ml) a roztokom NaCl (200 ml) a vysušil sa nad MgSO₄. Odstránením rozpúšťadiel sa získal surový produkt,

ktorý sa rekryštalizoval z metanolu, čím sa získala zlúčenina 4 vo forme bielej tuhej látky (6,07 g, 78 %): IČ (NaCl) 3425, 2969, 1725, 1669, 1426, 1365, 1279, 1243 cm^{-1} ;

^1H NMR (CDCl_3) δ 1,28 (s, 9H), 1,75 (m, 2H), 1,90 (m, 2H), 2,1 (m, 4H), 3,08 (br, 4H), 3,90 (s, 3H), 4,08 (br, 4H), 5,14 (s, 1H), 7,57 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H) 7,98 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H);

^{13}C NMR (CDCl_3) δ 28,3, 36,6, 38,3, 40,3, 52,1, 63,2, 72,9, 129,0, 130,3, 130,4, 141,9, 154,4, 166,3.

(iv) Príprava terc-butylesteru kyseliny 4-[bróm-(4-karboxyfenyl)metylén]piperidín-1-karboxylovej (zlúčenina 5)

Roztok zlúčeniny 4 (5,4 g, 11 mmol) v metanole (300 ml) a 2,0 M NaOH (100 ml) sa zahrieval na 40 °C 3 hodiny. Tuhá látka sa oddelila filtráciou a vysušila sa cez noc pod vákuom. Suchá soľ sa rozpustila v 40 % acetonitrile vo vode a upravila sa na pH 2 pomocou koncentrovanej HCl. Požadovaný produkt – zlúčenina 5 (3,8 g, 87 %) sa izolovala ako biely prášok filtráciou: ^1H NMR (CDCl_3) δ 1,45 (s, 9H), 2,22 (dd, $J = 5,5$ Hz, 6,1 Hz, 2H), 2,64 (dd, $J = 5,5$ Hz, 6,1 Hz, 2H), 3,34 (dd, $J = 5,5$ Hz, 6,1 Hz, 2H), 3,54 (dd, $J = 5,5$ Hz, 6,1 Hz, 2H), 7,35 (d, $J = 6,7$ Hz, 2H), 8,08 (d, $J = 6,7$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 28,3, 31,5, 34,2, 44,0, 115,3, 128,7, 129,4, 130,2, 137,7, 145,2, 154,6, 170,3.

(v) Príprava terc-butylesteru kyseliny 4-[bróm-(4-dietylkarbamoylfenyl)metylén]piperidín-1-karboxylovej (zlúčenina 6)

Do roztoku zlúčeniny 5 (1,0 g, 2,5 mmol) v suchom dichlórmetáne (10 ml) pri -20 °C sa pridal izobutylchlórformiát (450 mg, 3,3 mmol). Po 20 min pri -20 °C sa pridal dietylamín (4 ml) a reakčná zmes sa nechala ohriať na laboratórnu teplotu. Po 1,5 h sa rozpúšťadlá odparili a zvyšok sa rozdelil medzi etylacetát a vodu. Organická fáza sa premyla roztokom chloridu sodného a vysušila sa nad MgSO_4 . Odstránením rozpúšťadiel sa získal surový produkt, ktorý sa vyčistil flash chromatografiou, čím sa získala zlúčenina 6 vo forme bielych ihličiek (800 mg, 73 %): IČ (NaCl) 3051, 2975, 1694, 1633, 1416, 1281, 1168, 1115 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3) δ 1,13 (br, 3H), 1,22 (br, 3H), 1,44 (s, 9H), 2,22 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H), 2,62 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H), 3,33 (m, 4H), 3,55 (m, 2H), 7,31 (d, $J = 8,0$ Hz,

2H), 7,36 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 12,71, 14,13, 28,3, 31,5, 34,2, 39,1, 43,2, 79,7, 115,9, 126,3, 129,3, 136,8, 137,1, 140,6, 154,6, 170,5.

(vi) Príprava kyseliny 3-hydroxyľfenylboriteľ

K 3-brómfenolu (8,65 g, 50 mmol) v suchom THF (150 ml) sa pridal hydrid sodný (60 %, 2,4 g, 60 mmol) pri laboratórnej teplote. Po 1 h sa do reakčného roztoku po kvapkách pridal sek-butylítium (1,3 M, 50 ml, 65 mmol) pri -78°C . Reakčná zmes sa potom nechala miešať pri tej istej teplote 30 min a pridal sa trimetylborát (15 ml). Po vystúpení teploty na laboratórnu v priebehu 2 hodín sa reakcia ukončila pridaním vody (50 ml) a extrahovala sa dichlórmetánom (2 x 100 ml). Spojené organické fázy sa vysušili nad MgSO_4 a odparili sa, čím sa získala titulná zlúčenina vo forme bielej tuhej látky (4,0 g, 58 %), ktorá sa použila v reakciách Suzukiho syntézy bez ďalšieho čistenia.

(vii) Príprava N,N-dietyl-4-(3-hydroxyľfenylpiperidin-4-ylidénmetyl)benzamid (zlúčenina 7)

Zmes zlúčeniny 6 (451 mg, 1,0 mmol), kyseliny 3-hydroxyľfenylboriteľ (230 mg, 1,7 mmol), 2 M Na_2CO_3 (2,5 ml) a tetrakis(trifenylfosfín)paládium(0) (20 mg) v toluéne (odpľynený, 5 ml) a etanole (odpľynený, 5 ml) sa refluxovala pri 90°C počas 4 hodín pod N_2 . Reakčná zmes sa potom ochladila na laboratórnu teplotu a extrahovala sa etylacetátom (2 x 100 ml). Spojené organické fázy sa vysušili nad MgSO_4 a odparili sa, čím sa získal surový produkt.

Na vyššie uvedený produkt sa pôsobilo 4,0 M HCl v dioxáne pri 50°C počas 2 h. Po odparení sa zvyšok rozpustil v 1 M HCl (100 ml) a nečistoty sa extrahovali dietyléterom (3 x 100 ml). Vodná fáza sa zalkalizovala pomocou NH_4OH a extrahovala sa dichlórmetánom (3 x 100 ml). Spojené organické fázy sa premyli roztokom NaCl, vysušili sa nad MgSO_4 a odparili sa, čím sa získala titulná zlúčenina 7 (305 mg, 88 %): ^1H -NMR (400 M Hz, CDCl_3) δ 1,12 (3 H, br m, CH_3CH_2-), 1,23 (3 H, br m, CH_3CH_2-), 2,33 (4 H, m, piperidínové CH_2), 2,89 (4 H, m, piperidínové CH_2), 3,29 (3 H, br m, NH & $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N}-$), 3,53 (2 H, br m, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N}-$), 4,71 (1H, s, OH), 6,57 (2 H, m, ArH), 6,65 (1 H, m, ArH), 7,09 (1 H, m, ArH), 7,12 (2 H, d, $J = 8,0$ Hz, ArH), 7,28 (2 H, d, $J = 8,0$ Hz, ArH); Jej HCl sol': t. t. $> 130^\circ\text{C}$ (rozkl.); IČ (NaCl) 2975, 1598, 1442, 1293 cm^{-1} .

Príklad 2

Príprava N,N-dietyl-4-(3-hydroxyľfenyl-N-benzylpiperidin-4-ylidénmetyl)benzamidu (zlúčenina 9)

(i) Príprava N,N-dietyl-4-(bróm-N-benzylpiperidin-4-ylidénmetyl)benzamidu (zlúčenina 8)

K zlúčenine 6 pripravená vo vyššie uvedenom príklade 1 (v) (2,26 g, 5,0 mmol) sa pridal TFA (25 ml) v dichlórmétáne (25 ml) pri laboratórnej teplote. Po 2 h sa reakčná zmes zahustila na zvyšok, ktorý sa rozpustil v acetonitrile (20 ml) a nechal sa reagovať s benzylbromidom (5,0 mmol) pri laboratórnej teplote počas 2 h. Reakčná zmes sa zahustila a rozpustila sa v etylacetáte (100 ml). Organický roztok sa premyl 1 N roztokom NH_4OH a chloridu sodného a vysušil sa nad MgSO_4 . Odstránením rozpúšťadiel sa získal surový produkt, ktorý sa vyčistil flash chromatografiou, čím sa získala zlúčenina 8 vo forme oleja (1,0 g, 45 %): IR (NaCl) 2971, 1630, 1427, 1287, 1094 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3) δ 1,13 (br, 3H), 1,23 (br, 3H), 2,28 (m, 2H), 2,37 (m, 2H), 2,55 (m, 2H), 2,69 (m, 2H), 3,27 (m, 2H), 3,53 (br, 4H), 7,31 (m, 4H).

(ii) Príprava N,N-dietyl-4-(3-hydroxyľfenyl-N-benzylpiperidin-4-ylidénmetyl)benzamidu (zlúčenina 9)

Zmes zlúčeniny 8 pripravenej vo vyššie uvedenom kroku (i) (600 mg, 1,36 mmol), kyseliny 3-hydroxyľfenylboritej (414 mg, 3,0 mmol), 2 M Na_2CO_3 (3,0 ml) a tetrakis(trifenylfosfín)paládia(0) (20 mg) v toluéne (odplynenný, 5 ml) a etanole (odplynenný, 5 ml) sa refluxovala pri 90 °C počas 2 hodín pod N_2 . Reakčná zmes sa potom ochladila na laboratórnu teplotu a extrahovala sa etylacetátom (2 x 100 ml). Spojené organické fázy sa premyli roztokom chloridu sodného a vysušili sa nad MgSO_4 . Odstránením rozpúšťadiel sa získal surový produkt, ktorý sa vyčistil flash chromatografiou, čím sa získala požadovaná titulná zlúčenina 9 (482 mg, 78 %): IČ (NaCl) 3350, 2974, 1606, 1442, 1291 cm^{-1} ; ^1H -NMR (400 M Hz, CDCl_3) δ 1,11 (3 H, br m, CH_3CH_2 -), 1,24 (3 H, br m, CH_3CH_2 -), 2,36 (4 H, m, piperidínové CH -), 2,46 (4 H, m, piperidínové CH -), 3,26 (2 H, br m, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N}$ -), 3,53 (4 H, br m, FCH_2N & $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N}$ -), 6,53 (1 H, m, ArH), 6,57 (1 H, m, ArH), 6,63 (1 H, m, ArH), 7,07 (3 H, m, ArH), 7,25 (7 H, m, ArH).

Príklady 3 – 11

Zlúčeniny 10 – 18 z príkladov 3 – 11 sa pripravili podľa syntetických postupov nižšie uvedenej schémy 2.

Schéma 2: 1 (3)

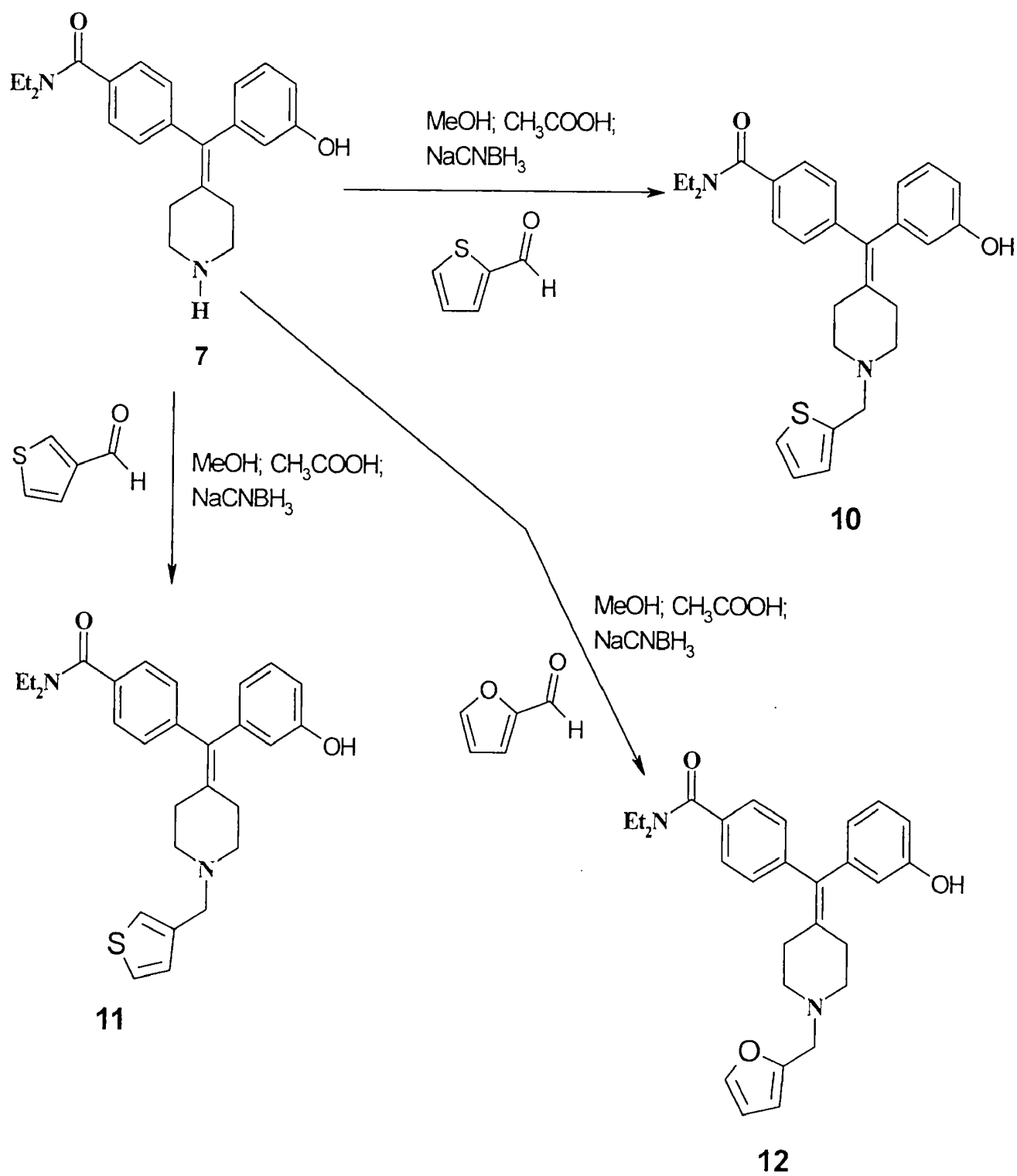


Schéma 2: 2 (3)

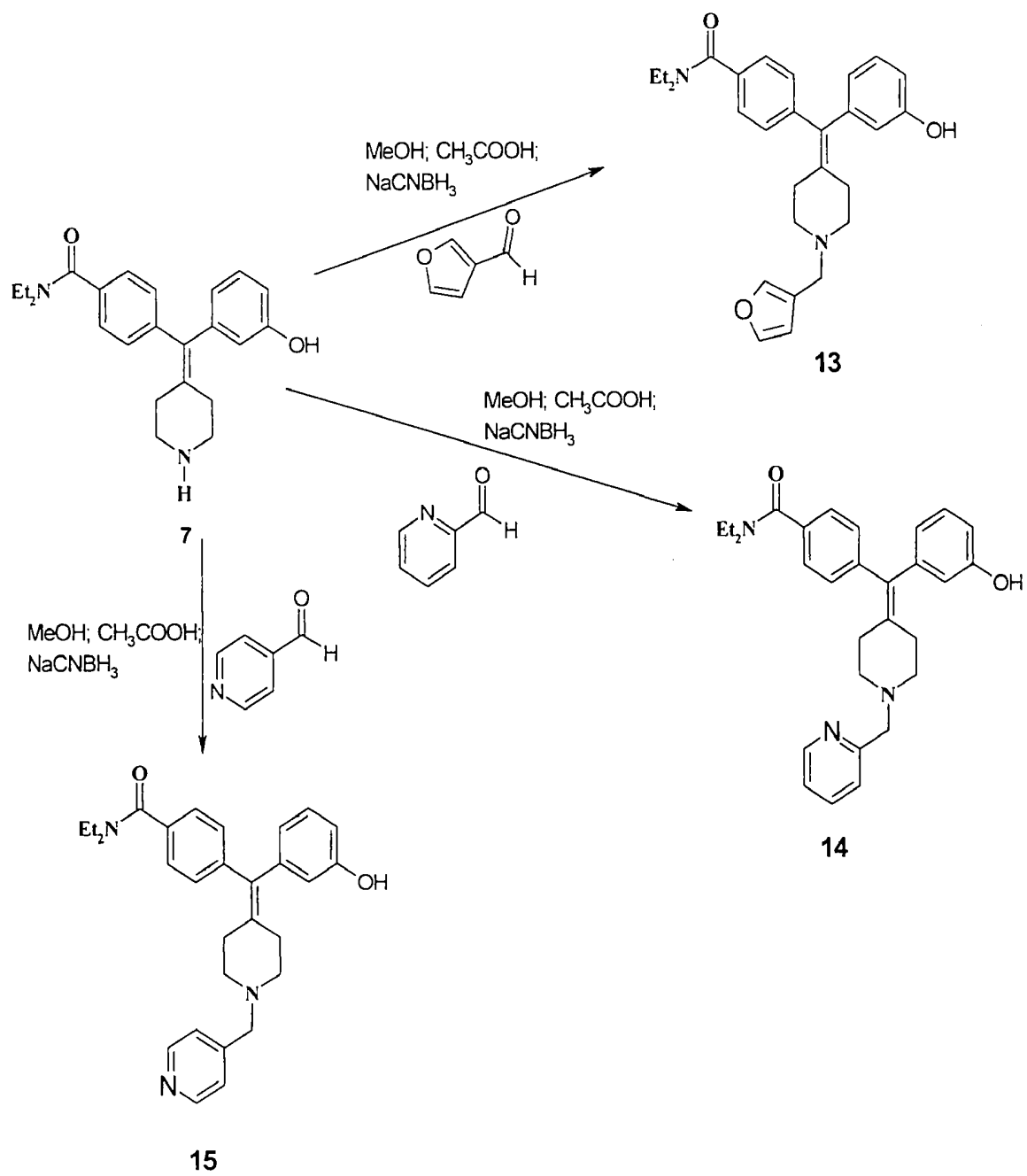
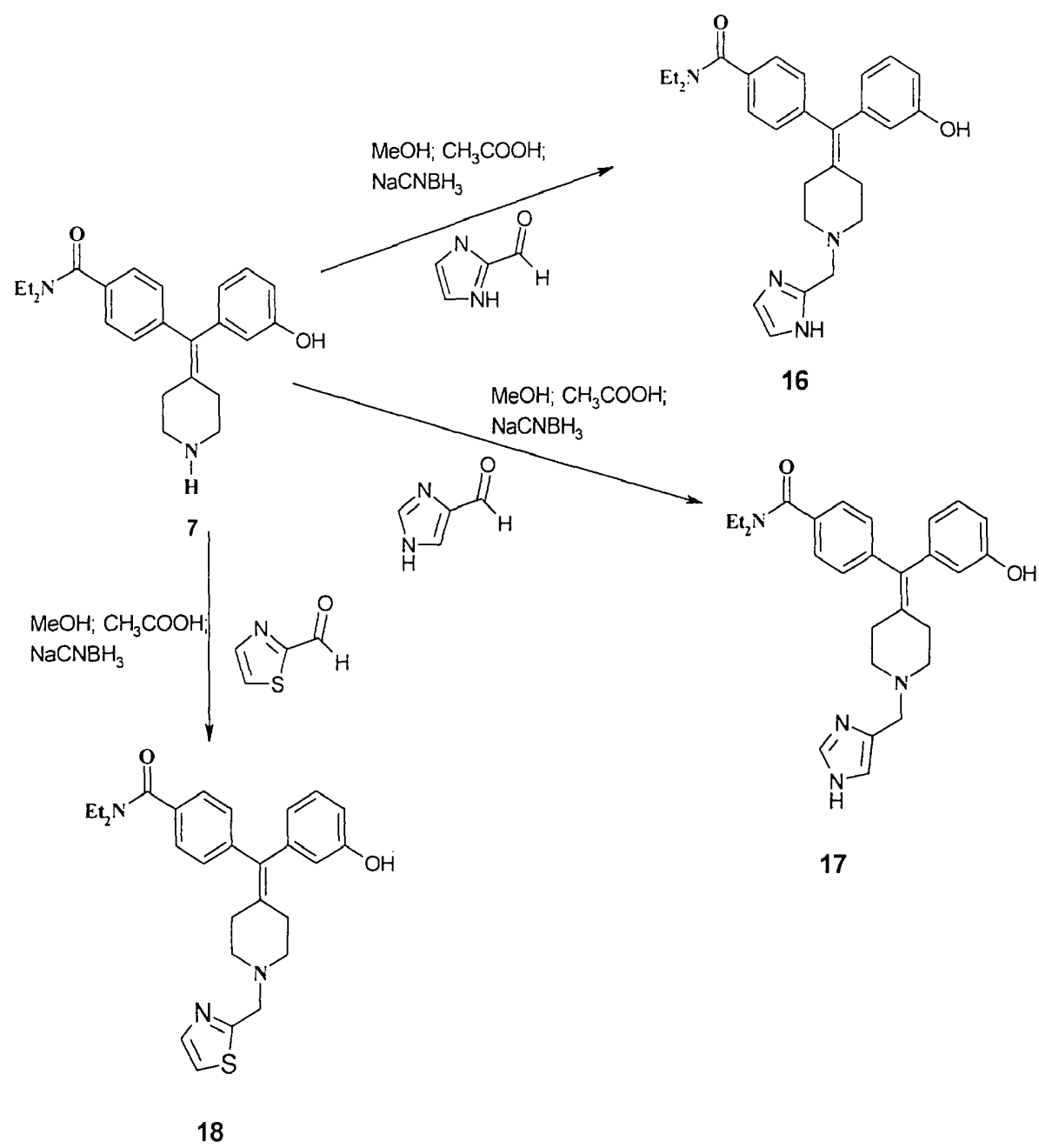


Schéma 2: 3 (3)



Príklad 3

Príprava *N,N*-dietyl-4-[(3-hydroxyfenyl)[1-(2-tienylmetyl)-4-piperidinylidén]metyl]benzamidú (zlúčenina 10)

Do roztoku sekundárneho amínu (600 mg; 1,65 mmol) v metanole (15 ml) pri laboratórnej teplote sa pridal tiofén-2-karboxaldehyd (153,8 μ l; 1,65 mmol) a po ňom kyselina octová (1 ml). Zmes sa miešala dve hodiny a pridal sa kyanobórhydrid sodný (311 mg; 4,95 mmol). Reakčná zmes sa miešala cez noc, pridala sa voda a zmes sa extrahovala dichlórmetánom. Spojené dichlórmetánové extrakty sa vysušili nad bezvodým síranom sodným, prefiltrovali a nakoncentrovali za zníženého tlaku. Vyčistenie na reverznej fáze.

(M+1) vypočítané: 461,64, (M+1) pozorované: 461,06

Anal.: vypočítané pre ($C_{28}H_{32}N_2O_2S \times 1,60 C_2HO_2F_3 \times 0,20 H_2O$): C: 57,95 %; H: 5,30 %; N: 4,33 %; nájdené: C: 57,90 %; H: 5,34 %; N: 4,36 %

1H NMR (CD_3OD): 7,54 (dd, 1H, $J = 5,2, 1,6$ Hz), 7,25 (d, 2H, $J = 8$ Hz), 7,23-7,24 (m, 1H), 7,15 (d, 2H, $J = 8$ Hz), 7,03-7,08 (m, 2H), 6,58-6,62 (dd, 1H, $J = 8,0, 2,8$ Hz), 6,52-6,55 (dd, 1H, $J = 7,6, 1,6$ Hz), 6,44-6,46 (dd, 1H, $J = 2,8, 1,6$ Hz), 4,50 (s, 2H), 3,40-3,50 (m, 4H), 3,15-3,25 (m, 2H), 2,95-3,05 (m, 2H), 2,60-2,80 (m, 2H), 2,35-2,45 (m, 2H), 1,10-1,15 (m, 3H), 1,00-1,05 (m, 3H)

Príklad 4

Príprava *N,N*-dietyl-4-[(3-hydroxyfenyl)[1-(3-tienylmetyl)-4-piperidinylidén]metyl]benzamidú (zlúčenina 11)

Do roztoku sekundárneho amínu (500 mg; 1,37 mmol) v metanole (13 ml) pri laboratórnej teplote sa pridal tiofén-3-karboxaldehyd (144,0 μ l; 1,65 mmol) a po ňom kyselina octová (1 ml). Zmes sa miešala tri hodiny a pridal sa kyanobórhydrid sodný (258 mg; 4,11 mmol). Reakčná zmes sa miešala cez noc, pridala sa voda a zmes sa extrahovala dichlórmetánom. Vodná fáza sa neutralizovala hydrogenuhlčitanom

draselným a znova sa extrahovala dichlórmetánom. Spojené dichlórmetánové extrakty sa vysušili nad bezvodým síranom sodným, prefiltrovali a nakoncentrovali za zníženého tlaku. Vyčistenie na reverznej fáze.

(M+1) vypočítané: 461,64, (M+1) pozorované: 461,07

Anal.: vypočítané pre ($C_{28}H_{32}N_2O_2S \times 1,10 C_2HO_2F_3 \times 0,50 H_2O$): C: 60,96 %; H: 5,78 %; N: 4,71 %; nájdené: C: 60,97 %; H: 5,78 %; N: 4,65 %

1H NMR (CD_3OD): 7,59 (dd, 1H, J = 3,2, 1,6 Hz), 7,49 (dd, 1H, J = 5,2, 3,2 Hz), 7,26(d, 2H, J = 8,0 Hz), 7,16 (d, 2H, J = 8,0 Hz), 7,15 (m, 1H), 7,07 (dd, 1H, J = 8,0, 7,2 Hz), 6,61 (dd, 1H, J = 8,0, 2,0 Hz), 6,55 (d, 1H, J = 7,2 Hz), 6,47 (dd, 1H, J = 2,0, 1,6 Hz), 4,29 (s, 2H), 3,40-3,50 (m, 4H), 3,15-3,25 (m, 2H), 2,95-3,05 (m, 2H), 2,60-2,80 (m, 2H), 2,35-2,45 (m, 2H), 1,15-1,20 (t, 3H, J = 6,4 Hz), 1,00-1,05 (t, 3H, J = 6,4 Hz)

Príklad 5

Príprava *N,N*-dietyl-4-[[1-(2-furylmetyl)-4-piperidinylen](3-hydroxyfenyl)metyl]benzamidú (zlúčenina 12)

Do roztoku sekundárneho aminu (500 mg; 1,37 mmol) v metanole (13 ml) pri laboratórnej teplote sa pridal 2-furaldehyd (136,0 μ l; 1,65 mmol) a po ňom kyselina octová (1 ml). Zmes sa miešala tri hodiny a pridal sa kyanobórhydrid sodný (258 mg; 4,11 mmol). Reakčná zmes sa miešala cez noc, pridala sa voda a zmes sa extrahovala dichlórmetánom. Vodná fáza sa neutralizovala hydrogenuhličitanom draselným a znova sa extrahovala dichlórmetánom. Spojené dichlórmetánové extrakty sa vysušili nad bezvodým síranom sodným, prefiltrovali a nakoncentrovali za zníženého tlaku. Vyčistenie na reverznej fáze.

(M+1) vypočítané: 445,57, (M+1) pozorované: 445,13

Anal.: vypočítané pre ($C_{28}H_{32}N_2O_3 \times 1,30 C_2HO_2F_3 \times 0,10 H_2O$): C: 61,81 %; H: 5,68 %; N: 4,71 %; nájdené: C: 61,88 %; H: 5,74 %; N: 4,73 %

1H NMR (CD_3OD): 7,58 (d, 1H, J = 1,6 Hz), 7,26 (d, 2H, J = 8,0 Hz), 7,16 (d, 2H, J = 8,0 Hz), 7,07 (t, 1H, J = 8,0 Hz), 6,62-6,64 (m, 1H), 6,60-6,61 (m, 1H), 6,53-6,55 (m, 1H),

6,46-6,47 (m, 1H), 6,43-6,45 (m, 1H), 4,34 (s, 2H), 3,40-3,50 (m, 4H), 3,15-3,25 (m, 2H), 2,95-3,05 (m, 2H), 2,55-2,80 (m, 2H), 2,35-2,50 (m, 2H), 1,15-1,20 (t, 3H, $J = 6,4$ Hz), 1,00-1,05 (t, 3H, $J = 6,4$ Hz)

Príklad 6

Príprava *N,N*-dietyl-4-[[1-(3-furylmetyl)-4-piperidinylen](3-hydroxyfenyl)metyl]benzamidú (zlúčenina 13)

Do roztoku sekundárneho amínu (300 mg; 0,82 mmol) v metanole (8 ml) pri laboratórnej teplote sa pridal 3-furaldehyd (214,0 μ l; 2,47 mmol) a po ňom kyselina octová (0,5 ml) a kyanobórhydrid (155 mg; 2,47 mmol). Reakčná zmes sa miešala cez noc, neutralizovala sa hydrogenuhlčitanom sodným a extrahovala sa dichlórmetánom. Spojené dichlórmetánové extrakty sa vysušili nad bezvodým síranom sodným, prefiltrovali a nakoncentrovali za zníženého tlaku. Vyčistenie na reverznej fáze.

($M+1$) vypočítané: 445,57, ($M+1$) pozorované: 445,15

Anal.: vypočítané pre ($C_{28}H_{32}N_2O_3 \times 0,50 C_2HO_2F_3 \times 0,10 H_2O$): C: 69,20 %; H: 6,55 %; N: 5,56 %; nájdené: C: 69,14 %; H: 6,57 %; N: 5,28 %

1H NMR (CD_3OD): 7,75 (s, 1H), 7,61-7,62 (m, 1H), 7,33 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 7,23 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 7,13 (dd, 1H, $J = 8,4, 8,0$ Hz), 6,66-6,69 (m, 1H), 6,57-6,63 (m, 2H), 6,51-6,53 (m, 1H), 4,22 (s, 2H), 3,45-3,55 (m, 4H), 3,25-3,30 (m, 2H), 2,95-3,10 (m, 2H), 2,65-2,85 (m, 2H), 2,40-2,55 (m, 2H), 1,15-1,25 (m, 3H), 1,05-1,15 (m, 3H)

Príklad 7

Príprava *N,N*-dietyl-4-[(3-hydroxyfenyl)[1-(2-pyridinylmetyl)-4-piperidinylen]metyl]benzamidú (zlúčenina 14)

Do roztoku sekundárneho amínu (384,3 mg; 1,05 mmol) v metanole (10 ml) pri laboratórnej teplote sa pridal 2-pyridínkarboxaldehyd (201,0 μ l; 2,11 mmol) a po ňom kyselina octová (1 ml). Zmes sa miešala 30 minút a pridal sa kyanobórhydrid sodný (199 mg; 3,16 mmol). Reakčná zmes sa miešala cez noc, pridala sa voda a zmes sa extrahovala dichlórmetánom. Vodná fáza sa neutralizovala hydrogenuhlčitanom sodným

a znova sa extrahovala dichlórmetánom. Spojené dichlórmetánové extrakty sa vysušili nad bezvodým síranom sodným, prefiltrovali a nakoncentrovali za zníženého tlaku. Vyčistenie na reverznej fáze.

(M+1) vypočítané: 456,60, (M+1) pozorované: 456,12

Anal.: vypočítané pre ($C_{29}H_{33}N_3O_2 \times 1,70 C_2HO_2F_3 \times 0,40 H_2O$): C: 59,26 %; H: 5,45 %; N: 6,40 %; nájdené: C: 59,21 %; H: 5,46 %; N: 6,35 %

1H NMR (CD_3OD): 8,57 (d, 1H, $J = 5,2$ Hz), 7,78 (dt, 1H, $J = 8,0, 1,2$ Hz), 7,38 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,34 (dd, 1H, $J = 8,0, 5,2$ Hz), 7,24 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 7,15 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 7,05 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 6,59 (dd, 1H, $J = 8,0, 2,4$ Hz), 6,54 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 6,45 (dd, 1H, $J = 2,4, 1,2$ Hz), 4,39 (s, 2H), 3,40-3,46 (m, 2H), 3,26-3,34 (m, 4H), 3,16-3,22 (m, 2H), 2,54-2,64 (m, 4H), 1,13 (t, 3H, $J = 6,4$ Hz), 1,01 (t, 3H, $J = 6,4$ Hz)

Příklad 8

Príprava *N,N*-dietyl-4-{{(3-hydroxyfenyl)[1-(4-pyridinylmetyl)-4-piperidinylidén]metyl}benzamidu (zlučénina 15)

Do roztoku sekundárneho amínu (300 mg; 0,82 mmol) v metanole (8 ml) pri laboratórnej teplote sa pridal 4-pyridínkarboxaldehyd (236 μ l; 2,47 mmol) a po ňom kyselina octová (0,5 ml). Zmes sa miešala 30 minút a pridal sa kyanobórhydrid sodný (155 mg; 2,47 mmol). Reakčná zmes sa miešala cez noc, neutralizovala sa hydrogenuhlíčanom sodným a extrahovala sa dichlórmetánom. Spojené dichlórmetánové extrakty sa vysušili nad bezvodým síranom sodným, prefiltrovali a nakoncentrovali za zníženého tlaku. Vyčistenie na reverznej fáze.

(M+1) vypočítané: 456,60, (M+1) pozorované: 456,10

Anal.: vypočítané pre ($C_{29}H_{33}N_3O_2 \times 1,80 C_2HO_2F_3 \times 0,40 H_2O$): C: 58,61 %; H: 5,37 %; N: 6,29 %; nájdené: C: 58,64 %; H: 5,32 %; N: 6,46 %

1H NMR (CD_3OD): 8,64 (s, 2H), 7,61 (d, 2H, $J = 5,2$ Hz), 7,25 (2H, $J = 8,0$ Hz), 7,14 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 7,05 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 6,59 (dd, 1H, $J = 8,0, 1,6$ Hz), 6,53 (d, 1H, $J =$

8,0 Hz), 6,43-6,46 (m, 1H), 4,34 (s, 2H), 3,42-3,44 (m, 2H), 3,18-3,24 (m, 6H), 2,54-2,57 (m, 4H), 1,13 (t, 3H, $J = 6,4$ Hz), 1,02 (t, 3H, $J = 6,4$ Hz)

Príklad 9

Príprava *N,N*-dietyl-4-((3-hydroxyfenyl)[1-(1*H*-imidazol-2-ylmetyl)-4-piperidinyldén]metyl}benzamidu (zlúčenina 16)

Do roztoku sekundárneho amínu (300 mg; 0,82 mmol) v metanole (8 ml) pri laboratórnej teplote sa pridal 2-imidazolkarboxaldehyd (237,3 mg; 2,47 mmol) a po ňom kyselina octová (0,5 ml) a kyanobórhydrid (155 mg; 2,47 mmol). Reakčná zmes sa miešala cez noc, neutralizovala sa hydrogenuhličitanom sodným a extrahovala sa dichlórmetánom. Spojené dichlórmetánové extrakty sa vysušili nad bezvodým síranom sodným, prefiltrovali a nakoncentrovali za zníženého tlaku. Vyčistenie na reverznej fáze.

($M+1$) vypočítané: 445,58, ($M+1$) pozorované: 445,16

Anal.: vypočítané pre ($C_{27}H_{32}N_4O_2 \times 2,10 C_2H_2O_2F_3 \times 0,50 H_2O$): C: 54,07 %; H: 5,11 %; N: 8,08 %; nájdené: C: 54,04 %; H: 5,05 %; N: 8,09 %

1H NMR (CD_3OD): 7,38 (s, 2H), 7,20-7,22 (m, 2H), 7,11 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 7,0 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 6,55 (dd, 1H, $J = 8,0, 3,6$ Hz), 6,49-6,50 (m, 1H), 6,42-6,43 (m, 1H), 4,08 (s, 2H), 3,41-3,43 (m, 2H), 3,18-3,20 (m, 3H), 2,79-2,82 (m, 4H), 2,39-2,45 (m, 4H), 1,08-1,16 (m, 3H), 0,96-1,16 (m, 3H)

Príklad 10

Príprava *N,N*-dietyl-4-((3-hydroxyfenyl)[1-(1*H*-imidazol-4-ylmetyl)-4-piperidinyldén]metyl}benzamidu (zlúčenina 17)

Do roztoku sekundárneho amínu (300 mg; 0,82 mmol) v metanole (10 ml) pri laboratórnej teplote sa pridal 4(5)-imidazolkarboxaldehyd (94,9 mg; 0,99 mmol) a po ňom kyselina octová (0,5 ml). Zmes sa miešala 1 hodinu a pridal sa kyanobórhydrid sodný (62,1 mg; 0,99 mmol). Reakčná zmes sa miešala cez noc, neutralizovala sa hydrogenuhličitanom sodným a extrahovala sa dichlórmetánom. Spojené dichlórmetánové

extrakty sa vysušili nad bezvodým síranom sodným, prefiltrovali a nakoncentrovali za zníženého tlaku. Vyčistenie na reverznej fáze.

(M+1) vypočítané: 445,58, (M+1) pozorované: 445,16

Anal.: vypočítané pre ($C_{27}H_{32}N_4O_2 \times 2,20 C_2HO_2F_3$): C: 54,23 %; H: 4,96 %; N: 8,06 %; nájdené: C: 54,43 %; H: 4,99 %; N: 7,73 %

1H NMR (CD_3OD): 8,54 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,23 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz), 7,13 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 7,03 (dd, 1H, $J = 8,0, 7,6$ Hz), 6,57-6,59 (m, 1H), 6,51-6,53 (m, 1H), 6,43-6,44 (m, 1H), 4,35 (s, 2H), 3,41-3,43 (m, 2H), 3,18-3,23 (m, 8H), 2,53-2,56 (m, 4H), 1,08-1,16 (m, 3H), 0,96-1,04 (m, 3H)

Príklad 11

Príprava *N,N*-dietyl-4-((3-hydroxyfenyl)[1-(1,3-tiazol-2-ylmetyl)-4-piperidinyldén]metyl)benzamid (zlúčenina 18)

Do roztoku sekundárneho amínu (143,2 mg; 0,39 mmol) v metanole (4ml) pri laboratórnej teplote sa pridal 2-tiazolkarboxaldehyd (41,4 μ l; 0,47 mmol) a po ňom kyselina octová (0,2 ml). Zmes sa miešala 1 hodinu a pridal sa kyanobórhydrid sodný (129,6 mg; 1,48 mmol). Reakčná zmes sa miešala cez noc, neutralizovala sa hydrogenuhličitanom sodným a extrahovala sa dichlórmetánom. Spojené dichlórmetánové extrakty sa vysušili nad bezvodým síranom sodným, prefiltrovali a nakoncentrovali za zníženého tlaku. Vyčistenie na reverznej fáze.

(M+1) vypočítané: 462,63, (M+1) pozorované: 462,10

Anal.: vypočítané pre ($C_{27}H_{31}N_3O_2S \times 1,10 C_2HO_2F_3 \times 1,10 H_2O$): C: 57,79 %; H: 5,70 %; N: 6,92 %; nájdené: C: 57,75 %; H: 5,60 %; N: 7,13 %

1H NMR (CD_3OD): 7,86 (d, 1H, $J = 4,0$ Hz), 7,68 (d, 1H, $J = 4,0$ Hz), 7,26 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 7,16 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 7,07 (dd, 1H, $J = 8,4, 8,0$ Hz), 6,60-6,62 (m, 1H), 6,54-6,56 (m, 1H), 6,46-6,47 (m, 1H), 4,65 (s, 2H), 3,21-3,45 (m, 8H), 2,56-2,58 (m, 4H), 1,12-1,20 (m, 3H), 1,00-1,08 (m, 3H)

Farmaceutické kompozície

Nové zlúčeniny podľa predloženého vynálezu možno podávať orálne, intramuskulárne, subkutánne, lokálne, intranazálne, intraperitoneálne, intratorakálne, intravenózne, epidurálne, intratekálne, intracerebroventrikulárne a injekciou do kĺbov.

Výhodnou cestou podania je orálne, intravenózne alebo intramuskulárne podanie.

Dávka bude závisieť od cesty podania, závažnosti choroby, veku a váhy pacienta a ďalších faktorov bežne zvažovaných ošetrojúcim lekárom pri určovaní individuálneho režimu a úrovne dávkovania ako najvhodnejšej pre konkrétneho pacienta.

Na prípravu farmaceutických kompozícií zo zlúčenín podľa tohto vynálezu môžu byť inertné farmaceuticky prijateľné nosiče buď tuhé alebo kvapalné. Medzi prípravky v tuhej forme patria prášky, tablety, dispergovateľné granuly, kapsuly, obličky a supozitória.

Tuhým nosičom môže byť jedna alebo viacero látok, ktoré môžu pôsobiť aj ako riedidlá, príchute, solubilizátory, mazadlá, suspenďačné prostriedky, spojivá alebo tabletové dezintegrátory; môže to byť aj puzdrový materiál.

V práškoch je nosičom jemne rozomletá tuhá látka, ktorá je v zmesi s jemne rozomletou aktívnou zložkou. V tabletách je aktívna zložka zmiešaná s nosičom majúcim potrebné väzobné vlastnosti vo vhodných pomeroch a zlisovaná do požadovaného tvaru a veľkosti.

Pri príprave kompozícií supozitórií sa nízko topiaci vosk, napríklad zmes glyceridov mastných kyselín a kakaového masla, najprv roztopí a aktívna zložka sa v ňom disperguje napríklad miešaním. Roztavená homogénna zmes sa potom naleje do foriem vhodnej veľkosti a nechá sa vychladnúť a stuhnúť.

Vhodnými nosičmi sú uhličitan horečnatý, stearan horečnatý, mastenec, laktóza, cukor, pektín, dextrín, škrob, tragant, metylcelulóza, natrium karboxymetylcelulóza, nízko topiaci vosk, kakaové maslo a podobne.

Medzi soli patria okrem iných aj farmaceuticky prijateľné soli. Medzi príklady farmaceuticky prijateľných solí v rámci rozsahu predloženého vynálezu patria: acetát, benzénsulfonát, benzoát, bikarbonát, bitartrát, bromid, kalcium acetát, kamzylát, karbonát, chlorid, citrát, dihydrochlorid, edetát, edisylát, estolát, esylát, fumarát, glukaptát, glukonát, glutamát, glykolylarzanilát, hexylrezorcinát, hydrabamín, hydrobromid, hydrochlorid, hydroxynaftoát, isetionát, laktát, laktobionát, malát, maleát, mandelát, mezlát, metylbromid, metylnitrát, metylsulfát, mukát, napsylát, nitrát, pamoát (embonát), pantotenát, fosfát/difosfát, polygalakturonát, salicylát, stearát, subacetát, sukcinát, sulfát, tanát, tartrát, teoklát, trietjodid, benzatín, chlórprokaín, cholin, dietanolamín, etyléndiamín, meglumín, prokaín, soli alumínia, kalcia, lítia, magnézia, draslíka a zinku.

Medzi príklady farmaceuticky neprijateľných solí v rámci rozsahu predloženého vynálezu patria: hydrojodid, perchlorát a tetrafluórborát.

Výhodné farmaceuticky prijateľné soli sú hydrochloridy, sírany a bitartráty.

Hydrochloridové a síranové soli sú osobitne výhodné.

Pojem kompozícia zahŕňa prípravok aktívnej zložky s puzdrovým materiálom ako nosičom dávajúcim kapsľu, v ktorej je aktívna zložka (s ďalšími nosičmi alebo bez nich) obalená nosičom, ktorý je takto v spojení s ňou. Podobne sú zahrnuté aj obľátky.

Tablety, prášky, obľátky a kapsuly možno použiť ako tuhé liekové formy vhodné na orálne podanie.

Medzi kvapalné kompozície patria roztoky, suspenzie a emulzie. Ako príklady vodných prípravkov vhodných na parenterálne podanie možno spomenúť roztoky aktívnej zlúčeniny v sterilnej vode alebo vodno-propylénglykolové roztoky. Kvapalné kompozície možno formulovať aj v roztoku vo vodno-polyetylénglykolovom roztoku.

Vodné roztoky na orálne podanie možno pripraviť rozpustením aktívnej zložky vo vode a pridaním vhodných farbív, príchuť, stabilizátorov a zahusťovadiel podľa potreby. Vodné suspenzie na orálne použitie možno pripraviť dispergovaním jemne rozomletej aktívnej zložky vo vode spolu s viskóznym materiálom, napríklad prírodnými syntetickými

gumami, živicami, metylcelulózou, nátrium karboxymetylcelulózou a ďalšími suspenďačnými prostriedkami známymi v oblasti farmaceutických formulácií.

Farmaceutická kompozícia je s výhodou v jednotkovej liekovej forme. V takej forme je kompozícia rozdelená na jednotkové dávky obsahujúce vhodné množstvá aktívnej zložky. Jednotkovou liekovou formou môže byť balený prípravok, pričom balenie obsahuje diskkrétne množstvá prípravku, napríklad balené tablety, kapsuly a prášky v liekovkách alebo ampulkách. Jednotkovou liekovou formou môže byť aj kapsula, obľátka alebo tableta samotná, alebo to môže byť vhodné množstvo ktorýchkoľvek z týchto balených foriem.

Biologické hodnotenie

In vitro model

Bunková kultúra

A. Ľudské bunky 293S exprimujúce klonované ľudské receptory μ , δ a κ a neomycínovú rezistenciu sa kultivovali v suspenzii pri 37 °C a 5 % CO₂ v trepačkových bankách obsahujúcich bezkalciový DMEM 10 % FBS, 5 % BCS, 0,1 % Pluronic F-68 a 600 μ g/ml geneticínu.

B. Myšacie a potkanie mozgy sa odvážili a prepláchli v ľadovo studenom PBS (obsahujúcom 2,5 mM EDTA, pH 7,4). Mozgy sa homogenizovali polytrónom 15 s (myš) alebo 30 s (potkan) v ľadovo studenom lýznom tlmivom roztoku (50 mM Tris, pH 7,0, 2,5 mM EDTA, s fenylmetylsulfonyl fluoridom pridaným bezprostredne pred použitím do 0,5 mM z 0,5 M zásobného roztoku v DMSO:etanol).

Príprava membrány

Bunky sa granulovali a resuspendovali v lýznom tlmivom roztoku (50 mM Tris, pH 7,0, 2,5 mM EDTA s prídavkom PMSF bezprostredne pred použitím na 0,1 mM z 0,1 M zásobného roztoku v etanole), inkubovali sa na ľade 15 min a potom sa homogenizovali polytrónom počas 30 s. Suspenzia sa centrifugovala pri 1000 g (max) počas 10 min pri 4 °C. Supernatant sa odložil na ľad a granuly sa resuspendovali a centrifugovali ako predtým. Supernatanty z oboch centrifugovaní sa skombinovali a centrifugovali pri 46 000

g (max) počas 30 min. Granuly sa resuspendovali v studenom tlmivom roztoku Tris (50 mM Tris/Cl, pH 7,0) a centrifugovali sa znova. Konečné granuly sa resuspendovali v membránovom tlmivom roztoku (50 mM Tris, 0,32 M sacharózy, pH 7,0). Alikvóty (1 ml) v polypropylénových skúmavkách sa zmrazili v suchom ľade s etanolom a uložili sa pri -70°C až do použitia. Proteínové koncentrácie sa určili modifikovaným Lowryho testom pomocou SDS.

Skúšky viazania

Membrány sa roztopili pri 37°C , ochladili sa na ľade, pretlačili sa 3 krát cez ihlu veľkosti 25 a zriedili sa do väzobného tlmivého roztoku (50 mM Tris, 3 mM MgCl_2 , 1 mg/ml BSA (Sigma A-7888), pH 7,4, ktorý sa uložil pri 4°C po prefiltrovaní cez 0,22 μm filter a do ktorého sa čerstvo pridal 5 $\mu\text{g/ml}$ aprotinínu, 10 μM bestatínu, 10 μM diprotínu A, žiadny DTT). Alikvóty po 100 μl sa pridali do ľadom chladených 12 x 75 mm polypropylénových skúmaviek obsahujúcich 100 μl príslušného rádioligandu a 100 μl testovanej zlúčeniny pri rôznych koncentráciách. Celkové (TB) a nešpecifické (NS) viazanie bolo určené za neprítomnosti a prítomnosti 10 μM naloxónu. Skúmavky sa vírili a inkubovali pri 25°C počas 60 – 75 min, na čo sa obsah rýchlo odsal a premyl približne 12 ml/skúmavku ľadového premývacieho tlmivého roztoku (50 mM Tris, pH 7,0, 3 mM MgCl_2) cez filtre GF/B (Whatman) namočené najmenej 2 h vopred v 0,1 % polyetylénimíne. Rádioaktivita (dpm) zachytená na filtroch sa zmerala pomocou beta počítača po máčaní filtrov počas aspoň 12 h v miniampulkách obsahujúcich 6 – 7 ml scintilačnej tekutiny. Ak sa test robí v 96-jamkových platničkách s hlbokými jamkami, filtrácia sa robí cez 96-miestne unifiltre namočené v PEI, ktoré sa premyjú 3 x 1 ml premývacieho tlmivého roztoku a vysušia v peci pri 55°C počas 2 h. Filtračné platničky sa spočítali v prístroji TopCount (Packard) po pridaní 50 μl MS-20 scintilačnej tekutiny na jednu jamku.

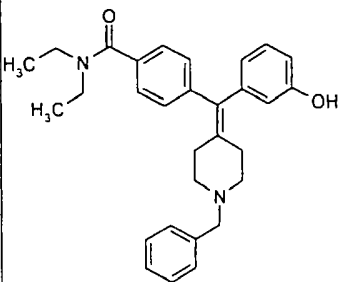
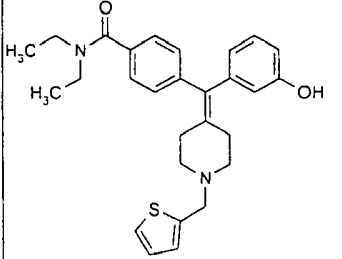
Funkčné testy

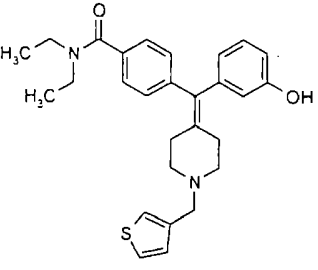
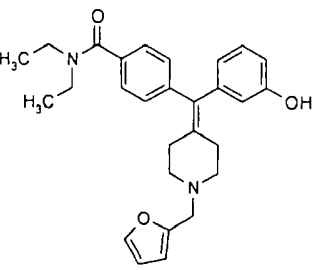
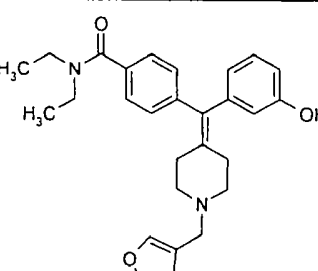
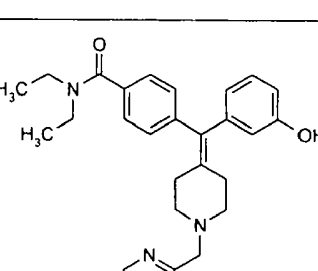
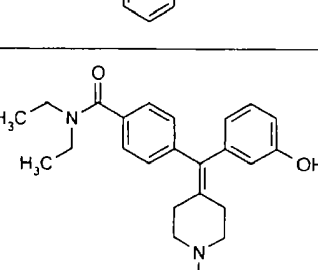
Agonistická aktivita zlúčenín sa meria určovaním stupňa, v ktorom komplex zlúčenín s receptorom aktivuje viazanie GTP na G-proteíny, na ktoré sú receptory naviazané. V teste viazania GTP sa $\text{GTP}[\gamma]^{35}\text{S}$ kombinuje s testovanými zlúčeninami a membránami z buniek HEK-293S exprimujúcich klonované ľudské opiátové receptory

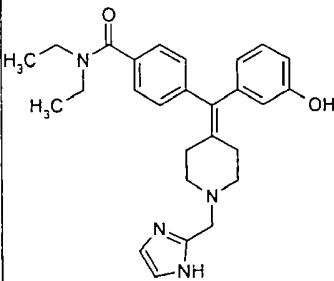
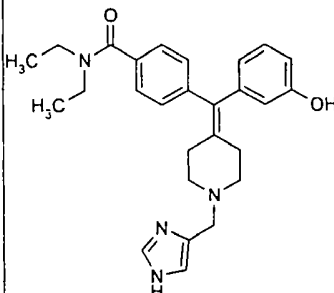
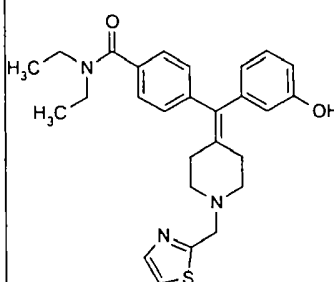
alebo z homogenizovaného potkanieho a myšacieho mozgu. Agonisti stimulujú viazanie $\text{GTP}[\gamma]^{35}\text{S}$ v týchto membránach. Hodnoty EC_{50} a E_{max} zlúčenín sa určujú z kriviek dávka – odozva. Uskutočňujú sa posuny krivky dávka – odozva doprava pomocou delta agonistu naltrindolu, aby sa overilo, či je agonistická aktivita sprostredkovaná cez delta receptory.

Analýza dát

Špecifické viazanie (SB) sa vypočítalo ako TB-NS a SB za prítomnosti rôznych testovaných zlúčenín sa vyjadriť ako percento kontrolného SB. Hodnoty IC_{50} a Hillových koeficientov (n_H) pre ligandy pri vytesňovaní špecificky viazaného rádioligandu sa vypočítali z logaritmických kriviek alebo programov na prekladanie kriviek bodmi ako 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 sa udávajú pre ligandy testované aspoň tromi krivkami vytesňovania. Biologické údaje sú uvedené v tabuľke 1 na nasledujúcich stranách.

Pr.	Molekulová štruktúra	HDelta	HDelta		Potkaní mozog		Myšací mozog	
			EC50	% E Max	EC50	% E Max	EC50	% E Max
2		0,408	0,1	104,09	0,6	112,2	0,79	103,77
3		0,521	0,15	98,18	0,93	167,51	1,52	186,36

Pr.	Molekulová štruktúra	HDelta	HDelta		Potkani mozog		Myšací mozog	
			EC50	% E Max	EC50	% E Max	EC50	% E Max
4		0,366						
5		0,266	0,09	94,78	0,81	132,09	1,07	134,16
6		0,196						
7		0,209	0,07	103,29	0,33	134,88	0,55	137,63
8		0,346	0,3	112,34	3,3	81,44	4,65	78,19

Pr.	Molekulová štruktúra	HDelta	HDelta		Potkaní mozog		Myšací mozog	
			EC50	% E Max	EC50	% E Max	EC50	% E Max
9		0,117	0,27	106,1	0,68	151,01	0,81	135,96
10		0,172	0,48	107,23	4,64	101,93	5,06	103,53
11		0,282	0,34	115,37	2,99	119,82	2,19	117,99

Experimenty nasýtenia receptorov

Hodnoty K_{δ} rádioligandov sa určili uskutočnením testov viazania na bunkových membránach s vhodnými rádioligandmi pri koncentráciách od 0,2 do 5-násobku odhadovanej K_{δ} (až do 10 krát, ak sú potrebné množstvá rádioligandu praktické). Špecifické viazanie rádioligandu sa vyjadrilo v pmol/mg membránového proteínu. Hodnoty K_{δ} a $B_{\max}$ z jednotlivých experimentov sa získali z nelineárnych závislostí špecificky viazaného (B) oproti nM voľného (F) rádioligandu z jednotlivca podľa jednomiestneho modelu.

Určenie mechano-alodýnie pomocou Von Freyovho testu

Test sa uskutočnil medzi 08:00 a 16:00 h použitím metódy, ktorú opísal Chaplan et al. (1994). Potkany sa umiestnili do plexisklových kliebok na dne z drôteného sita, ktoré umožňovalo prístup k labkám, a nechali sa udomáčniť 10 – 15 min. Testovanou oblasťou bol stred chodidla zadnej labky vyhýbajúc sa menej citlivým chodidlovým vankúšikom. Labky sa dotýkalo pomocou série 8 Von Freyových vlasov s logaritmicky narastajúcou tuhosťou (0,41, 0,69, 1,20, 2,04, 3,63, 5,50, 8,51 a 15,14 gramov; Stoelting, III, USA). Von Freyov vlas sa aplikoval odspodu cez podlahu z drôteného sita kolmo na povrch chodidla s dostatočnou silou, aby sa spôsobilo mierne prehnutie oproti labke, a držal sa približne 6 – 8 sekúnd. Pozitívna odozva sa zaznamenala, ak bola labka prudko odtiahnutá. Myknutie okamžite po odstránení vlasu sa tiež považovalo za pozitívnu odozvu. Chôdza sa považovala za nejednoznačnú reakciu a v takých prípadoch sa stimul opakoval.

Protokol testu

Zvieratá sa testovali na pooperačný deň 1 pre skupinu ošetrovanú FCA. Prah 50 % uhýbania sa určil pomocou Dixonovej metódy zdola nahor (1980). Testovanie sa začalo 2,04 g vlasom uprostred série. Stimuly sa vždy prezentovali postupne, či vzostupne alebo zostupne. Za neprítomnosti reakcie odtiahnutia labky na prvotne vybraný vlas sa prezentoval silnejší stimul; v prípade odtiahnutia labky sa zvolil nasledujúci slabší stimul. Výpočet optimálneho prahu touto metódou vyžaduje 6 reakcií v bezprostrednej blízkosti 50 % prahu a počítanie týchto 6 reakcií začalo, keď sa objavila prvá zmena v reakcii, teda keď sa prvýkrát prekročil prah. V prípadoch, kedy prahy spadali mimo intervalu stimulov, priradili sa hodnoty 15,14 (normálna citlivosť) alebo 0,41 (maximálne alodynické). Výsledný vzor pozitívnych a negatívnych reakcií sa vyjadril v tabuľkovej forme pomocou konvencie X = žiadne odtiahnutie; O = odtiahnutie a 50 % prah odťahovania sa interpoloval pomocou vzorca:

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

kde X_f = hodnota posledného použitého von Freyovho vlasu (logaritmické jednotky); k = tabuľková hodnota (z Chaplan et al. (1994)) pre vzor pozitívnych/negatívnych reakcií; a δ = stredný rozdiel medzi stimulmi (logaritmické jednotky). Tu $\delta = 0,224$.

Von Freyove prahy sa skonvertovali na percento maximálneho možného účinku (% MPE) podľa Chaplan et al. 1994. Na výpočet % MPE sa použila nasledujúca rovnica:

$$\% \text{ MPE} = \frac{\text{Prah pod pôsobením liečiva (g)} - \text{prah alodýnie (g)}}{\text{kontrolný prah (g)} - \text{prah alodýnie (g)}} \times 100$$

Podávanie testovanej látky

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

Test zvlývania

Kyselina octová vyvoláva brušné kontrakcie pri intraperitoneálnom podaní myšiam. Tie potom typickým spôsobom vystierajú telo. Keď sa podajú analgetiká, tento opísaný pohyb sa pozoruje menej často a liečivo je potenciálne dobrým kandidátom.

Za kompletný a typický reflex zvlývania sa považuje to, keď sú prítomné nasledujúce prvky: zviera sa nehýbe, dolná časť chrbta je mierne preliačená, sú pozorovateľné dolné plochy chodidiel *oboch* labiek. V tomto teste zlúčeniny podľa predloženého vynálezu vykazujú signifikantnú inhibíciu odoziev zvlývania po orálnom podaní 1 – 100 µmol/kg.

(i) Príprava roztokov

Kyselina octová (AcOH): 120 µl kyseliny octovej sa pridá do 19,88 ml destilovanej vody, aby sa získal konečný objem 20 ml s konečnou koncentráciou 0,6 % AcOH. Roztok sa potom pomieša (virivka) a je pripravený na injekciu.

Zlúčenina (liečivo): Každá zlúčenina sa pripraví a rozpustí v najvhodnejšom vehikule podľa štandardných postupov.

(ii) Podávanie roztokov

Zlúčenina (liečivo) sa podá orálne, intraperitoneálne (i.p.), subkutánne (s.c.) alebo intravenózne (i.v.) pri 10 ml/kg (s prihliadnutím na priemernú telesnú hmotnosť myši) 20, 30 alebo 40 minút (podľa triedy zlúčeniny a jej charakteristík) pred testovaním. Keď sa

zlúčenina podáva centrálne – intraventrikulárne (i.c.v.) alebo intratekálne (i.t.), podá sa objem 5 μ l.

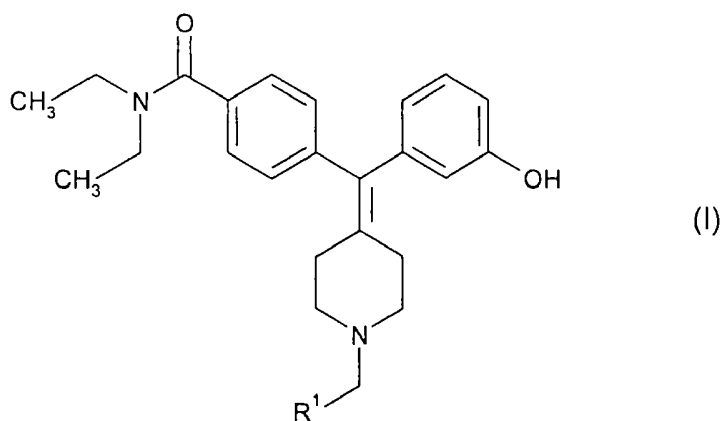
AcOH sa podá intraperitoneálne (i.p.) na dvoch miestach pri 10 ml/kg (s prihliadnutím na priemernú telesnú hmotnosť myši) bezprostredne pred testovaním.

(iii) Testovanie

Zviera (myš) sa pozoruje počas 20 minút a počet výskytov (reflexu zvlývania) sa zaznamená a sumarizuje na konci experimentu. Myši sa držia v individuálnych klietkach typu škatule na topánky s kontaktnou podstielkou. Obyčajne sa súčasne pozorujú 4 myši: jedna kontrolná a tri dávky liečiva.

PATENTOVÉ NÁROKY

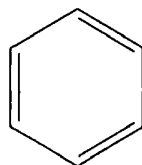
1. Zlúčenina vzorca I



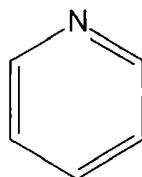
kde

R¹ je vybrané z nasledujúcich:

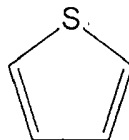
(i) fenyl;



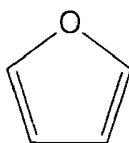
(ii) pyridinyl



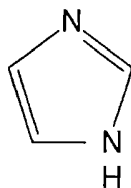
(iii) tienyl



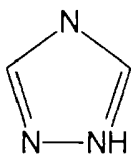
(iv) furanyl



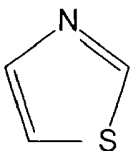
(v) imidazoly



(vi) triazoly



(vii) tiazoly



kde každý fenylový kruh R^1 a heteroaromatický kruh R^1 môže byť nezávisle ďalej substituovaný 1, 2 alebo 3 substituentmi vybranými spomedzi nasledujúcich:

lineárny a rozvetvený C₁-C₆ alkyl, NO₂, CF₃, C₁-C₆ alkoxy, chlór, fluór, bróm, a jód, ako aj ich soli.

2. Zlúčenina podľa nároku 1, kde každý fenylový kruh R¹ a heteroaromatický kruh R¹ môže byť nezávisle ďalej substituovaný 1, 2 alebo 3 substituentmi vybranými spomedzi nasledujúcich: metyl, CF₃, chlór, fluór, bróm, and jód.
3. Zlúčenina podľa nároku 1, kde každý fenylový kruh R¹ a heteroaromatický kruh R¹ môže byť nezávisle ďalej substituovaný metylovou skupinou.
4. Zlúčenina podľa nároku 1, kde R¹ je pyridinyl, tienyl alebo furanyl.
5. Zlúčenina podľa nároku 1, vybraná spomedzi nasledujúcich:

N,N-Dietyl-4-(3-hydroxyfenyl-*N*-benzylpiperidin-4-ylidénmetyl)benzamid;

N,N-dietyl-4-((3-hydroxyfenyl)[1-(2-tienylmetyl)-4-piperidinylidén]metyl}benzamid;

N,N-dietyl-4-((3-hydroxyfenyl)[1-(3-tienylmetyl)-4-piperidinylidén]metyl}benzamid;

N,N-dietyl-4-[[1-(2-furylmetyl)-4-piperidinylidén](3-hydroxyfenyl)metyl]benzamid;

N,N-dietyl-4-[[1-(3-furylmetyl)-4-piperidinylidén](3-hydroxyfenyl)metyl]benzamid;

N,N-dietyl-4-((3-hydroxyfenyl)[1-(2-pyridinylmetyl)-4-piperidinylidén]metyl}benzamid;

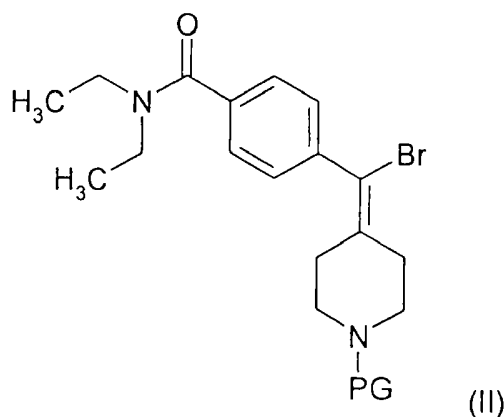
N,N-dietyl-4-((3-hydroxyfenyl)[1-(4-pyridinylmetyl)-4-piperidinylidén]metyl}benzamid;

N,N-dietyl-4-((3-hydroxyfenyl)[1-(1*H*-imidazol-2-ylmetyl)-4-piperidinylidén]metyl}benzamid;

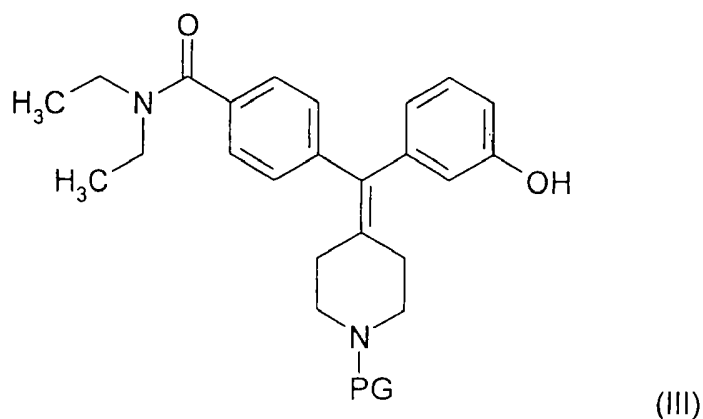
N,N-dietyl-4-((3-hydroxyfenyl)[1-(1*H*-imidazol-4-ylmetyl)-4-piperidinylidén]metyl}benzamid; a

N,N-dietyl-4-((3-hydroxyfenyl)[1-(1,3-tiazol-2-ylmetyl)-4-piperidinylidén]metyl}benzamid.

6. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z predchádzajúcich nárokov vo forme svojho dihydrochloridu, sulfátu, tartrátu, ditrifluóracetátu alebo citrátu.
7. Postup na prípravu zlúčeniny vzorca I, vyznačujúci sa tým, že zahŕňa reakciu zlúčeniny všeobecného vzorca II



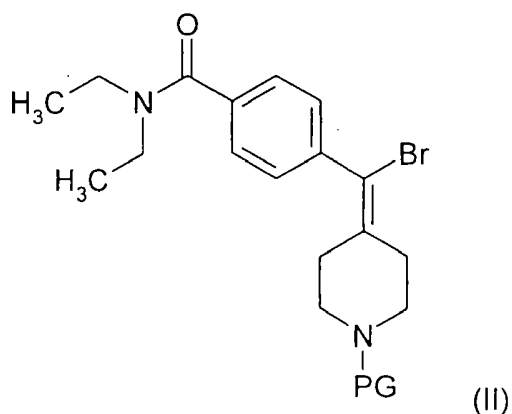
kde PG je uretánová alebo benzylu podobná chrániaca skupina, napríklad Boc, s kyselinou 3-hydroxyfenylboritou použitím paládiového katalyzátora za prítomnosti bázy, čím sa získajú zlúčeniny všeobecného vzorca III,



z ktorej sa potom odstráni chrániaca skupina za štandardných podmienok a alkyluje sa za redukčných podmienok zlúčeninou všeobecného vzorca $R^1\text{-CHO}$ za vzniku zlúčenín všeobecného vzorca I.

8. Zlúčenina podľa nároku 1 na použitie pri terapii.
9. Zlúčenina podľa nároku 8, kde terapiou je manažment bolesti.

10. Zlúčenina podľa nároku 8, kde terapia je zameraná na gastrointestinálne poruchy.
11. Zlúčenina podľa nároku 8, kde terapia je zameraná na zranenia chrbtice.
12. Zlúčenina podľa nároku 8, kde terapia je zameraná na poruchy sympatického nervového systému.
13. Použitie zlúčeniny vzorca I podľa nároku 1 na výrobu liečiva na použitie pri liečbe bolesti, gastrointestinálnych porúch alebo zranení chrbtice.
14. Farmaceutická kompozícia, vyznačujúca sa tým, že zahŕňa zlúčeninu vzorca I podľa nároku 1 ako aktívnu zložku spolu s farmaceuticky prijateľným nosičom.
15. Spôsob liečby bolesti, vyznačujúci sa tým, že sa účinné množstvo zlúčeniny vzorca I podľa nároku 1 podá subjektu s potrebou manažmentu bolesti.
16. Spôsob liečby gastrointestinálnych porúch, vyznačujúci sa tým, že sa účinné množstvo zlúčeniny vzorca I podľa nároku 1 podá subjektu trpiacemu touto gastrointestinálnou poruchou.
17. Spôsob liečby zranení chrbtice, vyznačujúci sa tým, že sa účinné množstvo zlúčeniny vzorca I podľa nároku 1 podá subjektu trpiacemu týmto zranením chrbtice.
18. Zlúčenina všeobecného vzorca II



kde PG je uretánová alebo benzylu podobná chrániaca skupina.