

РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ



(19) BG

(11) 108328 A

7(51) C 07 D 401/06,
409/06, 405/06, 211/70
A 61 K 31/445, 31/4523
A 61 P 25/04, 25/22

ЗАЯВКА ЗА ПАТЕНТ

ЗА

ИЗОБРЕТЕНИЕ

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(21) Регистров № 108328
(22) Заявено на 07.11.2003
(24) Начало на действие
на патента от:

Приоритетни данни

(31) 0101767 (32) 18.05.2001 (33) SE

(41) Публикувана заявка в
бюлетин № 12 на 31.12.2004

(45) Отпечатано на

(46) Публикувано в бюлетин №
на

(56) Информационни източници:

(62) Разделена заявка от рег. №

(71) Заявител(и):
ASTRAZENECA AB, SOEDERTAELJE (SE)

(72) Изобретател(и):
William Brown
Christopher Walpole
Zhongyong Wei, Montreal, Quebec (CA)

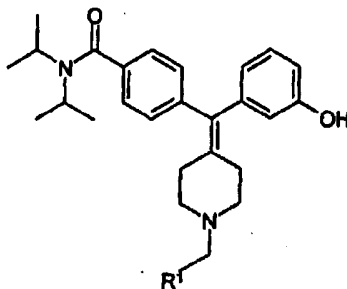
(74) Представител по индустриална
собственост:
Георги Цветанов Перев, 1124 София,
ул. "Леонардо да Винчи" 3

(86) № и дата на PCT заявка:
PCT/SE2002/000946, 16.05.2002

(87) № и дата на PCT публикация:
WO2002/094810, 28.11.2002

(54) 4-(ФЕНИЛ-ПИПЕРИДИН-4-ИЛИДЕН-МЕТИЛ)-БЕНЗАМИДНИ ПРОИЗВОДНИ И ТЯХНОТО ИЗПОЛЗВАНЕ ЗА ЛЕЧЕНИЕ НА БОЛКА, ПОТИСНАТОСТ ИЛИ СТОМАШНО-ЧРЕВНИ РАЗСТРОЙСТВА

(57) Изобретението се отнася до съединения с обща формула



в която R¹ е избран от фенил, пиридинил, пиридил, тиенил, фуранил, имидазолил, триазолил и пиридин-N-оксид, където всеки R¹ фенилов пръстен и R¹ хетероароматен пръстен може да бъде евентуално и независимо допълнително заместен с 1, 2 или 3 заместителя, избрани независимо от линейен и разклонен C₁-C₆ алкил, NO₂, CF₃, C₁-C₆ алкокси, хлоро, флуоро, бром и йодо. Заместванията при фениловия и при хетероароматния пръстен могат да се проведат в която и да е позиция на пръстенните системи. Изобретението се отнася и до техни фармацевтично приемливи соли и фармацевтични състави, съдържащи новите съединения, и до използването им в терапията, по-специално за лечение на болка, потиснатост и функционални стомашно-чревни разстройства.

15 претенции

BG 108328 A

2681/03-ГП

**4 - (ФЕНИЛ-ПИПЕРИДИН-4-ИЛИДЕН-МЕТИЛ) -БЕНЗАМИДНИПРОИЗВОДНИ И
ТЯХНОТО ИЗПОЛЗВАНЕ ЗА ЛЕЧЕНИЕТО НА БОЛКА, ПОТИСНАТОСТ ИЛИ
СТОМАШНО-ЧРЕВНИ РАЗСТРОЙСТВА**

Област на техниката

Настоящото изобретение се отнася до нови съединения, до метод за тяхното получаване, тяхното използване и фармацевтични състави, съдържащи новите съединения. Новите съединения са полезни в терапията и по-специално за лечение на болка, потиснатост и функционални стомашно-чревни разстройства.

Предшестващо състояние на техниката

Установено е, че δ рецепторът има значение за много функции в тялото, като например за кръвоносната система и системата за болка. Лигандите за δ рецептора могат следователно да намерят потенциално приложение като аналгетици, и/или като антихипертонични средства. Показано е също така, че лигандите за δ рецептора притежават имуномодулираща активност.

Понастоящем са идентифицирани най-малко три различни популации опиоидни рецептори (μ , δ и κ), като и трите се явяват както в централната, така и в периферната нервна система при много видове, включително човек. В различни животински модели при активирането на един или повече от тези рецептори се наблюдава аналгезия.

С малки изключения, намиращите се понастоящем δ опиоидни лиганди са по природа пептидни и не са подходящи за прилагане чрез системните пътища. Пример за непептиден δ агонист е SNC80 (Bilsky E.J. et al., Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 273 (1), pp. 359-366 (1995)). Все още обаче съществува необходимост от

селективни δ -агонисти, които притежават не само подобрена селективност, но и подобрен профил на страничните ефекти.

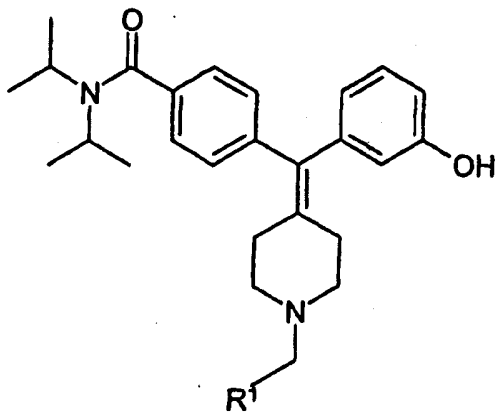
Следователно, задачата на настоящето изобретение е да се открият нови аналгетици с подобро аналгетично действие, но и с подобрен профил на странично действие спрямо съществуващите μ агонисти, както и с подобрена системна ефективност.

Познатите аналгетици, представени в предшестващото ниво на техниката имат много недостатъци като лоша фармакокинетика и не действат аналгетично, когато се прилагат чрез системните пътища. Документирано е също така, че предпочитани съединения, които са δ -агонисти, описани в предшестващото ниво на техниката, показват значителни конвулсивни ефекти когато се прилагат системно.

Понастоящем ние открихме съединения, които показват изненадващи подобрени свойства, i. a. подобро δ -агонистично действие, *in vivo* ефикасност, фармакокинетика, бионаличност, стабилност *in vitro* и/или по-ниска токсичност.

Техническа същност на изобретението

Новите съединения съгласно настоящето изобретение са с формулата I



(I)

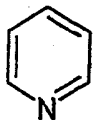
където

R¹ е избран от кой да е от

(i) фенил;



(ii) пиридинил



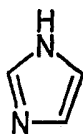
(iii) тиенил



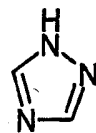
(iv) фуранил



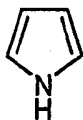
(v) имидазолил



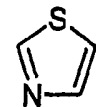
(vi) триазолил



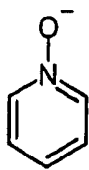
(vii) пиролил



(viii) тиазолил



(ix) пиридил-N-оксид



където всеки R^1 фенилов пръстен и R^1 хетероароматен пръстен може да бъде евентуално и независимо допълнително заместен с 1, 2 или 3 заместители, избрани независимо от линеен и разклонен C_1-C_6 алкил, NO_2 , CF_3 , C_1-C_6 алкокси, хлоро, флуоро, бромо и йодо. Заместванията при фениловия пръстен и при хетероароматния пръстен могат да се проведат в коя да е позиция на споменатите пръстенни системи;

Друг вариант на настоящето изобретение е съединение съгласно формула I където

R^1 има значението, дадено по-горе, а всеки R^1 фенилов пръстен и R^1 хетероароматен пръстен може да бъде независимо допълнително заместен с метилова група

Друг вариант на настоящето изобретение е съединение съгласно формула I, където

R^1 е фенил, пиролил, пиридинил, тиенил или фуранил, евентуално с 1 или 2 от предпочитаните заместители при R^1 фениловия или R^1 хетероароматния пръстен.

Друг вариант на настоящето изобретение е съединение съгласно формула I, където

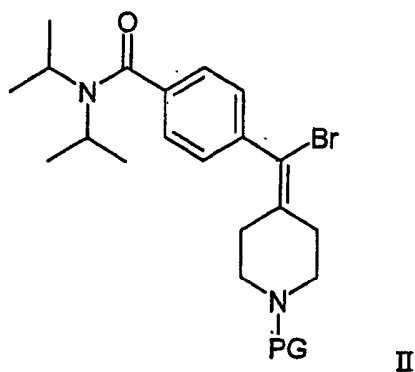
R^1 е фенил, пиролил или пиридинил, евентуално с 1 или 2 от предпочитаните заместители при R^1 фениловия или R^1 хетероароматния пръстен.

Друг вариант на настоящето изобретение е съединение съгласно формула I, където

R^1 е тиенил или фуранил, евентуално с 1 или 2 от предпочитаните заместители при R^1 хетероароматния пръстен.

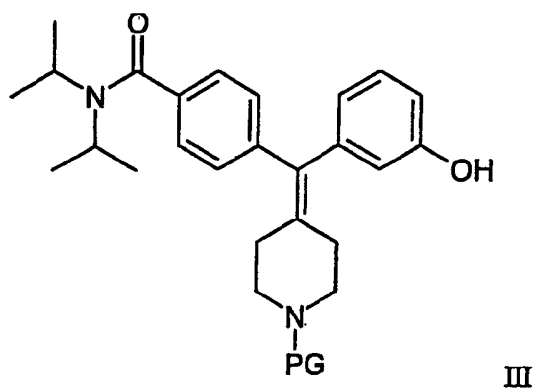
Когато R^1 фениловият пръстен и R^1 хетероароматният пръстен (и) са заместени, предпочитаните заместители са независимо избрани от кой да е от CF_3 , метил, йодо, бром, флуоро и хлоро.

Реакционният етап А от Схема 2, виж по-долу, се провежда като съединение с обща формула II



където PG е уретанова защитна група, като например Boc и CBZ или бензилова или заместена бензилова защитна група, като например 2,4-диметоксибензил,

взаимодейства с 3-хидроксифенилборна киселина, при използване на палатиев катализатор, напр. $Pd(PPh_3)_4$, в присъствието на основа, напр. Na_2CO_3 , при което се получават съединенията с общата формула III,



на които след това се премахва защитата при стандартни условия и се алкилират при редукционни условия със

съединение с общата формула R^1-CHO , при което се получават съединения с общата формула I.

Новите съединения от изобретението са полезни в терапията, по-специално за лечение на различни състояния, свързани с болка като например хронична болка, невропатична болка, остра болка, болка, свързана с рак, болка, предизвикана от ревматоиден артрит, мигрена, висцерална болка и т.н. Този списък обаче не трябва да се счита за изчерпателен.

Съединенията от изобретението са полезни като имуномодулатори, по-специално за аутоимунни заболявания, като например артрит, за кожни присадки, органични трансплантанти и подобни хирургични нужди, за колагенни заболявания, различни алергии, за използване като противотуморни средства и противовирусни средства.

Съединенията от изобретението са полезни при болестни състояния, при които е налице дегенерация или дисфункция на опиоидни рецептори или участват в тях. Това може да включва използването на изотопно белязани версии на съединенията от изобретението в диагностични техники и приложения с изображения като например позитронна емисионна томография (PET).

Съединенията от изобретението са полезни за лечение на диария, депресия, потиснатост и свързани със стрес разстройства, като например разстройства, свързани с посттравматичен стрес, паника, генерализирана потиснатост, социална фобия, натрапливо компулсивно разстройство; инконтиненция на урината, различни умствени разстройства, кашлица, белодробен оток, различни стомашно-чревни разстройства, напр. запек, функционални стомашно-чревни разстройства, като например синдром на възпалени черва, и функционална диспепсия, болест на Паркинсон и други двигателни заболявания, мозъчна травма, удар, предпазване на сърцето след инфаркт на миокарда, гръбначно нараняване и

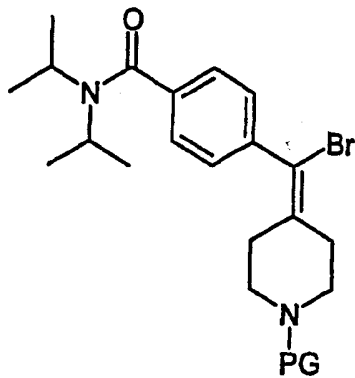
лекарствено пристрастяване, включващо лечение при злоупотреба с алкохол, никотин, опиоидни и други лекарства и за разстройства на симпатичната нервна система например хипертония.

Съединенията от изобретението са полезни като аналгетични средства за приложение при обща анестезия и контролирана анестезия. Често се използва комбинация от средства с различни свойства за постигане на баланс на необходимите ефекти за поддържане на състояние на анестезия (напр. амнезия, аналгезия, мускулна релаксация и успокоение). В тази комбинация са включени са инхалирани анестетици, сънотворни лекарства, анксиолитици, нервномускулни блокери и опиоиди.

В обхвата на изобретението е и използването на кое да е от съединенията с формула I по-горе, за производство на лекарство за лечение на кое да е от състоянията, дискутирани по-горе.

Друг вариант на изобретението е метод за лечение на субект, страдащ от кое да е от състоянията, дискутирани по-горе, като ефективно количество от съединение с формулата I по-горе, се прилага на пациент, нуждаещ се от такова лечение.

Друг вариант на настоящето изобретение са междинни съединения с формула II



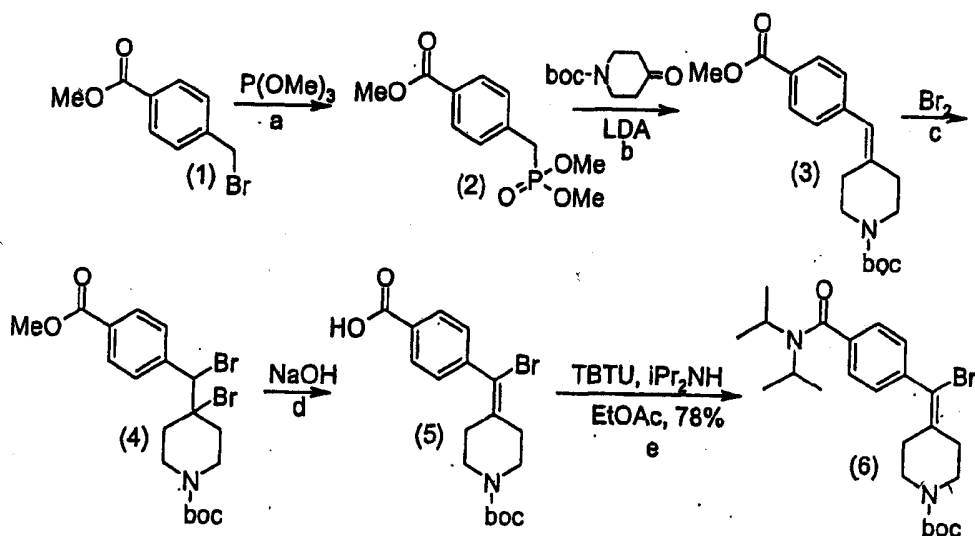
II

където PG е уретанова защитна група като например Boc или CBZ, или бензилова или заместена бензилова защитна група, като например 2,4-диметоксибензил.

Примери за изпълнение на изобретението

Изобретението се описва по-подробно със следните схеми и примери, които не го ограничават.

Схема 1: Синтез на винилбромидно междинно съединение 6.



Междинно съединение 3: 4-(4-метоксикарбонил-бензилиден)-пиперидин-1-карбоксилна киселина трет-бутилестер.

(i) Смес от изходно вещество 1 (11.2 g, 49 mmol) и триметилфосфит (25 mL) се вари под обратен хладник под N_2 в продължение на 5 часа. Излишъкът от триметилфосфит се отделя чрез ко-дестилация с толуен, при което се получава съединение 2 в количествен добив:

1H NMR (CDCl₃) δ 3.20 (d, 2H, $J=22$ Hz, CHa), 3.68 (d, 3H 10.8 Hz, OCH₃), 3.78 (d, 3H, 11.2 Hz, OCH₃), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 7.38 (m, 2H, Ar-H), 8.00 (d, 2H, $J=8$ Hz, Ar-H).

Към разтвор на 2 в сух THF (200mL) се прибавя на капки литиев диизопропиламид (32.7mL 1.5 M в хексан, 49 mmol) при -78 °C. След това реакционната смес се оставя да се затопли до стайна температура, след което се добавя N-трет-бутоксикарбонил-4-пиперидон (9.76 g, 49 mmol в 100 mL сух

THF). След 12 часа, реакционната смес се гаси с вода (300 mL) и се екстрахира с етилацетат (3 x 300 mL). Обединените органични фази се сушат над $MgSO_4$ и се изпаряват, при което се получава сурово вещество, което се пречиства чрез бърза хроматография за да се получи 3 като бяло твърдо вещество (5.64 g, 35%) :

IR(NaCl) 3424, 2974, 2855, 1718, 1688, 1606, 1427, 1362, 1276 cm^{-1} ;

1H NMR(CDC13) 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); ^{13}C 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.

Междино съединение 4: 4-бромо-4-[бромо-(4-метоксикарбонил-фенил)-метил]-пиперидин-4-карбоксилна киселина трет бутилестер.

Към смес от 3 (5.2 g, 16 mmol) и K_2CO_3 (1.0 g) в сух дихлорометан (200 mL) се добавя разтвор на бром (2.9 g, 18 mmol) в 30 mL CH_2Cl_2 при 0 °C. След 1.5 часа, при стайна температура, разтворът се кондензира след филтруване на K_2CO_3 . След това остатъкът се разтваря в етилацетат (200 mL), измива се с вода (200 mL), 0.5 M HCl (200 mL) и солев разтвор (200 mL), и се суши над $MgSO_4$. След отделяне на разтворителите се получава сурово вещество, което се прекристализира от метанол, при което се получава 4 като бяло твърдо вещество (6.07 g, 78%):

IR (NaCl) 3425, 2969, 1725, 1669, 1426, 1365, 1279, 1243 cm^{-1} ;

1H NMR(CDC13) δ 1.28 (s, 9H), 1.75 (m, 1H), 1.90 (m, 1H), 2.1 (m, 2H), 3.08 (br, 2H), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 4.08 (br, 3H), 7.57 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, Ar-H) 7.98 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, Ar-H);

^{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.

Междинно съединение 5: 4-[бромо-(4-карбокси-фенил)-метилен] пиперидин-1-карбоксилна киселина трет бутилестер.

Разтвор на 4 (5.4 g 11 mmol) в метанол (300 mL) и 2.0 M NaOH (100 mL) се загрява при 40 °C в продължение на 3 часа. Твърдата фаза се събира чрез филтруване, и се суши една нощ под вакуум. Сухата сол се разтваря в 40% ацетонитрил/вода, и се настройва на pH 2 като се използва концентрирана HCl. Чрез филтруване се изолира съединение 5 (3.8 g, 87%) под формата на бял прах:

^1H NMR (CDCl_3) δ 1.45 (s, 9H, tBu), 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, Ar-H), 8.08 (d, J=6.7 Hz, 2H, Ar-H);

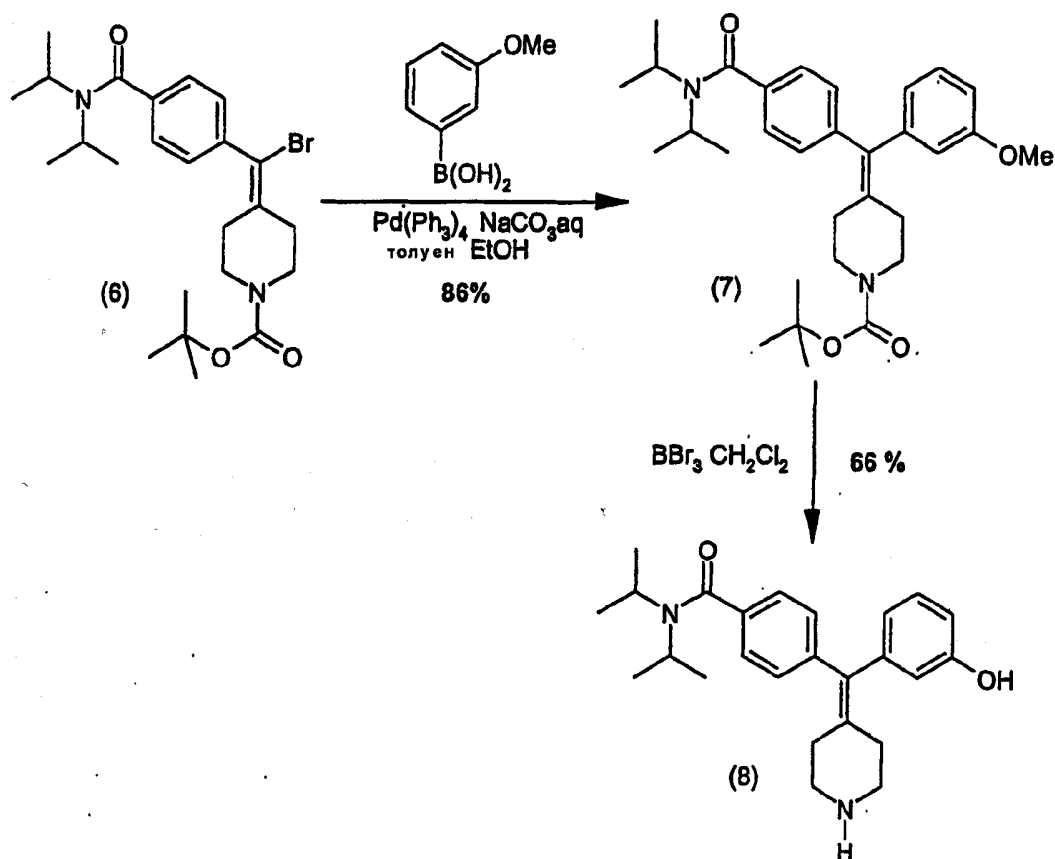
^{13}C NMR (CDCl_3) δ 28.3, 31.5, 34.2, 44.0, 115.3, 128.7, 129.4, 130.2, 137.7, 145.2, 154.6, 170.3.

Междинно съединение 6: трет-бутилестер на 4-(бромо-(4-диизопропилкарбамоил-фенил)-метилен]-пиперидин-1-карбоксилна киселина

Към слаб разтвор на киселина (5) (50.27 g, 0.127 mol, 1.0 екв.) в етилацетат (350 ml) при стайна температура се прибавя диизопропиламин (71.10 mL 0.510 mol, 4.0 екв.) и 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетра-метилурониев тетрафлуороборат (TBTU, 44.90 g, 0.140 mol, 1.1 екв.). След бъркане в продължение на 2 дни на получената рядка бяла суспензия, реакцията се прекъсва чрез добавяне на вода (200 ml) и двете фази се разделят. Водната фаза се екстрахира обратно два пъти с дихлорометан (100 ml). Обединените органични фази се измиват с воден 1M разтвор на HCl (150 ml) и солев разтвор (100 ml), изсушава се с натриев сулфат, филтрува се и се концентрира при понижено налягане до светло жълто масло. Суровото вещество се прекристализира в

трет-бутилметилетер (300 ml). Филтратът се пречиства чрез бърза хроматография при елуиране с 30% етилацетат в хексан и прекристализация в смес (10:90) етилацетат:хексан. Белите твърди вещества се събират (47.28 g, 78% добив).

Схема 2: Катализирано с паладий свързване и премахване на защитата до междинно съединение 8.



Междинно съединение 7: 4-[1-(4-диизопропилкарбамоил-фенил)-1-(3-метокси-фенил)-метиленипиридин-1-карбоксилна киселина трет-бутилестер.

Към разтвор на винил бромид (6) (8.26 g, 17.2 μmol , 1.0 екв.) в толуен (130 ml) при стайна температура се добавя 3-метоксифенилборна киселина (3.14 g, 20.7 μmol , 1.2 екв.) последван от етанол (27ml) и воден разтвор на натриев карбонат (2M воден разтвор, 21.5 ml, 43.0 μmol , 2.5 екв.). След продухване на системата с азот за 15 минути, към сместа се добавя паладиев тетракис(трифенилфосфин) (1.43 g, 1.24 μmol , 0.072 екв.) която след това се загрява до 90 °C. След бъркане през нощта, реакционната смес се охлажда до

стайна температура, гаси се с вода (100 ml) и фазите се разделят. Органичната фаза се измива с вода (100 ml) и след това със солев разтвор (50 ml), суши се с натриев сулфат, филтрува се и се концентрира при понижено налягане. Суровото вещество се пречиства чрез бърза хроматография като се елуира с 50% етилацетат в хексан (7.5 g, 86%).

Междинно съединение 8:4- [1-(3-Хидрокси-фенил)-1-пиперидин-4-илиден-метил-N,N-диизопропил-бензамид.

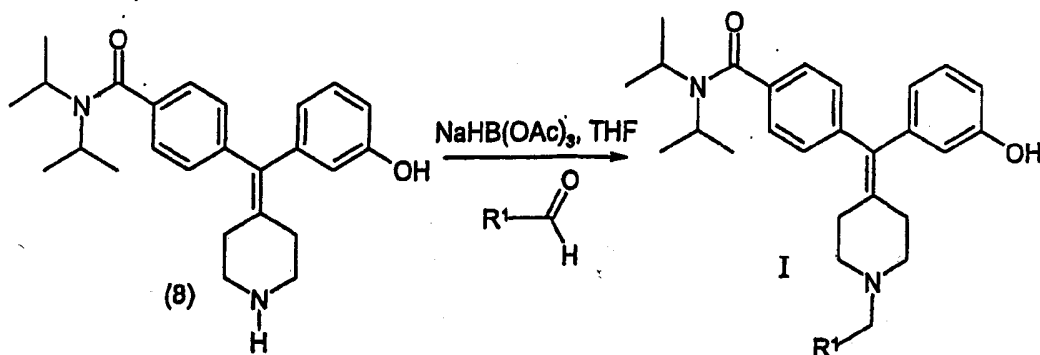
Към разтвор на карбамата (7) (5.61 g, 11.05 mmol, 1.0 екв.) в дихлорометан (200 ml) при -78°C се добавя 1M разтвор на борен трибромид в дихлорометан при -78°C (110.7 ml, 160.7 mmol, 10.0 екв.). Реакционната смес след това се оставя да се затопли бавно до стайна температура. След бъркане през нощта, реакцията се прекъсва при 0°C чрез бавно добавяне на метанол. Сместа се концентрира при понижено налягане. Суровото масло се пречиства чрез бърза хроматография като се елуира с 15% етилацетат в хексан. Фракцията се концентрира и разтваря в смес от 0.1M воден разтвор на HCl (200ml) и дихлорометан (200ml). Фазите се разделят. Водната фаза се регулира до pH=9 чрез добавяне на 1.0M водна NaOH и се екстрахира три пъти с етилацетат (200ml). Органичните фази се събират и се концентрират при понижено налягане при което се получава 2.88 g от желаното съединение в кристална форма (66%).

Аликвотна част (320 mg, 0.82 mmol) от амин (8) с премахната защита се пречиства чрез бърза хроматография като се елуира с 5% метанол в дихлорометан. Фракцията се концентрира при понижено налягане и разрежда в диетилов етер и дихлорометан. Към тази смес се добавя 1M HCl разтвор в диетилов етер (около 4 ml, около 3.5 екв.). Получената смес се концентрира след това при понижено налягане. Бялото твърдо вещество се стрива с диетилов етер и се концентрира при понижено налягане при което се получава добив (8) (180 mg).

^1H NMR (400MHz, DMSO) 7.19 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H, Ar-H) ; 7.12 (d, $J=8.3\text{ Hz}$, 2H, Ar-H) ; 7.08 (d, $J=8.3\text{ Hz}$, 1H, Ar-H); 6.61 (d, $J=7.4\text{Hz}$, 1H, Ar-H); 6.54 (d, $J=7.4\text{ Hz}$, 1H, Ar-H) ; 6.48 (br s, 1H, Ar-H); 3.58 (br s, 2H, NCH); 3.10 (br s, 4H, CH_2) ; 2.46 (s, 2H, NCH_2) ; 2.40 (m, 2H, NCH_2) ; 1.24 (br s, 12H, CH_3)

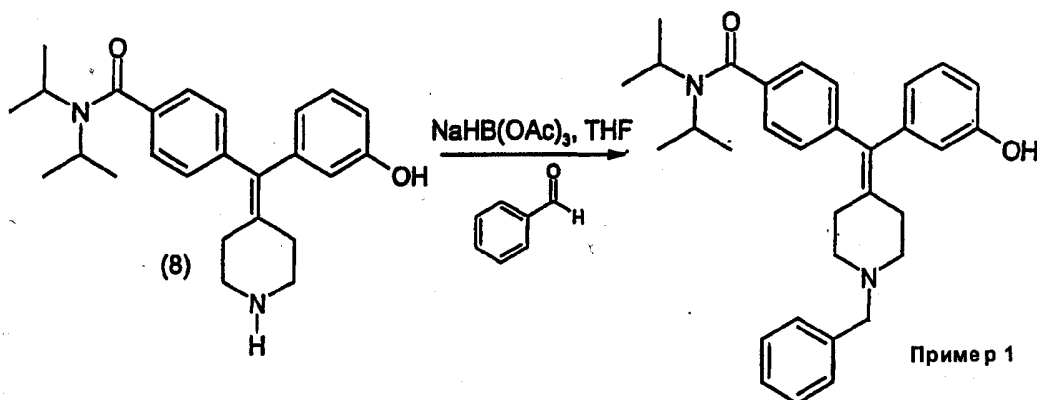
Примери 1-12 се синтезират като се следва общия метод на синтез, описан по-долу.

Схема 3: Редуктивно аминирание на междинно съединение 8, при което се получава съединение I от изобретението.



Синтезът на Пример 1, по-долу е типичен.

Схема 4: Редуктивно аминирание на Междинно съединение 8 с бензалдехид, при което се получава Пример 1.



Пример 1: 4-[1-(1-Бензил-пиперидин-4-илиден)-1-(3-хидрокси-фенил)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид.

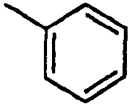
Към разтвор на амин (390 mg, 0.99 mmol, 1.0 екв.) в тетраhydroфуран (20 ml) при стайна температура се добавя бензалдехид (121 μl . 1.19 mmol, 1.2 екв.). След бъркане в

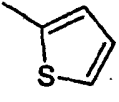
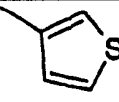
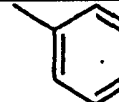
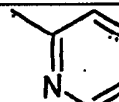
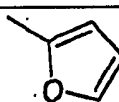
продължение на 10 минути към разтвора се добавя натриев триацетоксиборохидрид (276 mg, 1.30 mmol, 1.3 екв.). След бъркане през нощта, реакционната смес се разрежда с дихлорометан (10 ml) и 2М воден разтвор на натриев хидроксид (15 ml). Фазите се разделят и органичната фаза измива се със солев разтвор (15 ml). Първата водна фаза се екстрахира обратно с дихлорометан три пъти (3 x 15 ml). Органичните фази се обединяват, сушат се с натриев сулфат, филтруват се и се концентрират при понижено налягане. Суровото вещество се пречиства чрез бърза хроматография като се елуира с 5% метанол в дихлорометан. Фракцията се концентрира при понижено налягане и разрежда в диетилов етер и дихлорометан. Към тази смес се добавя 1М HCl разтвор в диетилов етер (4 ml, са. 3.5 екв.). Получената смес се концентрира след това при понижено налягане. Бялото твърдо вещество се стрива с диетилов етер и се концентрира при понижено налягане, при което се получава Пример 1 (183 mg, 36%).

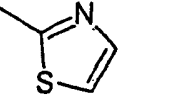
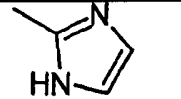
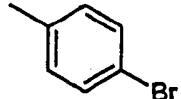
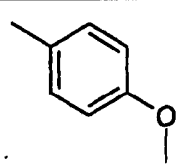
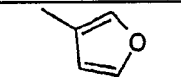
Елементен анализ: намерено C 70.16% H 7.21% N 4.55% Изчислено за C₃₂H₃₈N₂O₂ 1.80HCl; C 70.10% H 7.32% N 5.11%

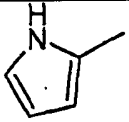
Примери 2-12 са получени аналогично. Аналитични данни за Примери 1-10 са дадени в Таблица 1 по-долу.

Таблица 1: Аналитични данни за съединения от изобретението.

Пр.№	R ¹	име	NMR-данни (400MHz, DMSO)
1		4-[1-(1-бензил-пиперидин-4-илиден)-1-(3-хидрокси-фенил)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид	(400MHz, DMSO) 7.55 (m, 2H, Ar-H); 7.44 (m, 3H, Ar-H); 7.23 (m, 2H, Ar-H); 7.15 (m, 3H, Ar-H); 6.65 (d, J=8.0Hz, 1H); 6.57 (d, J=7.6Hz, 1H, Ar-H); 6.49 (s, 1H, Ar-H); 4.30 (s, 2H, NCH ₂ Ar); 3.62 (br s, 2H, NCH); 3.38 (m, 2H, CH ₂); 3.02 (m, 2H, CH ₂); 2.50 (m, 4H, NCH ₂); 1.22 (m, 12H, CH ₃)

2		4-[1-(3-гидрокси-фенил)-1-(1-тиофен-2-илметил-пиперидин-4-илиден)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид.	(400MHz, DMSO) 7.66 (m, 1H, Ar-H) ; 7.32 (br s, 1H, Ar-H) ; 7.16 (m, 2H, Ar-H) ; 7.09 (m, 4H, Ar-H) ; 6.64 (dd, J=1.8, 8.4Hz, 1H, Ar-H) ; 6.54 (d, J=8.4Hz, 1H, Ar-H) ; 6.46 (m, 1H, Ar-H) ; 4.52 (m, 2H, NCH ₂ Ar) ; 3.59 (br s, 2H, NCH) ; 3.38 (m, 3H, CH ₂) ; 2.97 (m, 1H, CH ₂) ; 2.50 (br s, 4H, NCH ₂) ; 1.24 (br s, 12H, CH ₃)
3		4-[1-(3-гидрокси-фенил)-1-(1-тиофен-3-илметил-пиперидин-4-илиден)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид.	(400MHz, DMSO) 7.71 (m, 1H, Ar-H) ; 7.61 (m, 1H, Ar-H) ; 7.26 (br s, 1H, Ar-H) ; 7.20 (d, J=8.4Hz, 2H, Ar-H) ; 7.12 (m, 3H, Ar-H) ; 6.62 (dd, J=1.9, 7.4Hz, 1H, Ar-H) ; 6.54 (d, J=7.4Hz, 1H, Ar-H) ; 6.46 (br s, 1H, Ar-H) ; 4.27 (br s, 2H, NCH [^]) ; 3.59 (br s, 2H, NCH) ; 3.38 (m, 3H, CH ₂) ; 2.94 (m, 2H, CH ₂ , NCH ₂) ; 2.55 (br s, 3H, NCH ₂) ; 1.24 (br s, 12H, CH ₃)
4		4-[1-(3-гидрокси-фенил)-1-(1-пиридин-4-илметил-пиперидин-4-илиден)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид	(400MHz, DMSO) 8.82 (m, 2H, Ar-H) ; 7.98 (br s, 2H, Ar-H) ; 7.20 (d, J=8.4Hz, 2H, Ar-H) ; 7.10 (m, 3H, Ar-H) ; 6.62 (d, J=8.4Hz, 1H, Ar-H) ; 6.54 (d, J=7.4Hz, 1H, Ar-H) ; 6.47 (m, 1H, Ar-H) ; 4.45 (s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 3.58 (br s, 2H, NCH) ; 3.40 (m, 2H, CH ₂) ; 3.03 (br s, 2H, CH ₂) ; 2.54 (br s, 4H, NCH ₂) ; 1.18 (br s, 12H, CH ₃)
5		4-[1-(3-гидрокси-фенил)-1-(1-пиридин-2-илметил-пиперидин-4-илиден)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид	(400MHz, DMSO) 8.63 (d, J=4.6Hz, 1H, Ar-H) ; 7.86 (dd, J=2.0, 7.4Hz, 1H, Ar-H) ; 7.58 (d, J=7.4Hz, 1H, Ar-H) ; 7.44 (dd, J=4.6, 8.4Hz, 1H, Ar-H) ; 7.20 (d, J=8.4Hz, 2H, Ar-H) ; 7.08 (m, 3H, Ar-H) ; 6.62 (dd, J=2.8, 7.4Hz, 1H, Ar-H) ; 6.54 (d, J=7.4Hz, 1H, Ar-H) ; 6.47 (m, 1H, Ar-H) ; 4.84 (s, 1H, OH) ; 4.43 (m, 2H, NCH ₂ Ar) ; 3.59 (br s, 2H, NCH) ; 3.26 (br s, 4H, CH ₂) ; 2.55 (br s, 4H, NCH ₂) 1.22 (brs, 12H, CH ₃)
6		4-[1-(1-фуран-2-илметил-пиперидин-4-илиден)-1-(3-гидрокси-фенил)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид	(400MHz, DMSO) 7.80 (m, 1H, Ar-H) ; 7.24 (d, J=8.4Hz, 2H, Ar-H) ; 7.15 (m, 3H, Ar-H) ; 6.71 (m, 1H, Ar-H) ; 6.65 (d, J=7.2Hz, 1H, Ar-H) ; 6.56 (m, 2H, Ar-H) ; 6.49 (m, 1H, Ar-H) ; 4.39 (br s, 2H, NCH ₂ Ar) ; 3.61 (br s, 2H, NCH) ; 3.44 (m, 2H, CH ₂) ; 2.99 (m, 2H, CH ₂) ; 2.49 (br s, 4H, NCH ₂) ; 1.22 (m, 12H, CH ₃)

7		4-[1-(3-хидрокси-фенил)-1-(1-тиазол-2-илметил)-пиперидин-4-илиден]-метил-N,N-диизопропил-бензамид	(400MHz, DMSO) 7.97 (m, 1H, Ar-H); 7.93 (m, 1H, Ar-H); 7.24 (d, J=7.6Hz, 2H, Ar-H); 7.19 (m, 3H, Ar-H); 6.65 (m, 1H, Ar-H); 6.57 (d, J=7.6Hz, 1H, Ar-H); 6.49 (s, 1H, Ar-H); 4.72 (s, 2H, NCH ₂ Ar) 3.50(br s, 4H, NCH, CH ₂); 3.15 (br s, 2H, CH ₂); 2.53 (br s, 4H, NCH ₂); 1.20 (brs, 12H, CH ₃)
8		4-{1-(3-хидрокси-фенил)-1-[1-(1H-имидазол-2-илметил)-пиперидин-4-илиден]-метил}-N,N-диизопропил-бензамид	(400MHz, DMSO) 7.69 (s, 2H, Ar-H); 7.23 (d, J=8.0Hz, 2H, Ar-H); 7.14 (m, 3H, Ar-H); 6.66 (d, J=7.6Hz, 1H); 6.58 (d, J=7.6Hz, 1H, Ar-H); 6.49 (s, 1H, Ar-H); 4.46 (br s, 2H, NCH ₂ Ar); 3.58 (br s, 2H, NCH); 3.20 (br s, 4H, CH ₂); 2.55 (br s, 4H, NCH ₂); 1.02 (br s, 12H, CH ₃)
9		4-[1-[1-(4-бромо-бензил)-пиперидин-4-илиден]-1-(3-хидрокси-фенил)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид	(400MHz, DMSO) 7.66 (d, J=8.4Hz, 2H, Ar-H); 7.51 (d, J=8.0Hz, 2H, Ar-H); 7.22 (d, J=8.4Hz, 2H, Ar-H); 7.15 (m, 3H, Ar-H); 6.65 (d, J=8.4Hz, 1H); 6.57 (d, J=7.2Hz, 1H, Ar-H); 6.49 (s, 1H, Ar-H); 4.29 (s, 2H, NCH ₂ Ar); 3.58 (br s, 2H, NCH); 3.36 (m, 2H, CH ₂); 3.00 (m, 2H, CH ₂); 2.49 (m, 4H, NCH ₂); 1.17 (br s, 12H, CH ₃)
10		4-[1-[1-(4-метокси-бензил)-пиперидин-4-илиден]-1-(3-хидрокси-фенил)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид	(400MHz, DMSO) 7.44 (d, J=8.0Hz, 2H, Ar-H); 7.23 (d, J=8.0Hz, 2H, Ar-H); 7.15 (m, 3H, Ar-H); 6.99 (d, J=8.8Hz, 2H, Ar-H); 6.65 (d, J=8.0Hz, 1H); 6.57 (d, J=7.6Hz, 1H, Ar-H); 6.49 (s, 1H, Ar-H); 4.23 (s, 2H, NCH ₂ Ar); 3.76 (s, 3H, OMe); 3.58 (br s, 2H, NCH); 3.38 (m, 2H, CH ₂); 2.99 (m, 2H, CH ₂); 2.55 (br s, 4H, NCH ₂); 1.15 (br s, 12H, CH ₃)
11		4-[1-(1фуран-3-илметил)-пиперидин-4-илиден]-1-(3-хидрокси-фенил)-метил-N,N-диизопропил-бензамид	(400MHz, DMSO) 7.81 (s, 1H, Ar-H); 7.71 (s, 1H, Ar-H); 7.20 (d, J=7.4Hz, 2H, Ar-H); 7.10 (m, 3H, Ar-H); 6.69 (s, 1H, Ar-H); 6.62 (dd, J=1.9, 8.4Hz, 1H, Ar-H); 6.54 (d, J=8.4Hz, 1H, Ar-H); 4.13 (s, 2H, NCH ₂ Ar); 3.59 (br s, 2H, NCH); 3.37 (br s, 2H, CH ₂); 2.92 (m, 2H, CH ₂); 2.49 (br s, 4H, NCH ₂); 1.22 (br s, 12H, CH ₃)

12		4-[(1-пирол-2-илметил-пиперидин-4-илиден)-1-(3-хидрокси-фенил)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид	(400MHz, CD3OD) 1.13 (br s, 6H, CH3) ; 1.48 (br s, 6H, CHS) ; 2.40-2.50 (m, 2H, CH2) ; 2.70-2.81 (m, 2H, CH2) ; 2.94-3.00 (m, 2H, CH2) ; 3.46-3.50 (m, 2H, CH2) ; 3.62 (br s, 1H, NCH) ; 3.83 (br s, 1H, NCH) ; 6.13-6.15 (m, 1H, Ar-H) ; 6.32-6.34 (m, 1H, Ar-H) ; 6.50-6.52 (m, 1H, Ar-H) ; 6.58-6.61 (m, 1H, Ar-H) ; 6.65-6.68 (m, 1H, Ar-H) ; 6.85-6.86 (m, 1H, Ar-H) ; 7.12 (t, J=8Hz, 1H, Ar-H) ; 7.19-7.28 (m, 4H, Ar-H)
----	---	--	---

Фармацевтични състави

Новите съединения съгласно настоящето изобретение могат да се прилагат орално, сублингвално, интрамускулно, подкожно, локално, интраназално, интраперито-неално, интра-торакално, интравенозно, епидурално, интратекално, интрацеребро-вентрикуларно и инжекционно в ставите.

Предпочитан начин на прилагане е оралният, интравенозният или интрамускулният.

Дозата ще зависи от начина на прилагане, остротата на заболяването, възрастта и телото на пациента и други фактори, които обикновено се взимат пред вид от лекуващия лекар, при определяне на индивидуалния режим и дозировка като най-подходящи за отделния пациент.

За получаване на фармацевтични състави от съединения съгласно това изобретение, инертните фармацевтично приемливи носители могат да бъдат твърди или течни. Препаратите в твърда форма включват прахове, таблетки, диспергируеми гранули, капсули, облатки и свещички.

Твърд носител може да бъде едно или повече вещества, които могат да действат като разредители, ароматизатори, солибилайзери, повърхностноактивни вещества, суспендиращи средства, свързващи вещества, или дезинтегратори на таблетки; може да бъде също материал за капсулиране.

В прахове носителът е фино смляно твърдо вещество, смесено с фино смления активен компонент. В таблетки

активният компонент е смесен с носителя, притежаващ необходимите свързващи свойства, в подходящи пропорции и пресован в необходимата форма и големина.

За да се приготвят супозиторни смеси, най-напред нискотопящ се восък, като например смес от глицериди на мастни киселини и какаоово масло, се смела и активното вещество се диспергира в него чрез, например, бъркане. Стопената хомогенна смес след това се изсипва във форма с подходяща големина и се оставя да се охлади и втвърди.

Подходящи носители са магнезиев карбонат, магнезиев стеарат, талк, лактоза, захар, пектин, декстрин, нишесте, трагаканта, метилцелулоза, натриева карбоксиметилцелулоза, нискотопящ се восък, какаоово масло и подобни.

Солите включват, но без да се ограничават, фармацевтично приемливи соли. Примери на фармацевтично приемливи соли в обхвата на изобретението включват: ацетат, бензенсулфонат, бензоат, бикарбонат, битартарат, бромид, калциев ацетат, камзилат, карбонат, хлорид, цитрат, дихидрогенхлорид, едетат, едизилат, естолат, езилат, фумарат, глюкапнат, глюконат, глутамат, гликалиларсанилат, хексилрезорцинат, хидрабамин, хидрогенбромид, хидрогенхлорид, хидроксинафтоат, изетионат, лактат, лактобионат, малат, малеат, манделат, мезилат, метилбромид, метилнитрат, метилсулфат, мукат, напзилат, нитрат, памоат (ембонат), пантотенат, фосфат/дифосфат, полигалактуронат, салицилат, стеарат, субацетат, сукцинат, сулфат, танат, тартарат, теоклат, тритиодид и бензатин, хлоропрокаин, холин, диетаноламин, етилендиамин, меглумин, прокаин, алуминий, калций, литий, магнезий, калий, натрий и цинк.

Примери за фармацевтично неприемливи соли в обхвата на изобретението включват: хидройодид, перхлорат, тетрафлуороборат. Фармацевтично неприемливи соли биха били полезни поради благоприятните си физични и/или химични свойства, като например кристалност.

Предпочитани фармацевтично приемливи соли са хидрогенхлориди, сулфати и битартарати.

Особено се предпочитат хидрохлоридната и сулфатната соли

Понятието състав включва формулировка на активния компонент с капсулиращ материал като носител, при което се осигурява капсула, в която активният компонент (с или без други носители) е заобиколен от носител, който по този начин е свързан с него. По подобен начин са включени и облатки.

Таблетките, праховете, облатките и капсулите могат да се използват като твърди дозирани форми, подходящи за орално прилагане.

Течните форми на съставите включват разтвори, суспензии и емулсии. Разтвори на активните съединения в стерилна вода или вода-пропиленгликол могат да се споменат като пример за течни препарати, подходящи за парентерално приложение. Течни състави могат да се приготвят също така във воден полиетиленгликолов разтвор.

Водни разтвори за орално приложение могат да се получат чрез разтваряне на активния компонент във вода и добавяне на оцветители, ароматизатори, стабилизатори, и съгъстители, ако е необходимо. Водни суспензии за орално приложение могат да се приготвят чрез диспергиране на финия прахообразен активен компонент във вода заедно с вискозно вещество като например естествени синтетични смоли, полимери, метилцелулоза, натриева карбоксиметилцелулоза, и други суспендиращи средства, известни в областта на фармацевтичните препарати.

Предпочита се фармацевтичните състави да са в единична дозирана форма. В такива форми съставът е разпределен на единични дози, съдържащи подходящи количества на активното съединение. Единичната дозирана форма може да бъде

пакетиран препарат, като опаковката съдържа дискретни количества от препаратите, например, опаковани таблетки, капсули, и прахове във флакони или ампули. Единичната дозирана форма може да бъде капсула, облатка или самата таблетка, или може да представлява подходящият брой от коя да е от тези опаковани форми.

БИОЛОГИЧНА ОЦЕНКА

In vitro модел

Клетъчна култура

А. Човешки 293S клетки, експресиращи клонирани човешки μ , δ и κ , рецептори и неомиминова резистентност се отглеждат в суспензия при 37 °C и 5% CO₂ в клатачни колби, съдържащи свободен от калции DMEM10% FBS, 5% BCS, 0.1% Pluronic F-68, и 600 μ g/ml генетицин.

В. Миши и плъши мозъци се претеглят и промиват в ледено студен PBS (съдържащ 2.5mM EDTA, pH 7.4). Мозъците се хомогенизират с политрон в продължение на 15 sec (мишка) или 30 sec (плъх) в ледено студен лизисен буфер (50mM Tris, pH 7.0, 2.5 mM EDTA, с фенилметилсулфонил флуорид, добавен непосредствено преди употреба към 0.5mM от 0.5M изходен концентрат в DMSO:етанол).

Приготвяне на мембраните

Клетките се утаяват и ресуспендират в лизисен буфер (50 mM Tris, pH 7.0, 2.5 mM EDTA, с PMSF, добавен непосредствено преди употреба към 0.1 mM от 0.1 M изходен концентрат в етанол), инкубират се върху лед в продължение на 15 min, след това се хомогенизират с политрон в продължение на 30 sec. Суспензията се центрифугира при 1000g (макс.) в продължение на 10 min при 4 °C. Супернатантата се запазва върху лед и утайките се ресуспендират и центрифугират, както преди. Супернатантите от двете центрифугирания се обединяват и центрифугират при 46,000 g (max) в продължение на 30 min. Перетираните утайки

се ресуспендираат в студен Tris буфер (50 mM Tris/Cl, pH 7.0) и се центрифугират отново. Крайните утайки се ресуспендираат в буфер за мембрани (50 mM Tris, 0.32 M захароза, pH 7.0). Аликвоти (1 ml) се замразяват в полипропиленови епруветки в сух лед/етанол и се съхраняват при -70 °C до употреба. Концентрациите на протеин се определят с модифициран Lowry анализ със SDS.

Анализ за свързване

Мембраните се разтопяват при 37 °C, охлаждаат се върху лед, прекарват се 3 пъти през 25-размер игла, и се разреждат в буфер за свързване (50 mM Tris, 3 mM MgCl₂, 1 mg/ml BSA (SigmaA-7888), pH 7.4, който е съхраняван при 4 °C след филтрация през 0.22 m филтър, и към който непосредствено преди това е добавен 5 µg/ml апротинин, 10 µM бестатин, 10 µM дипротин А, не DTT). Аликвоти от 100 µl се добавят към ледено студени 12x75 mm полипропиленови епруветки, съдържащи 100 µl от съответния радиолиганд и 100 µl от изследваното съединение при различни концентрации. Общото (TB) и неспецифично (NS) свързване се определят в отсъствие и съответно в присъствие на 10 µM налоксон. Епруветките се бъркат на бъркалка вортекс и инкубират при 25 °C в продължение на 60-75 min, след което съдържанията се филтруват бързо с вакуум и се измиват с около 12ml/епруветка леден промивен буфер (50 mM Tris, pH 7.0, 3 mM MgCl₂) през GF/B филтри (Whatman) напоени предварително за най-малко 2h в 0.1% полиетиленимин. Радиоактивността (dpm) задържана от филтрите се измерва с бета брояч след потапяне на филтрите за най-малко 12h в мини флакони, съдържащи 6-7 ml сцинтилационна течност. Ако анализът се провежда в 96 ямкови плаки с дълбоки ямки, филтруването се извършва през PEI-напоени унифилтри за 96-ямкови плаки, които се измиват 3 x 1 ml с буфер за измиване, и сушат в пещ при 55 °C в продължение на 2h. Филтърните плаки се броят в TopCount (Packard) след добавяне на 50 µl MS-20 сцинтилационна течност/ямка.

Функционални изпитания

Агонистичната активност на съединенията се измерва чрез определяне на степента до която рецепторният комплекс на съединенията активира свързването на GTP към G-протеини, към които рецепторите са свързани. В GTP анализа за свързване, GTP[γ] ^{35}S е комбиниран със съединенията за изследване и мембраните от HEK-293S клетки, експресиращи клонираните човешки опиоидни рецептори или от хомогенизирани плъщи и миши мозък. Агонистите стимулират GTP [γ] ^{35}S свързването в тези мембрани. EC_{50} и E_{max} стойностите на съединенията са определени от кривите доза-отговор. Отмествания в дясно на кривата доза-отговор при делта антагониста налтриндол потвърждават, че агонистичната активност се медира през делта рецептори.

Метод за GTP в мозък на плъх

Мембрани от мозък на плъх се разтопяват при 37 °C, прекарват се 3 пъти през 25-размер игла със затъпен връх и се разреждат в GTP γ S буфер за свързване (50 mM Hepes, 20 mM NaOH, 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 5 mM MgCl $_2$, pH 7.4, добавя се свеж: 1 mM DTT, 0.1% BSA). 120 μM GDP с крайна концентрация се добавя към мембранните разреждания. EC_{50} и E_{max} на съединенията се оценяват от 10 точкови криви доза-отговор получени в 300 μl със съответното количество мембранен протеин (20 μg /ямка) и 100000-130000 dpm от GTP $\gamma^{35}\text{S}$ на ямка (0.11-0.14 nM). Основното и максимално стимулирано свързване се определят в отсъствие и присъствие на 3 μM SNC-80.

Данни от анализа

Специфичното свързване (SB) се изчислява като TB-NS, а SB в присъствието на различни съединения за изследване се изразява като процент от контролата SB. Стойностите за IC_{50} и Hill коефициента (nH) за лиганди при изместване на специфично свързан радиолиганд се изчисляват от логаритмични графики или програма за напасване на криви

като например Ligand, GraphPad Prism, SigmaPlot, или ReceptorFit. Стойности за K_i се изчисляват от уравнението на Cheng-Prussoff. Средни \pm S. E. M. стойности за IC_{50} , K_i и nH са докладвани за лиганди, изследвани в най-малко три криви за изместване. Биологичната активност на съединенията на настоящето изобретение е показана в Таблица 2.

Таблица 2: Биологични данни

Пр. №	HDELTA (nM)			Мозък на плъх (nM)		Мозък на мишка (nM)	
	IC_{50}	EC_{50}	%E _{Max}	EC_{50}	%E _{Max}	EC_{50}	%E _{Max}
1-12	0.36-1.45	0.26-0.91	91-97	0.85-7.28	95-170	0.88-6.28	96-163

Експерименти за рецепторно насищане

Стойностите за радиолиганд K_8 се определят чрез провеждане на анализ за свързване върху клетъчни мембрани със съответни радиолиганди при концентрации в границите от 0.2 до 5 пъти пресметнатата K_8 (до 10 пъти ако количествата необходим радиолиганд са приемливи). Специфичното радиолигандно свързване се изразява в $\mu\text{mole/mg}$ мембранен протеин. Стойности на K_8 и V_{max} от отделните експерименти се получават от нелинейни апроксимации на специфично свързан радиолиганд (B) спрямо nM свободен (F) радиолиганд от отделния експеримент съгласно едностранния модел.

Определяне на механо-алодиния с теста на Von Frey

Изследването се провежда между 08:00 и 16:00h като се използва методът, описан от Chaplan et al. (1994). Плъховете се поставят в плексигласови клетки върху телена мрежа, която позволява достъп до лапата, и се оставят да привикнат за 10-15 min. Изследваната област е средната част на стъпалото на лявата задна лапа, като се избягва по-малко чувствителната възглавничка на ходилото. Лапата се докосва със серия от 8 Von Frey влакна с логаритмично нарастваща

твърдост (0.41, 0.69, 1.20, 2.04, 3.63, 5.50, 8.51, и 15.14 grams; Stoelting, Ill, USA). Влакното на von Frey се прилага отдолу на мрежестия под, перпендикулярно към плантарната повърхност с достатъчна сила за да се предизвика леко изкривяване спрямо лапата, и се задържа приблизително 6-8 секунди. Отчита се положителен отговор ако лапата се отдръпне енергично. Потрепване непосредствено след отстраняване на влакното се счита също така за положителен отговор. Преместването се отчита като съмнителен отговор, и в тези случаи дразненето се повтаря.

Протокол за изследване

Животните се изследват в постоперативен ден 1 за FCA-третираната група. 50% праг на отдръпване се определя като се използва up-down (нарастване-снижаване) метод на Dixon (1980). Изследването започва с 2.04 г влакно, в средата на сериите. Дразненето се извършва последователно, или във възходящ или в низходящ ред. При отсъствие на отговор с отдръпване на лапата към първоначално избраното влакно, се осъществява по-силно дразнене; в случай на отдръпване на лапата, се избира по-слабо следващо дразнене. Изчислението на оптималния праг с този метод изисква 6 отговора в непосредствената близост до 50% праг, и отброяването на тези 6 отговора започва когато се появи първата промяна в отговора, напр. прагът се пресича за първи път. В случаите когато праговете попадат извън обхвата на дразненията, се получават стойности от 15.14 (нормална чувствителност) или 0.41 респективно (максимално алодинични). Получената закономерност на положителни и отрицателни отговори се нанася в таблица като се използва условието, X = няма отдръпване; 0 = отдръпване, и 50% праг на отдръпване се интерполира като се използва формулата:

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

където X_f = стойност на последното използвано von Frey влакно (log единици); k = таблична стойност (от Chaplan et

al. (1994)) за образците с положителни/отрицателни отговори; и δ = средна разлика между дразнения (log единици). Тук $\delta = 0.224$.

Von Frey праговете се превръщат в процент максимум възможен ефект (% MPE), съгласно Chaplan et al. 1994. Следното уравнение се използва за да се пресметне % MPE:

$$\% \text{ MPE} = \frac{\text{праг (g) на третирани с лекарство} - \text{праг (g) на алодиния}}{\text{праг (g) на контрола} - \text{праг (g) на алодиния}} \times 100$$

Прилагане на изпитвано съединение

Плъховете се инжектират (подкожно, интраперитонеално, интравенозно или орално) с изследвано съединение преди изследването на von Frey, времето между прилагането на изследваното съединение и теста на von Frey варира в зависимост от природата на изследваното съединение.

Тест за изпъване на тялото

Оцетната киселина предизвиква абдоминални контракции при интраперитонеално прилагане при мишки.

Те след това изпъват телата си в типична поза. Когато се прилагат аналгетици, това описано движение се наблюдава по-рядко и избраното лекарство представлява един добър кандидат.

Пълен и типичен рефлекс на изпъване се отчита само когато присъстват следните елементи: животното не се движи; долната част на гърба е слабо снижена; плантарната част на двете лапи се вижда. В този анализ, съединенията от изобретението демонстрират значително инхибиране на отговора с изпъване след орално дозиране на 1-100 $\mu\text{mol/kg}$.

(i) Приготвяне на разтвори

Оцетна киселина (AcOH): 120 μL оцетна киселина се добавят към 19.88 ml дестилирана вода за да се получи краен обем от 20 ml с крайна концентрация от 0.6% AcOH. След това

разтворът се смесва (вортекс) и е готов за инжекционно прилагане.

Съединение (лекарство): Всяко съединение се получава и разтваря в най-подходящия носител съгласно стандартните методи.

(ii) Прилагане на разтворите

Съединението (лекарство) се прилага орално, интраперитонеално (i.p.), подкожно (s.c.) или интравенозно (i.v.) при 10 ml/kg (като се има предвид средното тегло на мишка) 20,30 или 40 минути (съгласно класа съединение и неговите характеристики) преди изследването. Когато съединението се доставя централно: интравентрикуларно (i.c.v.) или интратекално (i.t.) се прилага обем от 5 μ L.

АСОН се прилага интраперитонеално (i.p.) на две места при 10 ml/kg (като се има предвид средното мише тегло) непосредствено преди изследването.

(iii) Изследване

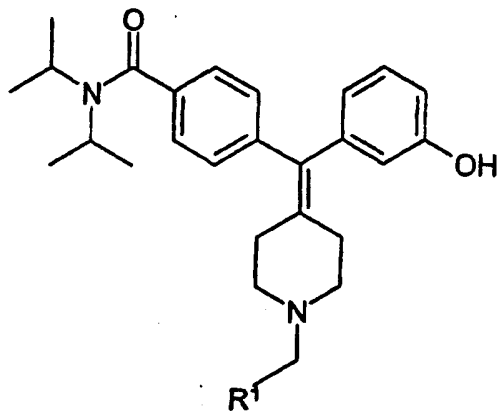
Животното (мишка) се наблюдава за период от 20 минути и броят събитията (рефлекс за изпъване) се записват и компилират в края на експеримента. Мишките се държат в отделни кафези "кутия за обувки" в съприкосновение със сламена настилка. По едно и също време се наблюдават 4 мишки: една контрола и три с доза лекарство.

За потиснатостта и потиснатост-подобни индикации, ефикасността се установява в конфликтен тест geller-seifter при плъх.

Ефикасността за функционална индикация за гастроинтестинално разстройство може да се установи в анализа, описан от Coutinho SV et al, в American Journal of Physiology-Gastrointestinal & Liver Physiology. 282 (2):G307-16, 2002 Feb, в плъх.

Патентни претенции

1. Съединение с формулата I



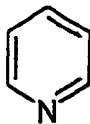
където

R¹ е избран от кой да е от

(i) фенил;



(ii) пиридинил



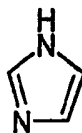
(iii) тиенил



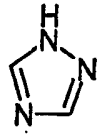
(iv) фуранил



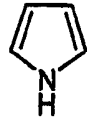
(v) имидазолил



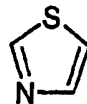
(vi) триазолил



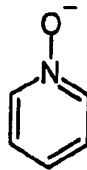
(vii) пиролил



(viii) тиазолил



(ix) пиридил-N-оксид



където всеки R^1 фенилов пръстен и R^1 хетероароматен пръстен може да бъде независимо допълнително заместен с 1, 2 или 3 заместители, избрани независимо от линеен и разклонен C_1-C_6 алкил, NO_2 , CF_3 , C_1-C_6 -алкокси, хлоро, флуоро, бромо и йодо, също и негови соли.

2. Съединение съгласно претенция 1, където всеки R^1 фенилов пръстен и R^1 хетероароматен пръстен може да бъде независимо допълнително заместен с 1, 2 или 3 заместители, независимо избрани от метил, CF_3 , хлоро, флуоро, бромо и йодо.

3. Съединение съгласно претенция 1, където всеки R^1 фенилов пръстен и R^1 хетероароматен пръстен може да бъде независимо допълнително заместен с метилова група.

4. Съединение съгласно претенция 1, където R^1 е фенил, пиролил, пиридинил, тиенил или фуранил.

5. Съединение съгласно претенция 1, избрано от:

4-[1-(1-бензил-пиперидин-4-илиден)-1-(3-хидрокси-фенил)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид;

4-[1-(3-хидрокси-фенил)-1-(1-тиофен-2-илметил-пиперидин-4-илиден)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид;

4-[1-(3-хидрокси-фенил)-1-(1-тиофен-3-илметил-пиперидин-4-илиден)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид;

4-[1-(3-хидрокси-фенил)-1-(1-пиридин-4-илметил-пиперидин-4-илиден)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид;

4-[1-(3-хидрокси-фенил)-1-(1-пиридин-2-илметил-пиперидин-4-илиден)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид;

4-[1-(1-фуран-2-илметил-пиперидин-4-илиден)-1-(3-хидрокси-фенил)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид;

4-[1-(3-хидрокси-фенил)-1-(1-тиазол-2-илметил-пиперидин-4-илиден)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид;

4-{1-(3-хидрокси-фенил)-1-[1-(1H-имидазол-2-илметил)-пиперидин-4-илиден]-метил}-N,N-диизопропил-бензамид;

4-[1[1-(4-бромо-бензил)-пиперидин-4-илиден]-1-(3-хидрокси-фенил)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид;

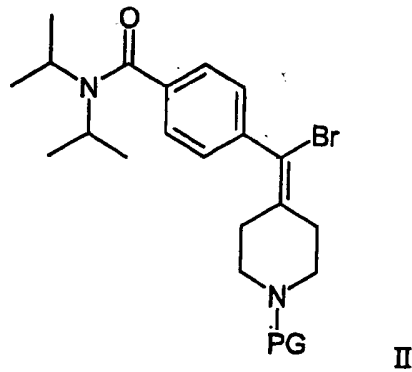
4-[1-(1-пирол-2-илметил-пиперидин-4-илиден)-1-(3-хидрокси-фенил)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид;

4-[1-[1-(4-метокси-бензил)-пиперидин-4-илиден]-1-(3-хидрокси-фенил)-метил]-N,N-диизопропил-бензамид и

4-[1-(1-фуран-3-илметил-пиперидин-4-илиден)-1-(3-хидрокси-фенил)-метил]-NN-диизопропил-бензамид.

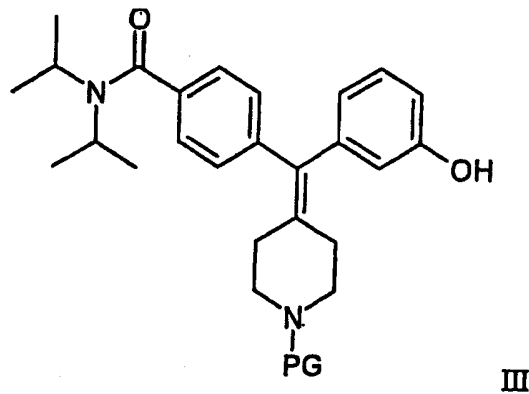
6. Съединение съгласно коя да е от предходните претенции, под формата на негови хидрогенхлоридна, дихидрогенхлоридна, сулфатна, тартаратна, дитрифлуоро-ацетатна или цитратна соли.

7. Метод за получаване на съединение с формула I, характеризиращ се с това, че съединение с общата формула II



където PG е уретанова защитна група, като например Boc или CBZ, или бензилова или заместена бензилова защитна група, като например 2,4-диметоксибензил,

взаимодейства с 3-хидроксифенилборна киселина, при използване на паладиев катализатор, напр. $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, в присъствието на основа, напр. Na_2CO_3 , при което се получават съединенията с общата формула III,



на които след това се премахва защитата при стандартни условия и се алкилират при редуционни условия със съединение с общата формула $\text{R}^1\text{-CHO}$, при което се получават съединения с общата формула I.

8. Съединение съгласно претенция 1 за използване за лечение.

9. Съединение съгласно претенция 8, където лечението е лечение на болка.

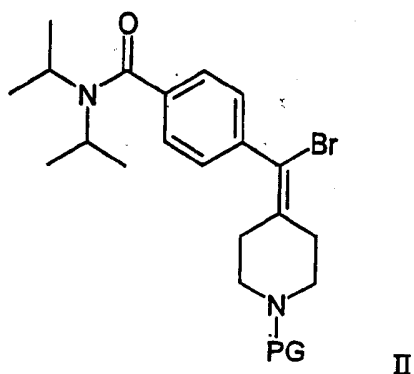
10. Фармацевтичен състав, характеризиращ се с това, че включва съединение с формула I съгласно претенция 1 като активен компонент, заедно с фармацевтично приемлив носител.

11. Използване на съединение с формула I съгласно претенция 1 за лечение на болка, при което ефективно количество от споменатото съединение се прилага върху субект, нуждаещ се от лечение на болка.

12. Използване на съединение с формула I съгласно претенция 1 за лечение на функционални стомашно-чревни разстройства, при което ефективно количество от споменатото съединение се прилага върху субект, страдащ от споменатото функционално стомашно-чревно разстройство.

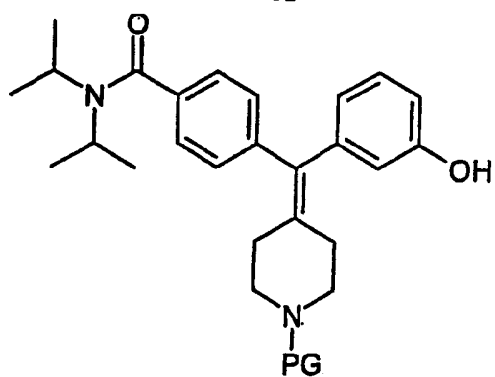
13. Използване на съединение с формула I съгласно претенция 1 за лечение на потиснатост, при което ефективно количество от споменатото съединение се прилага върху субект, страдащ от споменатата потиснатост.

14. Съединение с общата формула II



където PG е уретанова защитна група като например Boc или CBZ, или бензилова или заместена бензилова защитна група, като например 2,4-диметоксибензил.

15. Съединение с общата формула III



III

където PG е уретанова защитна група като например Boc или CBZ, или бензилова или заместена бензилова защитна група, като например 2,4-диметоксибензил.