

Винахід відноситься до нових, фармацевтично активних, конденсованих гетероциклічних сполук та способів їх використання для лікування або попередження розладів та станів, опосередкованих H₄ рецептором гістаміну.

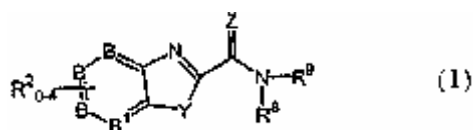
Вперше гістамін ідентифікували як гормон [G. Barger та H.H. Dale, J. Physiol. (London) 1910, 41:19-59], та з того часу було продемонстровано, що він відіграє головну роль в різноманітних фізіологічних процесах, включаючи запальну "потрійну реакцію" за допомогою H₁ рецепторів [A.S.F. Ash та H.O. Schild, Br. J. Pharmac. Chemother. 1966, 27:427-439], секрецію шлункової кислоти за допомогою H₂ рецепторів [J.W. Black та інші, Nature 1972, 236:385-390] та нейротрансмітерне вивільнення в центральній нервовій системі за допомогою H₃ рецепторів [J.-M. Arrang та інші, Nature 1983, 302:832-837] [для огляду див. S.J. Hill та інші, Pharmacol. Rev. 1997, 49(3):253-278]. Було продемонстровано, що всі три підтипи рецептора гістаміну є членами надсімейства G протеїн-зв'язуючих рецепторів [I. Gantz та інші, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1991, 88:429-433; T.W. Lovenberg та інші, Mol. Pharmacol. 1999, 55(6): 1101-1107; M. Yamashita та інші, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1991, 88:11515-11519]. Проте, існують додаткові функції гістаміну, що були описані, для яких не було визначено рецептор. Наприклад, в 1994 Raible та інші продемонстрували, що гістамін та R- α -метилгістамін міг би активувати мобілізацію кальцію в людських еозинофілах [D.G. Raible та інші, Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1994, 149:1506-1511]. Ці реакції були блоковані за допомогою антагоніста тіопераміду H₃-рецептора. Проте, R- α -метилгістамін був значно менш ефективним, ніж гістамін, який був несумісним з залученням відомих підтипів H₃ рецептора. Таким чином, Raible та інші припустили існування нового рецептора гістаміну на еозинофілах, що був не-H₁, не-H₂ та не-H₃. Зовсім недавно декількома групами [T. Oda та інші, J. Biol. Chem. 2000, 275(47):36781-36786; C. Liu та інші, Mol. Pharmacol. 2001, 59(3):420-426; T. Nguyen та інші, Mol. Pharmacol. 2001, 59(3):427-433; Y. Zhu та інші, Mol. Pharmacol. 2001, 59(3):434-441; K.L. Morse та інші, J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001, 296(3): 1058-1066] було визначено та охарактеризовано четвертий підтип рецептора гістаміну, H₄ рецептор. Цей рецептор є 390 амінокислотним, семимембранним, G протеїн-зв'язуючим рецептором з приблизно 40% гомологією до H₃ рецептора гістаміну. На відміну від H₃ рецептора, який в основному розташований в мозку, H₄ рецептор виражений на більших рівнях в нейрофілах та мастоцитах, серед інших клітин, як описано Morse та інші. [див. вище].

Події, які викликають запальну реакцію, включають фізичне подразнення (включаючи травму), хімічне подразнення, інфекцію та вторгнення інородного тіла. Запальна реакція характеризується болем, підвищеною температурою, почервонінням, опуханням, зниженням діяльності або їх комбінацією. Багато станів, таких як алергії, астма, хронічна обструктивна легенева хвороба (COPD), атеросклероз, та аутоімунні хвороби, включаючи ревматоїдний артрит та вовчак, характеризуються надмірним або тривалим запаленням. Інгибування поповнення лейкоцитів може забезпечити істотне терапевтичне значення. Запальні розлади або розлади чи стани, опосередковані запаленням, включають, але не обмежуються, гостре запалення, алергічне запалення, та хронічне запалення.

Дегрануляція мастоцитів (екзоцитоз) приводить до запальної реакції, яка спочатку може бути охарактеризована за допомогою гістамін-модульованого пухиря та запальної реакції. Широка різноманітність імунологічних (наприклад, алергени або антитіла) та неімунологічних (наприклад, хімічні) стимулів може викликати активацію, поповнення та дегрануляцію мастоцитів. Активація мастоцитів ініціює алергічні (H) запальні реакції, які, в свою чергу, викликають поповнення інших клітин-ефекторів, які надалі сприяють запальній реакції. H₂ рецептори гістаміну модулюють секрецію шлункової кислоти, та H₃ рецептори гістаміну уражають вивільнення нейротрансмітеру в центральній нервовій системі.

Приклади посібників на тему запалення включають [J.I. Gallin та R. Snyderman, Inflammation: Basic Principles та Clinical Correlates, 3-я редакція, (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 1999); V. Stvrtnova, J. Jakubovsky та I. Hulmi "Inflammation та Fever", Pathophysiology Principles of Diseases (Textbook for Medical Students, Academic Press, 1995); Cecil та інші, Textbook Of Medicine. 18-а редакція (W.B. Saunders Company, 1988); та Steadmans Medical Dictionary].

Винахід відноситься до сполук формули (I):

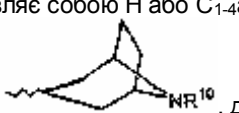


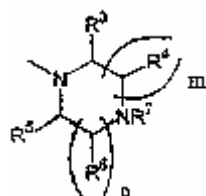
в якій

B та B¹ являють собою C, або один з B та B¹ може бути N;

Y являє собою O, S або NH;

Z являє собою O, S або NR^Z, де R^Z являє собою H або C₁₋₄алкіл;

R⁸ являє собою H та R⁹ являє собою , де R¹⁰ являє собою H або C₁₋₄алкіл, або R⁸ та R⁹ взяті разом з N, до якого вони приєднані, утворюють радикал



n означає 1 або 2;

m означає 1 або 2;

n+m означає 2 або 3;

R² являє собою, незалежно, H, F, Cl, Br, I, C₁₋₄алкіл, C₁₋₄алкокси, -C₃₋₆циклоалкіл, -OC₃₋₆циклоалкіл, -OCH₂Ph, -CF₃, -OCF₃, -SCF₃, -OH, -(C=O)R^k (де R^k являє собою H, C₁₋₄алкіл, -OH, феніл, бензил, фенетил або C₁₋₆алкокси), -(N-R^l)(C=O)R^k (де R^l являє собою H або C₁₋₄алкіл), -(N-R^l)SO₂ C₁₋₄алкіл, -(S(O)_p)-C₁₋₄алкіл (де p означає 0, 1 або 2), нітро, -NR^mRⁿ (де R^l та R^m незалежно вибрані з H, C₁₋₄алкілу, фенілу, бензилу або фенетилу, або R^l та R^m взяті разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють 4-7 членне гетероциклічне кільце з 0 або 1 додатковим гетероатомом, вибраним з O, S, NH або NC₁₋₄алкіл), -SO₂NR^m, -(C=O)NR^m, ціано або феніл, де будь-який вищезгаданий фенільний або алкільний, або циклоалкільний компонент необов'язково та незалежно заміщений 1-3 замісниками, вибраними з C₁₋₃алкілу, галогену, гідрокси, аміно та C₁₋₃алкокси;

R³ і R⁴ являють собою, незалежно, H, C₁₋₄алкіл, C₃₋₆циклоалкіл, C₁₋₄алкіл(C₃₋₆циклоалкіл), ціано, -CF₃, -(CO)NR^pR^q, -(CO)OR^r, -CH₂NR^pR^q або -CH₂OR^r; де R^p, R^q і R^r незалежно вибрані з H, C₁₋₄алкілу, C₃₋₆циклоалкілу, фенілу, -C₁₋₂алкіл(C₃₋₆циклоалкіл), бензилу або фенетилу, або R^p і R^q взяті разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють 4-7 членне гетероциклічне кільце з 0 або 1 додатковим гетероатомом, вибраним з O, S, NH або NC₁₋₆алкіл, і де будь-який вищезгаданий фенільний або алкільний, або циклоалкільний компонент необов'язково та незалежно заміщений 1-3 замісниками, вибраними з C₁₋₃алкілу, галогену, гідрокси, аміно та C₁₋₃алкокси;

R⁵ і R⁶ являють собою, незалежно, H або C₁₋₆алкіл;

R⁷ являє собою -R^a, -R^bR^a, -R^e-O-R^a або -R^e-N(R^c)(R^d), де R^a являє собою H, ціано, -(C=O)N(R^c)(R^d), -(C=NH)(NH₂), C₁₋₁₀алкіл, C₂₋₈алкеніл, C₃₋₈циклоалкіл, C₄₋₇гетероциклічний радикал або феніл, де C₄₋₇гетероциклічний радикал приєднаний до атому вуглецю і містить один з O, S, NH або NC₁₋₄алкіл, і необов'язково додатковий NH або NC₁₋₆алкіл в 5- або 6-, або 7-членних кільцях, де R^e являє собою C₁₋₈алкілен або C₂₋₈алкенілен, де R^c і R^d являють собою кожний незалежно H, C₁₋₄алкіл, C₂₋₄алкеніл, C₃₋₆циклоалкіл або феніл, або R^c і R^d взяті разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють 4-7 членне гетероциклічне кільце з 0 або 1 додатковим гетероатомом, вибраним з O, S, NH або NC₁₋₆алкіл, і де будь-який вищезгаданий фенільний або алкільний, або циклоалкільний компонент необов'язково та незалежно заміщений 1-3 замісниками, вибраними з C₁₋₃алкілу, галогену, гідрокси, аміно та C₁₋₃алкокси;

альтернативно, R⁷ може бути взятий разом з сусіднім R⁴, а також з атомами вуглецю та азоту, до яких вони приєднані, утворюючи 5, 6 або 7 членне гетероциклічне кільце з 0 або 1 додатковим гетероатомом, вибраним з O, S, NH або NC₁₋₆алкіл, та необов'язково і незалежно заміщений 1-3 замісниками, вибраними з C₁₋₃алкілу, галогену, гідрокси, аміно та C₁₋₃алкокси;

та їх енантимери, діастереомери та фармацевтично прийнятні солі та ефіри,

за наступних умов:

що R⁶, сусідній з N, повинен бути H, в тих випадках, коли R⁴, сусідній з N, є іншим, ніж H, та

що R² не може бути бензоїлом, коли один з R⁴ та R⁶ являє собою метил та інший являє собою водень.

Винахід також відноситься до фармацевтичних композицій, що містять такі сполуки, та до способів використання таких композицій для лікування або попередження H₄-осередкованих розладів та станів, особливо тих, де бажано протидіяти H₄ рецептору.

Переважно, B та B¹ являють собою C, або B¹ може бути N.

Більш переважно, B та B¹ являють собою C.

Переважно, Y являє собою NH.

Переважно, Z являє собою O.

Переважно, R¹ являє собою H або метил.

Переважно, n означає 1 та m означає 1.

Переважно, R² є незалежно, вибраним з групи, яка містить H, -F, -Cl, -Br, -I, -CH₃, -CH₂CH₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -OCH(CH₃)₂, циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил, -Оциклопентил, -Оциклогексил, -CF₃, -OCF₃, -SCF₃, -C(O)CH₃, -C(O)CH₂CH₃, -OH, -COOH, -C(O)феніл, -C(O)бензил, -COOCH₃, -COOCH₂CH₃, -NHCOCH₃, -NCH₃COCH₃, -NHCO₂CH₃, -NCH₃SO₂CH₃, -SOCH₃, -SO₂CH₃, -NO₂, -NH₂, -NHCH₃, -N(CH₃)₂, -N(CH₂CH₃)₂, -піролідін-1-іл, -імідазолідін-1-іл, -піразолідін-1-іл, -піперидин-1-іл, -піперазин-1-іл, -морфолін-4-іл, -тіоморфолін-4-іл, -SO₂NH₂, -SO₂NHCH₃, -SO₂N(CH₃)₂, -SO₂N(CH₂CH₃)₂, -SO₂піролідін-1-іл, -SO₂імідазолідін-1-іл, -SO₂піразолідін-1-іл, -SO₂піперидин-1-іл, -SO₂піперазин-1-іл, -SO₂морфолін-4-іл, -SO₂тіоморфолін-4-іл, -C(O)NH₂, -C(O)N(CH₃)₂, -C(O)NH(CH₃), -C(O)N(CH₂CH₃)₂, -C(O)піролідін-1-іл, -C(O)імідазолідін-1-іл, -C(O)піразолідін-1-іл, -C(O)піперидин-1-іл, -C(O)піперазин-1-іл, -C(O)морфолін-4-іл, -C(O)тіоморфолін-4-іл, -CN та феніл.

Більш переважно, R² є, незалежно, вибраний з групи, яка містить водень, метил, трифторметил, метокси, трифторметокси, нітро, хлоро, фторо та бензоїл. Надалі, найбільш переважно вважають, що один або два R² не є воднем.

Переважно, R³ та R⁴ є незалежно вибраними з групи, яка містить

a) H,

b) -CH₃, -CH₂CH₃, -CH₂CH₂CH₃, -CH(CH₃)₂, н-бутил, ізо-бутил, трет-бутил,

c) циклопропіл, циклопентил, циклогексил, -CH₂циклопропіл, -CH₂циклопентил, -CH₂циклогексил, -CH₂Оциклопропіл, -CH₂Оциклопентил, -CH₂Оциклогексил

d) ціано,

e) трифторметил,

f) -(C=O)NH₂, -(C=O)NHC₁₋₄алкіл, -(C=O)N(C₁₋₄алкіл)₂, -(C=O)NHфеніл, -(C=O)піролідін-1-іл, -(C=O)імідазолідін-1-іл, -(C=O)піразолідін-1-іл, -(C=O)піперидин-1-іл, -(C=O)піперазин-1-іл, -(C=O)морфолін-4-іл, (C=O)тіоморфолін-4-іл

g) -COOH, -COOCH₃, -COOCH₂CH₃, -COOфеніл, -COOбензил,

h) -CH₂NH₂, -CH₂NHC₁₋₄алкіл, -CH₂N(C₁₋₄алкіл)₂, -CH₂NHфеніл, -CH₂NHбензил, -CH₂піролідін-1-іл, -CH₂імідазолідін-1-іл, -CH₂піразолідін-1-іл, -CH₂піперидин-1-іл, -CH₂піперазин-1-іл, -CH₂морфолін-4-іл, -CH₂тіоморфолін-4-іл,

i) $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{O}-\text{n-бутил}$, $-\text{CH}_2\text{O}-\text{ізо-бутил}$, $-\text{CH}_2\text{O}-\text{трет-бутил}$, $-\text{CH}_2\text{O}$ феніл, $-\text{CH}_2\text{O}$ бензил та $-\text{CH}_2\text{OCH}_2$ циклопропіл.

Переважно, R_3 та R_4 являють собою, незалежно, H або $-\text{CH}_3$.

Переважно, R_5 та R_6 є, незалежно, вибраними з групи, що складається з H та метилу.

Більш переважно, R_5 та R_6 являють собою H .

Переважно, R_7 вибраний з групи, що складається з

a) H , $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$,

b) ціано,

c) $-(\text{C}=\text{O})\text{NH}_2$, $-(\text{C}=\text{O})\text{NHC}_{1-4}\text{алкіл}$, $-(\text{C}=\text{O})\text{N}(\text{C}_{1-4}\text{алкіл})_2$, $-(\text{C}=\text{O})\text{NH}$ феніл, $-(\text{C}=\text{O})$ піролідін -1-іл, $-(\text{C}=\text{O})$ імідазолідін -1-іл, $-(\text{C}=\text{O})$ піразолідін -1-іл, $-(\text{C}=\text{O})$ піперидин -1-іл, $-(\text{C}=\text{O})$ піперазин -1-іл, $-(\text{C}=\text{O})$ морфолін -4-іл, $-(\text{C}=\text{O})$ тіоморфолін -4-іл, $-\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})\text{NHC}_{1-4}\text{алкіл}$, $-\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})\text{N}(\text{C}_{1-4}\text{алкіл})_2$, $-\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})\text{NH}$ феніл, $-\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})$ піролідін -1-іл, $-\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})$ імідазолідін -1-іл, $-\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})$ піразолідін -1-іл, $-\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})$ піперидин -1-іл, $-\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})$ піперазин -1-іл, $-\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})$ морфолін -4-іл, $-\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})$ тіоморфолін -4-іл, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{NHC}_{1-4}\text{алкіл}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{N}(\text{C}_{1-4}\text{алкіл})_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{NH}$ феніл, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{C}=\text{O})$ піролідін -1-іл, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{C}=\text{O})$ імідазолідін -1-іл, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{C}=\text{O})$ піразолідін -1-іл, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{C}=\text{O})$ піперидин -1-іл, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{C}=\text{O})$ піперазин -1-іл, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{C}=\text{O})$ морфолін -4-іл, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{C}=\text{O})$ тіоморфолін -4-іл,

d) $-\text{C}(\text{NH})(\text{NH}_2)$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{NH})(\text{NH}_2)$,

e) $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, n-бутил , ізо-бутил , трет-бутил , $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{n-бутил}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{ізо-бутил}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{трет-бутил}$,

f) $-\text{CH}=\text{CH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$,

g) циклопропіл, циклопентил, циклогексил, $-\text{CH}_2$ циклопропіл, $-\text{CH}_2$ циклопентил, $-\text{CH}_2$ циклогексил, $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ Оциклопропіл, $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ Оциклопентил, $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ Оциклогексил,

h) піролідиніл, імідазолідиніл, піразолідиніл, піперидиніл, піперазиніл, морфолініл, тіоморфолініл, $-\text{CH}_2$ піролідиніл, $-\text{CH}_2$ імідазолідиніл, $-\text{CH}_2$ піразолідиніл, $-\text{CH}_2$ піперидиніл, $-\text{CH}_2$ піперазиніл, $-\text{CH}_2$ морфолініл, $-\text{CH}_2$ тіоморфолініл,

i) $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}_{1-4}\text{алкіл}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_{1-4}\text{алкіл})_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ феніл, $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ піролідін-1-іл, $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ імідазолідін-1-іл, $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ піразолідін-1-іл, $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ піперидин-1-іл, $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ піперазин-1-іл, $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ морфолін-4-іл, $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ тіоморфолін-4-іл,

j) феніл, бензил, фенетил та бензилоксиметил.

Більш переважно, R^7 вибраний з групи, що складається з H , $-\text{CH}_3$ та $-\text{CH}_2\text{CH}_3$.

Переважно R^7 взятий разом з сусіднім R^4 , а також з атомами вуглецю та азоту, до яких вони приєднані, являє собою піролідін-1,2-іл, імідазолідін-1,2-іл, імідазолідін-1,5-іл, піразолідін-1,5-іл, піперидин-1,2-іл, піперазин-1,2-іл, морфолін-4,5-іл та тіоморфолін-4,5-іл.

Переважно R^7 взятий разом з сусіднім R^4 , а також з атомами вуглецю та азоту, до яких вони приєднані, являє собою піролідін-1,2-іл та піперидин-1,2-іл.

Термін "їх фармацевтично прийнятні солі та ефіри" відноситься до тих форм солі та ефіру сполук за даним винаходом, які були б очевидними хіміку-фармацевту, тобто, ті, які є нетоксичними та які сприятливо впливали б на фармакокінетичні властивості згаданих сполук за даним винаходом. Ті сполуки, які мають позитивні фармакокінетичні властивості, були б очевидними хіміку-фармацевту, тобто, ті, які є нетоксичними та які мають такі фармакокінетичні властивості, щоб забезпечити достатню смакову привабливість, абсорбцію, розповсюдження, метаболізм та виділення. Інші чинники, більш практичні по природі, які також важливі при виборі, являють собою витрати сировини, простоту кристалізації, вихід, стабільність, гігроскопічність та плинність одержаних масових ліків. Крім того, прийнятні солі карбоксилатів включають натрій, калій, кальцій та магній. Приклади прийнятних катіонних солей включають солі бромистоводневої кислоти, йодистоводневої кислоти, соляної кислоти, перхлорної кислоти, сірчаної кислоти, малеїнової кислоти, фумарової кислоти, яблуневої кислоти, винної кислоти, лимонної кислоти, бензойної кислоти, мигдалевої кислоти, метансульфонової кислоти, гідроетансульфонової кислоти, бензолсульфонової кислоти, щавлевої кислоти, памоїнової кислоти, 2-нафталінсульфонової кислоти, р-толуолсульфонової кислоти, циклогексансульфамінової кислоти та сахарної кислоти. Приклади прийнятних ефірів включають такі ефіри, де один або більше карбоксильних замісників замінені на р-метоксибензилоксикарбоніл, 2,4,6-триметилбензилоксикарбоніл, 9-антрилоксикарбоніл, $\text{CH}_3\text{SCH}_2\text{COO}-$, тетрагідрофур-2-илоксикарбоніл, тетрагідропіран-2-илоксикарбоніл, фур-2-илоксикарбоніл, бензоїлметоксикарбоніл, р-нітробензилоксикарбоніл, 4-піридилметоксикарбоніл, 2,2,2-трихлоретоксикарбоніл, 2,2,2-триброметоксикарбоніл, трет-бутилоксикарбоніл, трет-амілоксикарбоніл, дифенілметоксикарбоніл, трифенілметоксикарбоніл, адамантилоксикарбоніл, 2-бензилоксибензилоксикарбоніл, 4-метилтіофенілоксикарбоніл, або тетрагідропіран-2-илоксикарбоніл.

Умови базуються на нездатності знайти активність, принаймні, однієї сполуки, відповідаючи специфікаціям кожної умови.

Переважні сполуки Формули I, були одержані, як описано в Прикладах 1-45 та Схемах 1-4, та вибрані з групи, яка містить:

Прикл.	Сполука
1	(1H-Бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
2	(1H-Бензоімідазол-2-іл)-(4-етил-піперазин-1-іл)-метанон;
3	(1H-Бензоімідазол-2-іл)-(3-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
4	(1H-Бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-[1,4]діазепан-1-іл)-метанон;
5	(8-метил-8-аза-біцикло[3.2.1]окт-3-іл)-амід 1H-бензоімідазол-2-карбонової кислоти;
6	(5-Хлоро-1H-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
7	(5-Хлоро-1H-бензоімідазол-2-іл)-піперазин-1-іл-метанон;
8	(5-Хлоро-1H-бензоімідазол-2-іл)-(3-метил-піперазин-1-іл)-метанон;

9	(5,6-Дифтор-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
10	(5,6-Дифтор-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-ethyl-піперазин-1-іл)-метанон;
11	(5,6-Дифтор-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(3-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
12	(5,6-Дифтор-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-[1,4]діазепан-1-іл)-метанон;
13	(8-метил-8-аза-біцикло[3.2.1]окт-3-ил)-амід 5,6-дифтор-1Н-бензоімідазол-2-карбонової кислоти;
14	(6-Хлоро-5-фтор-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
15	(6-Хлоро-5-фтор-1Н-бензоімідазол-2-іл)-піперазин-1-іл-метанон;
16	(6-Хлоро-5-фтор-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-[1,4]діазепан-1-іл)-метанон;
17	(8-метил-8-азабіцикло[3.2.1]окт-3-ил)-амід 6-хлоро-5-фтор-1Н-бензоімідазол-2-карбонової кислоти;
18	(5-Хлоро-6-метил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
19	(5-Хлоро-6-метил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-піперазин-1-іл-метанон;
20	(4-Метил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(3-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
21	(4-Етил-піперазин-1-іл)-(4-метил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-метанон;
22	(4-Метил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
23	(4-Метил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-піперазин-1-іл-метанон;
24	(8-метил-8-аза-біцикло[3.2.1]окт-3-ил)-амід 4-метил-1Н-бензоімідазол-2-карбонової кислоти;
25	(8-метил-8-аза-біцикло[3.2.1]окт-3-ил)-амід 5-метил-1Н-бензоімідазол-2-карбонової кислоти;
26	(5-Метил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
27	(4-Метил-піперазин-1-іл)-(5-трифторметил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-метанон;
28	Піперазин-1-іл-(5-трифторметил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-метанон;
29	(5-Фтор-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
30	(4-Етил-піперазин-1-іл)-(5-фтор-1Н-бензоімідазол-2-іл)-метанон;
31	(5-Фтор-1Н-бензоімідазол-2-іл)-піперазин-1-іл-метанон;
32	(5-Фтор-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(3-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
33	(8-метил-8-аза-біцикло[3.2.1]окт-3-ил)-амід 5-фтор-1Н-бензоімідазол-2-карбонової кислоти;
34	(3Н-Імідазо[4,5- <i>b</i>]піридин-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
35	Бензооксазол-2-іл-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
36	(7-Метил-бензооксазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
37	(5-Метил-бензооксазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
38	(4-Метил-бензооксазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
39	Бензотіазол-2-іл-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
40	(5-Бензоіл-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
41	(4-Хлоро-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
42	(4-Метил-піперазин-1-іл)-(4-нітро-1Н-бензоімідазол-2-іл)-метанон;
43	(4-Аміно-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
44	(4-Ізопропіламіно-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон; та
45	С-(5-Хлоро-1Н-бензоімідазол-2-іл)-С-(4-метил-піперазин-1-іл)-метиленамін

Додаткові переважні сполуки Формули I були одержані відповідно до способів синтезу, які наведені на Схемах 1-3, та вибрані з групи, яка містить:

Прикл.	Сполука
46	(4,6-Дифтор-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
47	(4-Метил-піперазин-1-іл)-(5-нітро-1Н-бензоімідазол-2-іл)-метанон;
48	(5-Фтор-4-метил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон; та
49	(5-Бром-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон

Інші переважні сполуки Формули I були одержані відповідно до способів синтезу, які наведені на Схемах 1-3, та вибрані з групи, яка містить:

Прикл.	Сполука
50	(5,6-Дихлоро-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
51	(4,5-Диметил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
52	(5,6-Диметил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
53	(5-Метокси-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
54	(5-Хлоро-бензооксазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
55	(5-Фтор-бензооксазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
56	(6-Фтор-бензооксазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
57	(5,7-Дифтор-бензооксазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон;
58	(4-Метил-піперазин-1-іл)-(5-трифторметокси-бензооксазол-2-іл)-метанон;
59	(5-Хлоро-бензотіазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон; та
60	(4-Метил-піперазин-1-іл)-(5-трифторметил-бензотіазол-2-іл)-метанон

Наступні терміни визначено нижче та при їх використанні в описі винаходу.

Термін "алкіл" включає вуглеводні з лінійним або розгалуженим ланцюгом з, принаймні, одним видаленим воднем для утворення радикальної групи. Алкільні групи включають метил, етил, пропіл, ізопропіл, бутіл, ізобутіл, трет-бутіл, 1-метилпропіл, пентил, ізопентил, втор-пентил, гексил, гептил, октил і так далі. Алкіл не включає циклоалкіл.

Термін "алкеніл" включає вуглеводневі радикали з лінійним або розгалуженим ланцюгом, як вказано вище, з, принаймні, одним вуглець-вуглець подвійним зв'язком (sp^2). Алкеніли включають етеніл (або вініл),

проп-1-еніл, проп-2-еніл (аліл), ізопропеніл (або 1-метилвініл), бут-1-еніл, бут-2-еніл, бутадієніли, пентеніли, гекса-2,4-дієніл і так далі. Алкеніл не включає циклоалкеніл.

Термін "алкокси" включає алکیلну групу з лінійним або розгалуженим ланцюгом з кінцевим киснем, що зв'язує алکیلну групу з залишком молекули. Алкокси включає метокси, етокси, пропокси, ізопропокси, бутокси, трет-бутокси, пентокси і так далі. Терміни "аміноалкіл", "тіоалкіл" та "сульфоніалкіл" є аналогічними алкокси, в яких кінцевий атом кисню алкокси замінено на, відповідно, NH (або NR), S, та SO₂.

Термін "циклоалкіл" включає циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил і так далі.

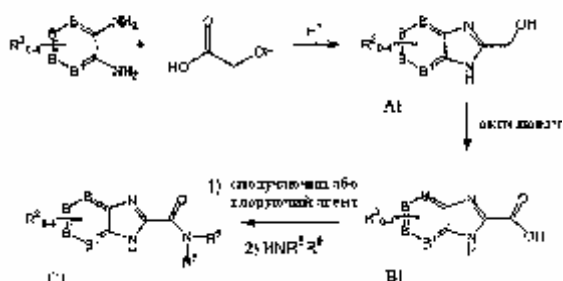
Термін "галоген" включає фтор, хлор, бром та йод, та, переважно, фтор або хлор.

Терміни "пацієнт" або "суб'єкт" включають ссавців, таких як людина та тварини (собаки, коти, коні, щури, кролики, миші, нелюдиноподібні примати), які потребують обстеження, експерименту, лікування або попередження у зв'язку з релевантними хворобою або станом. Переважно, пацієнтом є людина.

Термін "композиція" включає продукт, який містить визначені інгредієнти у визначених кількостях, а також і будь-який продукт, що одержують безпосередньо або опосередковано з комбінації визначених інгредієнтів у визначених кількостях.

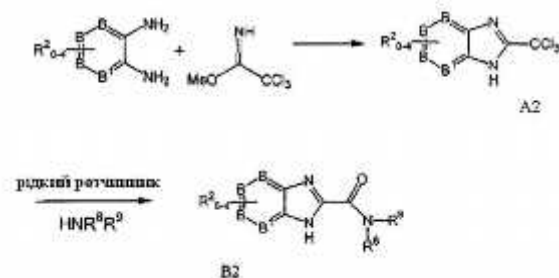
Сполуки, описані вище, може бути одержані відповідно до способів, які відомі з рівня техніки та/або які описані в схемах та прикладах, які наведено далі. Щоб отримати різні сполуки за даним винаходом, як вихідні речовини можуть бути використані ті, які мають в основі бажані замісники, хоча схема реакції з або без захисту є прийнятною. Альтернативно, може бути необхідно використання, в місці основи бажаного замісника, прийнятної групи, яка може бути збережена до кінця схеми реакції та замінена, як прийнятна, бажаним замісником.

СХЕМА 1



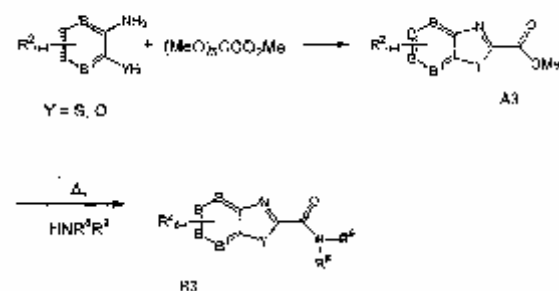
Посилаючись на Схему 1, описано наступні посилання та доповнення. Вихідні речовини та HNR⁸R⁹ комерційно доступні або їх синтези є відомими з рівня техніки.

СХЕМА 2



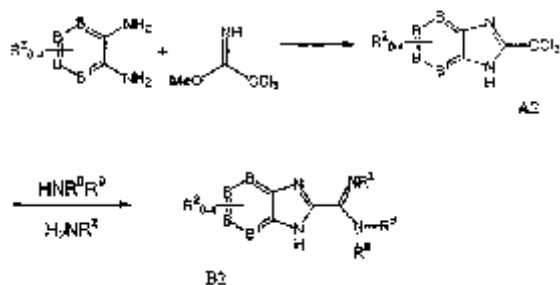
Посилаючись на Схему 2, описано наступні посилання та доповнення. Вихідні речовини та HNR⁸R⁹ комерційно доступні або їх синтези є відомими з рівня техніки. Вихідні речовини конденсують, щоб одержати бензimidазол A2. Атоми хлору бензimidазолу A2 замінюють конденсацією з вторинним аміном з супутнім гідролізом, що приводить до утворення сполуки B2. Високі виходи сполуки B2 можуть бути одержані в тих випадках, коли використовують слабку водну основу в реакціях конденсації та гідролізу. Прийнятними слабкими водними основами є 2N K₂CO₃, 2N NaHCO₃, 0,1N NaOH, тощо.

СХЕМА 3



Посилаючись на Схему 3, описано наступні посилання та доповнення. Вихідні речовини та HNR^8R^9 комерційно доступні або їх синтези є відомими з рівня техніки.

СХЕМА 4



Посилаючись на Схему 4, описано наступні посилання та доповнення. Вихідні речовини конденсують, щоб одержати бензimidазол A2. Атоми хлору бензimidазолу A2 замінюють конденсацією з вторинним аміном з супутнім амінолізом з первинним аміном, щоб одержати сполуку B2. Для високих виходів сполуки B2 вторинний амін необхідно додаватися перед первинним аміном.

Експресія H_4 рецептора в імунних клітинах, включаючи деякі лейкоцити та мастоцити, визначає його, як важливий об'єкт для терапевтичного втручання в ряді імунологічних та запальних розладів (таких як алергічне, хронічне або гостре запалення). Особливо очікують, що ліганди H_4 рецептора будуть корисними для лікування або запобігання різним хворобливим станам ссавців.

Таким чином, відповідно до даного винаходу розкриті сполуки, які є антагоністами H_4 рецептора, та композиції є корисними для поліпшення симптомів, пов'язаних з лікуванням та запобіганням наступним станам та хворобам: запальні розлади, астма, псоріаз, ревматоїдний артрит, виразковий коліт, хвороба Крона, запальна кишкова хвороба, розсіяний склероз, алергічні розлади, алергічний риніт, дерматологічні розлади, аутоімунна хвороба, лімфатичні розлади, атеросклероз та імонодефіцитні розлади. Описані сполуки можуть бути також корисними як допоміжні засоби в хіміотерапії або при лікуванні сверблячки шкіри.

Аспекти винаходу включають (а) фармацевтичну композицію, що містить сполуку формули (I) або одну або більше переважних сполук, як описано в даній заявці, та фармацевтично прийнятний носій; (b) упаковані ліки, що включають (1) фармацевтичну композицію, що містить сполуку формули (I) та фармацевтично прийнятний носій, та (2) інструкцію для введення згаданої композиції для лікування або запобігання H_4 -опосередкованої хвороби або стану.

Винахід також включає спосіб лікування H_4 -опосередкованого стану у пацієнта, згаданим способом, який включає введення пацієнту фармацевтично ефективної кількості композиції, яка містить сполуку формули (I) та інші описані або переважні сполуки. Наприклад, винахід включає спосіб лікування H_4 -опосередкованого стану у пацієнта, згаданим способом, який включає введення пацієнту фармацевтично ефективної H_4 -протидіючої кількості композиції, яка містить сполуку формули (I).

Вплив антагоніста може також бути викликаний зворотним агоністом. Зворотний агонізм описує властивість сполуки активно закривати рецептор, що проявляє конститутивну активність. Конститутивна активність може бути визначена в клітинах, які були примушені до над-експресії людського H_4 -рецептора. Конститутивна активність може бути виміряна за допомогою дослідження cAMP рівнів або за допомогою вимірювання репортерного гену, чутливого до cAMP рівнів, після обробки cAMP-стимулюючим агентом, таким як форсколін. Клітини, що над-експресують H_4 рецептори, будуть проявляти більш низькі cAMP рівні після обробки форсколіном, ніж не-експресуючі клітини. Сполуки, які поведуться, як H_4 агоністи, будуть, залежно від дози, знижувати форсколін-стимулюючі cAMP рівні в H_4 -експресуючих клітинах. Сполуки, які поведуться, як зворотні H_4 агоністи, будуть, залежно від дози, стимулювати cAMP рівні в H_4 -експресуючих клітинах. Сполуки, які поведуться, як H_4 антагоністи, будуть блокувати або H_4 агоніст-викликане інгібування cAMP, або зворотне H_4 агоніст-викликане зростання в cAMP.

Подальші втілення винаходу включають описані сполуки, що є інгібіторами функції H_4 рецептора гістаміну у ссавців, інгібіторами запалення або запальної реакції in vivo або in vitro, модуляторами експресії протеїну H_4 рецептора гістаміну у ссавців, інгібіторами активації поліморфно-ядерних лейкоцитів in vivo або in vitro, або комбінації вище згаданого, та відповідні способи лікування, профілактики та діагностики, що включають використання описаних сполук.

Кваліфікований фахівець в даній області техніки зможе визначити, відповідно до відомих способів, прийнятне дозування для пацієнта, беручи до уваги чинники, такі як вік, вага, загальний стан здоров'я, тип симптомів, що потребують лікування, та наявність інших медикаментозних лікувань. Загалом, ефективна кількість буде між 0,01 та 1000мг/кг на день, переважно між 0,5 та 300мг/кг ваги тіла, та щоденні дозування будуть між 10 та 5000мг для дорослого суб'єкта нормальної ваги. Капсули, таблетки або інші склади (такі як рідини та таблетки з плівковим покриттям) можуть бути між 0,5 та 200мг, як наприклад 1, 3, 5, 10, 15, 25, 35, 50мг, 60мг та 100мг та можуть бути введені відповідно до розкритих способів.

Форми одиничного дозування включають таблетки, капсули, пілюлі, порошки, грануляти, водні та неводні оральні розчини і суспензії та парентеральні розчини, упаковані в контейнери, що пристосовані для послідовного розділення на індивідуальні дози. Форми одиничного дозування можуть також бути адаптовані для різних способів введення, включаючи композиції контролюваного вивільнення, такі як підшкірні імплантанти. Способи введення включають оральні, ректальні, парентеральні (внутрішньовенні, внутрішньом'язові, підшкірні), внутрішньопорожнинні, внутрішньовагінальні, внутрішньоочеревні, внутрішньоміхурні, місцеві (краплі, порошки, мазі, гелі або крем) та шляхом інгаляції (букальні або назальні

спреї).

Парентеральні складки включають фармацевтично прийнятні водні або неводні розчини, дисперсії, суспензії, емульсії та стерильні порошки для їх приготування. Приклади носіїв включають воду, етанол, поліолі (пропіленгліколь, поліетиленгліколь), рослинні масла та органічні ефіри, прийнятні для ін'єкцій, такі як етил олеат. Текучість може бути підтримана за допомогою використання покриття, такого як лецитин, поверхнево-активна речовина, або підтримуючи відповідний розмір частинок. Носії для твердих форм дозування включають (а) заповнювачі або наповнювачі, (b) зв'язуючі речовини, (c) зволожувачі, (d) агенти дезинтеграції, (e) уповільнювачі розчинення, (f) каталізатори абсорбції, (g) адсорбенти, (h) змащуючі речовини, (i) буферизуючі агенти та о) пропеленти.

Композиції можуть також містити допоміжні засоби, такі як консервуючі, зволожуючі, емульгуючі та диспергуючі агенти; антимікробні агенти, такі як парабени, хлорбутанол, фенол та сорбінова кислота; ізотонічні агенти, такі як цукор або хлорид натрію; абсорбуючі агенти тривалої дії, такі як моностеарат алюмінію та желатин; та агенти, що покращують абсорбцію.

Приклади

Загальний Експеримент:

Спектри ЯМР були отримані або на Bruker модель DPX400 (400МГц), або на DPX500 (500МГц) спектрометрі. Дані ^1H ЯМР наведено у такому форматі: хімічний зсув в м.ч. відносно області тетраметилсилану (мультиплетність, коефіцієнт зв'язку J в Гц, інтеграція).

Масові спектри були отримані на Agilent серій 1100 MSD, використовуючи електророзпилювальну іонізацію (ESI) або в позитивному, або в негативному стані, як вказано. "Розрахована маса" для молекулярної формули - це моноізотопічна маса сполуки.

Обернено-фазова ВЕРХ

Час утримання обернено-фазовою ВЕРХ визначений в хвилинах, використовуючи спосіб, описаний нижче.

Прилад: Gilson215

Мобільна Фаза: Ацетонітрил (0,05% трифтороцтової кислоти, TPA)/вода (0,05% TFA)

Швидкість потоку: 25мл/хв

Градiєнт:

1) 0,0хв 2% Ацетонітрил, 0,05% TFA

2) 18,0хв 98% Ацетонітрил, 0,05% TFA

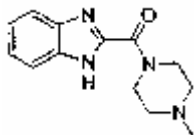
Колонка: YMC ODS-A (5мкл, 30×150mm)

Температура: 25°C

Довжина хвилі: Подвійне виявлення при 254 та 220nm.

Нормально-фазова силікагелева колоночна хроматографія Нормально-фазову колоночну хроматографію виконували, використовуючи ISCO Foxu 200 або ISCO OPTIX 10X системи, що використовують одну з наступних комерційно доступних попередньо укомплектованих колонок: Biotage 40S (SiO_2 40г), Biotage або ISCO Redisep (SiO_2 , 10г, 12г, 35г, 40г або 120г).

Приклад 1



(1H-Бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

Загальна методика 1:

A. 2-Трихлорметил-1H-бензоімідазол.

Метил 2,2,2-трихлороацетимідат (1,63мл, 9,22ммоль) додавали до розчину фенілендіаміну (1,0г, 9,2ммоль) в оцтовій кислоті (30мл), який потім перемішували при кімнатній температурі протягом 1 години. До суміші додавали воду (20мл), та збирали отриманий в результаті осад. Тверду фазу промивали водою (2×30мл) та сушили під вакуумом, одержуючи 1,90г (88%) 2-трихлорметил-1H-бензоімідазолу, який використовували без подальшого очищення. MS (ESI): маса, розрахована для $\text{C}_8\text{H}_5\text{Cl}_3\text{N}_2$, 233,95; m/z знайдено, 235,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3): 13,45 (ушир, s, 1H), 7,73-7,65 (m, 2H), 7,39-7,30 (m, 2H).

Загальна методика 2:

B. (1H-Бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

До суспензії 2-трихлорметил-1H-бензоімідазолу (100мг, 0,42ммоль) в 3:1 ацетонітрил/вода (4,0мл) додавали N-метилпіперазин (0,93мл, 0,84ммоль), потім додавали 4M K_2CO_3 (0,30мл). Реакційну суміш перемішували протягом 24 годин та потім розбавляли насиченим водн. NaHCO_3 (3мл) і екстрагували дихлорметаном (3×5мл). Об'єднані екстракти сушили (Na_2SO_4) та потім концентрували при зниженому тиску. Неочищений продукт очищали на силікагелі (10г; 4 % метанол/дихлорметан), одержуючи 54мг (52%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}$, 244,13; m/z знайдено 245,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (400МГц, $\text{DMSO}-d_6$): 13,2 (s, 1H), 7,74 (d, J=7,3Гц, 2H), 7,53 (d, J=8,3Гц, 2H), 7,34-7,24 (m, 2H), 4,45-4,42 (m, 2H), 3,71 (t, J=5,2Гц, 2H), 2,42-2,40 (m, 4H), 2,22 (s, 3H). ^{13}C ЯМР (400МГц, $\text{DMSO}-d_6$): 158,1, 145,5, 142,3, 133,2, 124,1, 122,4, 120,1, 112,2, 55,0, 54,4, 46,0, 45,5, 42,3.

Альтернативне одержання прикладу 1 (схема 1)

A. Бензімідазол-2-карбонова кислота.

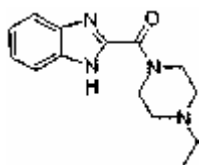
2-Гідроксиметилбензімідазол (6,75ммоль) додавали до колби, що містить гарячу воду (25мл). Розчин 2N Na_2CO_3 (5мл) додавали до реакційної суміші, поки не досягали pH 10-12, потім додавали KMnO_4 (~10ммоль). Потім реакційній суміші дозволяли кипіти зі зворотним холодильником протягом 0,5 годин. Гарячий розчин відфільтровували та фільтрат охолоджували до кімнатної температури та додавали 3N оцтову кислоту, поки не досягали pH 3-4. Одержаний білий осад збирали фільтруванням та промивали

водою і ефіром, одержуючи зазначену у заголовку проміжну сполуку. MS (ESI): маса, розрахована для $C_8H_6N_2O_2$, 162,04; m/z знайдено, 163,10 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, CD_3OD): 7,61-7,55 (m, 2H), 7,44-7,38 (m, 2H).

В. (1H-Бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

Діізопропілетиламін (2,2ммоль) додавали до розчину бензімідазол-2-карбонової кислоти (3,59ммоль), O-(7-азабензотриазол-1-іл)-N,N,N',N'-тетраметилуронід гексафторофосфату (HATU, 3,00ммоль), 1-гідроксид-7-азабензотриазолу (HOAT, 3,00ммоль) та 1-метилпіперазину (2,00ммоль) в DMF (0,5л). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Видаляли розчинник та залишок розчиняли в EtOAc. Розчин промивали 1N HCl, насиченим водн. $NaHCO_3$ та сольовим розчином. Потім сушили (Na_2SO_4), відфільтровували та концентрували, отримуючи неочищений продукт у вигляді в'язкого масла, яке очищали на силікагелі (40г; 3-10% метанол (2M NH_3)/дихлорметан), одержуючи зазначену у заголовку сполуку (1,68ммоль, 47%). Елементний аналіз: розраховано для $C_{13}H_{16}N_4O$, C 63,91, H 6,60, N 22,93; знайдено C 63,76, H 6,79, N 22,87. Дані MS та 1H ЯМР відповідають зразку, отриманому вище.

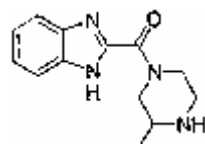
Приклад 2



(1H-Бензоімідазол-2-іл)-(4-етил-піперазин-1-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (Приклад 1, 100мг, 0,42ммоль) та N-етилпіперазин (0,10мл, 0,84ммоль). Очищенням одержували 16мг (15%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{14}H_{18}N_4O$, 258,15; m/z знайдено, 259,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 11,60 (ушир, s, 1H), 7,82 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,54 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,35-7,30 (m, 2H), 4,82-4,80 (m, 2H), 3,97-3,95 (m, 2H), 2,63-2,59 (m, 4H), 2,48 (q, $J=7,2$ Гц, 2H), 1,14 (t, $J=7,2$ Гц, 3H).

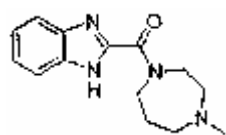
Приклад 3



(1H-Бензоімідазол-2-іл)-(3-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (Приклад 1, 100мг, 0,42ммоль) та 2-метилпіперазин (84мг, 0,84ммоль). Очищенням одержували 55мг (54%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{13}H_{16}N_4O$, 244,13; m/z знайдено, 245,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$) суміш ротамерів: 12,1 (ушир, s, 1H), 7,80-7,52 (m, 2H), 7,33-7,31 (m, 2H), 6,02 (d, $J=12,9$ Гц, 0,5 H), 5,93 (d, $J=12,9$ Гц, 0,5 H), 4,78-4,73 (m, 1H), 3,44-3,37 (m, 0,5H), 3,21-2,88 (m, 4H), 2,67-2,62 (m, 0,5H), 1,18 (t, $J=6,8$ Гц, 3H).

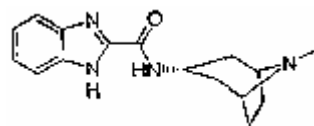
Приклад 4



(1H-Бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-[1,4]діазепан-1-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (Приклад 1, 100мг, 0,42ммоль) та N-метилгомопіперазин (96мг, 0,84ммоль). Очищенням одержували 25мг (23%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{14}H_{18}N_4O$, 258,15; m/z знайдено, 259,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 7,66-7,64 (m, 2H), 7,32-7,30 (m, 2H), 4,72-4,69 (m, 1H), 4,63 (t, $J=6,3$ Гц, 1H), 3,99-3,97 (m, 1H), 3,94 (t, $J=6,3$ Гц, 1H), 2,90-2,87 (m, 1H), 2,83-2,81 (m, 1H), 2,67-2,63 (m, 2H), 2,41 (d, $J=3,5$ Гц, 3H), 2,13-2,10 (m, 2H).

Приклад 5

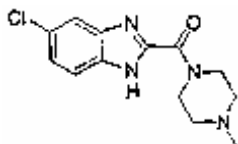


(8-метил-8-аза-біцикло[3.2.1]окт-3-іл)-амід 1H-бензоімідазол-2-карбонової кислоти.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (Приклад 1, 100мг, 0,42ммоль) та 8-метил-8-азабіцикло[3.2.1]окт-3-иламін дигідрохлорид (172мг, 0,84ммоль) в тетрагідрофурані (ТГФ, 3мл). Очищенням одержували 10мг (10%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{16}H_{20}N_4O$, 284,16; m/z знайдено, 285,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 11,70 (ушир, s, 1H), 8,10 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,76 (ушир, s, 1H), 7,43 (ушир, s, 1H), 7,35-7,33

(m, 2H), 4,37 (q, J=7,1Гц, 1H), 3,25-3,23 (m, 2H), 2,49 (s, 3H), 2,39-2,33 (m, 2H), 2,23 (s, 3H), 2,23-2,18 (m, 2H), 2,02-1,96 (m, 2H), 1,97 (d, J=14,4Гц, 2H).

Приклад 6



(5-Хлоро-1H-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанол.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи комерційно доступні 5-хлоро-2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (100мг, 0,37ммоль) та N-метилпіперазин (0,08мл, 0,75ммоль). Очищенням одержували 65мг (63%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{13}H_{15}ClN_4O$, 278,09; m/z знайдено, 279,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, DMSO- d_6): 13,29 (s, 1H), 7,67 (ушир, s, 2H), 7,33 (d, J=8,6Гц, 2H), 4,51-4,48 (m, 2H), 3,71 (t, J=4,6Гц, 2H), 2,41-2,39 (m, 4H), 2,22 (s, 3H).

Альтернативне одержання прикладу 6 (схема 1)

А. (5-Хлоро-1H-бензоімідазол-2-іл)-метанол.

Суміш 3-хлоро-бензол-1,2-діаміну (5,68г) в 4N HCl (40мл) обробляли гліколевою кислотою (7мл, 70% розчин у воді) та кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 2 годин. Суміш охолоджували та відфільтровували. Потім фільтрат нейтралізували концентрованим NH_4OH , та одержану тверду фазу збирали фільтруванням та сушили під вакуумом, одержуючи зазначену у заголовку проміжну сполуку (6,59г). Цю речовину використовували на стадії В без подальшого очищення.

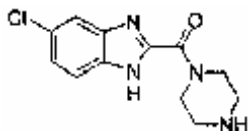
В. 5-Хлоро-1H-бензоімідазол-2-карбонова кислота.

Суміш (5-хлоро-1H-бензоімідазол-2-іл)-метанол (3,8г), суспендований в 2N карбонаті натрію (110мл) обробляли розчином $KMnO_4$ (4,935г в 310мл води). Одержану суміш нагрівали до 100°C протягом 2 годин та потім відфільтровували. Фільтрат охолоджували до кімнатної температури та розчин скоректовували до кислого pH додаванням 3N оцтової кислоти, одержуючи осад. Тверду фазу відокремлювали фільтруванням, промивали водою та сушили під вакуумом, одержуючи зазначену у заголовку проміжну сполуку (2,910г). Цю речовину використовували на стадії С без подальшого очищення.

С. (5-Хлоро-1H-бензоімідазол-2-yl)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанол.

5-хлоро-1H-бензоімідазол-2-карбонову кислоту (0,197г) в DMF (3мл) обробляли 1,1'-карбонілдіімідазол (GDI; 0,163г) при кімнатній температурі та суміш перемішували протягом 1 години. Одержану суміш обробляли N-метилпіперазином (0,111мл) та перемішували при кімнатній температурі протягом 16 годин. Потім цю суміш розбавляли водою (50мл) та екстрагували дихлорметаном (3×20мл). Об'єднані екстракти промивали сольовим розчином і сушили (Na_2SO_4), та потім концентрували при зниженому тиску. Залишок очищали на силікагелі (10г; 0-5% метанол (2M MH_3)/дихлорметан), одержуючи зазначену у заголовку сполуку у вигляді білої твердої фази (0,160г). Дані MS та 1H ЯМР відповідають одержаній вище сполуці.

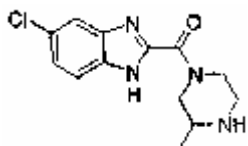
Приклад 7



(5-Хлоро-1H-бензоімідазол-2-іл)-піперазин-1-іл-метанол.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи комерційно доступні 5-хлоро-2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (100мг, 0,37ммоль) та піперазин (64мг, 0,75ммоль) в ТГФ (3мл). Очищенням одержували 10мг (10%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{12}H_{13}ClN_4$ 264,08; m/z знайдено, 265,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, DMSO- d_6): 13,29 (s, 1H), 7,67 (ушир, s, 2H), 7,33 (d, J=8,6Гц, 2H), 4,50-4,47 (m, 2H), 3,71 (t, J=4,6Гц, 2H), 2,41-2,39 (m, 4H), 2,22 (s, 3H).

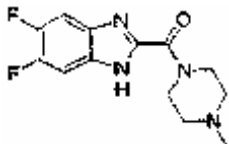
Приклад 8



(5-Хлоро-1H-бензоімідазол-2-іл)-(3-метил-піперазин-1-іл)-метанол.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи комерційно доступні 5-хлоро-2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (100мг, 0,37ммоль) та 2-метилпіперазин (74мг, 0,74ммоль). Очищенням одержували 41мг (40%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{13}H_{15}ClN_4O$, 278,09; m/z знайдено, 279,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$) суміш ротамерів: 7,61-7,52 (ушир, m, 2H), 7,27 (d, J=8,8Гц, 2H), 6,00 (d, J=12,6Гц, 0,5 H), 5,89 (d, J=12,6Гц, 0,5 H), 4,75-4,71 (m, 1H), 3,19-3,16 (m, 0,5H), 3,21-2,88 (m, 4H), 2,68-2,65 (m, 0,5H), 1,21-1,17 (m, 3H).

Приклад 9



(5,6-Дифтор-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

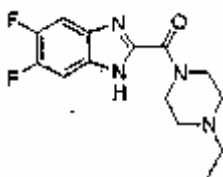
А. 5,6-Дифтор-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 1, використовуючи 4,5-дифтор-1,2-фенілендіамін (1,00г, 6,94ммоль). Висушений осад розтирали в порошок з дихлорметаном (3×10мл) з подальшим використанням гексану (3×10мл), одержуючи 890мг (48%) зазначеної у заголовку проміжної сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_8H_3Cl_3F_2N_2$ 269,93; m/z знайдено, 271,0 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 10,0 (s, 1H), 7,65 (dd, $J=10,0, 7,3$, 1H), 7,32 (dd, $J=9,8, 6,3$, 1H).

В. (5,6-Дифтор-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 5,6-дифтор-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол (100мг, 0,37ммоль) та N-метилпіперазин (0,08мл, 0,75ммоль). Очищенням одержували 42мг (40%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{13}H_{14}F_2N_4O$, 280,11; m/z знайдено, 281,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 11,9 (ушир, s, 1H), 7,56-7,31 (ушир, m, 2H), 4,78-4,75 (m, 2H), 3,95 (t, $J=5,1$ Гц, 2H), 2,58 (t, $J=5,1$ Гц, 4H), 2,37 (s, 3H).

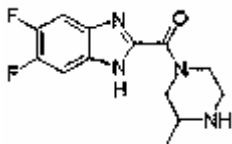
Приклад 10



(5,6-Дифтор-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-етил-піперазин-1-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 5,6-дифтор-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол (Приклад 9, Стадія А, 100мг, 0,39ммоль) та N-етилпіперазин (0,10мл, 0,79ммоль). Очищенням одержували 31мг (28%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{14}H_{16}F_2N_4O$, 294,13; m/z знайдено, 295,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 11,70 (ушир, s, 1H), 7,61 (ушир, s, 1H), 7,31 (ушир, s, 1H), 4,78-4,76 (m, 2H), 3,96-3,92 (m, 2H), 2,64-2,62 (m, 4H), 2,49 (q, $J=7,2$ Гц, 2H), 1,15 (t, $J=7,2$ Гц, 3H).

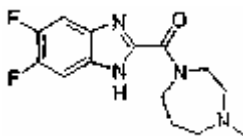
Приклад 11



(5,6-Дифтор-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(3-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 5,6-дифтор-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол (Приклад 9, Стадія А, 100мг, 0,37ммоль) та 2-метилпіперазин (74мг, 0,37ммоль). Очищенням одержували 30мг (28%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{13}H_{14}F_2N_4O$, 280,11; m/z знайдено, 281,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$) суміш ротамерів: 11,6 (ушир, s, 1H), 7,35-7,27 (ушир, m, 2H), 5,99 (d, $J=12,6$ Гц, 0,5H), 5,88 (d, $J=12,6$ Гц, 0,5H), 4,69-4,66 (m, 1H), 3,19-3,16 (m, 0,5H), 3,04-2,67 (m, 4H), 2,67-2,63 (m, 0,5H), 1,20-1,18 (m, 3H).

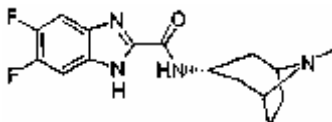
Приклад 12



(5,6-Дифтор-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-[1,4]діазепан-1-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 5,6-дифтор-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол (Приклад 9, Стадія А, 100мг, 0,37ммоль), та N-метилгомопіперазин (84мг, 0,74ммоль). Очищенням одержували 29мг (27%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{14}H_{16}F_2N_4O$, 294,13; m/z знайдено, 295,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 11,12 (ушир, s, 1H), 7,47-7,40 (ушир, m, 2H), 3,92-3,89 (m, 1H), 3,87 (t, $J=6,0$ Гц, 1H), 3,99-3,97 (m, 1H), 3,94 (t, $J=6,3$ Гц, 1H), 2,90-2,87 (m, 1H), 2,83-2,81 (m, 1H), 2,67-2,63 (m, 2H), 2,41 (d, $J=3,5$ Гц, 3H), 2,13-2,10 (m, 2H).

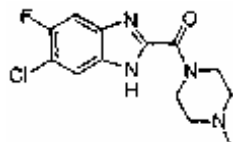
Приклад 13



(8-метил-8-аза-біцикло[3.2.1]окт-3-ил)-амід 5,6-дифтор-1H-бензоімідазол-2-карбонової кислоти.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 5,6-дифтор-2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (Приклад 9, Стадія А, 100мг, 0,37ммоль) та 8-метил-8-аза-біцикло[3.2.1]окт-3-иламін дигідрохлорид (157мг, 0,74ммоль). Очищенням одержували 25мг (21%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{16}H_{18}F_2N_4O$ 320,14; m/z знайдено, 321,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 8,04 (d, J=8Гц, 1H), 7,41 (ушир, s, 2H), 4,37-4,32 (m, 1H), 3,25 (s, 2H), 2,40-2,34 (m, 5H), 2,26-2,22 (m, 2H), 1,97-1,95 (m, 2H), 1,88-1,85 (d, J=12,0Гц, 2H).

Приклад 14



(6-Хлоро-5-фтор-1H-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

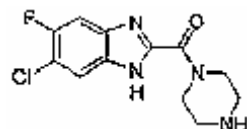
А. 6-Хлоро-5-фтор-2-трихлорометил-1H-бензоімідазол.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 1, використовуючи 4-фтор-5-хлоро-1,2-фенілендіамін (1,00г, 6,25ммоль). Висушений осад розтирали в порошок з дихлорметаном (3×10мл) з подальшим використанням гексану (3×10мл), одержуючи 1,09г (59%) 6-хлоро-5-фтор-2-трихлорометил-1H-бензоімідазолу. MS (ESI): маса, розрахована для $C_8H_3Cl_4FN_2$, 285,90; m/z знайдено, 287,1 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 10,2 (ушир, s, 1H), 7,57 (d, J=5,6, 1H), 7,31 (d, J=9,0, 1H).

В. (6-Хлоро-5-фтор-1H-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл) метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 6-хлоро-5-фтор-2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (100мг, 0,35ммоль) та N-метилпіперазин (0,08мл, 0,70ммоль). Очищенням одержували 58мг (56%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{13}H_{14}ClFN_4O$, 296,08; m/z знайдено, 297,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 7,71-7,69 (ушир, s, 1H), 7,39-7,37 (ушир, s, 2H), 4,65-4,63 (m, 2H), 3,87 (t, J=4,5Гц, 2H), 2,59-2,57 (m, 4H), 2,37 (s, 3H).

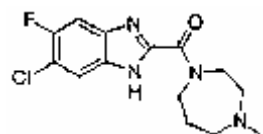
Приклад 15



(6-Хлоро-5-фтор-1H-бензоімідазол-2-іл)-піперазин-1-іл-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 6-хлоро-5-фтор-2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (Приклад 14, Стадія А, 100мг, 0,35ммоль) та піперазин (59мг, 0,70ммоль). Очищенням одержували 10мг (10%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{12}H_{12}ClFN_4O$, 282,07; m/z знайдено, 283,1 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 7,77-7,67 (m, 2H), 7,46-7,37 (m, 2H), 4,72-4,68 (m, 2H), 3,91-3,85 (m, 2H), 3,07-3,02 (m, 4H).

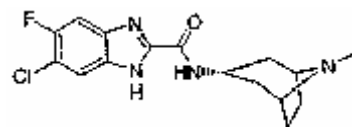
Приклад 16



(6-Хлоро-5-фтор-1H-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-[1,4] діазепан-1-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 6-хлоро-5-фтор-2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (Приклад 14, Стадія А, 100мг, 0,35ммоль) та N-метилгомопіперазин (79мг, 0,70ммоль). Очищенням одержували 29мг (27%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{14}H_{16}ClFN_4O$, 310,10; m/z знайдено, 311,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 11,2 (ушир, s, 1H), 7,72 (ушир, s, 1H), 7,41 (ушир, s, 1H), 4,64-4,61 (m, 1H), 3,88 (t, J=6,1Гц, 1H), 3,93-3,91 (m, 1H), 3,88 (t, J=6,1Гц, 1H), 2,87-2,84 (m, 1H), 2,80-2,78 (m, 1H), 2,66-2,62 (m, 2H), 2,41 (d, J=5,1Гц, 3H), 2,17-2,11 (m, 2H).

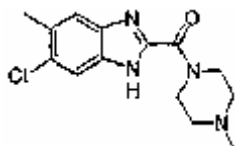
Приклад 17



(8-метил-8-аза-біцикло[3.2.1]окт-3-ил)-амід 6-хлоро-5-фтор-1H-бензоімідазол-2-карбонової кислоти.

Реакцію, проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 6-хлоро-5-фтор-2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (Приклад 14, Стадія А, 100мг, 0,35ммоль) та 8-метил-8-аза-біцикло[3.2.1]окт-3-иламін дигідрохлорид (149мг, 0,70ммоль). Очищенням одержували 35мг (30%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{16}H_{18}ClFN_4O$, 336,12; m/z знайдено, 337,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 8,01 (d, J=8Гц, 1H), 7,71 (ушир, s, 1H), 7,52-7,38 (m, 1H), 4,37-4,31 (m, 1H), 3,24 (s, 2H), 2,39-2,32 (m, 5H), 2,26-2,22 (m, 2H), 1,96-1,95 (m, 2H), 1,86 (d, J=12,0Гц, 2H).

Приклад 18



(5-Хлоро-6-метил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

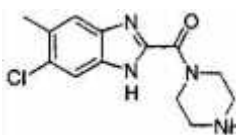
А. 5-Хлоро-6-метил-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 1, використовуючи 5-хлоро-6-метил-1,2-фенілєндіамін (1,00г, 6,41ммоль). Висушений осад розтирали в порошок з дихлорметаном (3×10мл) з подальшим використанням гексану (3×10мл), одержуючи 950мг (53%) зазначеної у заголовку проміжної сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_9H_6Cl_4N_2$, 281,93; m/z знайдено, 283,0 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 7,70 (s, 1H), 7,52 (s, 1H).

В. (5-Хлоро-6-метил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 5-хлоро-6-метил-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол (100мг, 0,35ммоль) та N-метилпіперазин (0,08мл, 0,71ммоль). Очищенням одержували 36мг (35%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{14}H_{17}ClN_4O$, 292,11; m/z знайдено, 293,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 11,5 (ушир, s, 1H), 7,71-7,32 (ушир, m, 2H), 4,74-4,72 (m, 2H), 3,97-3,94 (m, 2H), 2,58 (t, J=5,1Гц, 4H), 2,48 (s, 3H), 2,38 (s, 3H).

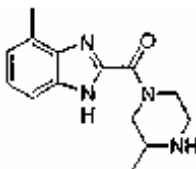
Приклад 19



(5-Хлоро-6-метил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-піперазин-1-іл-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 5-хлоро-6-метил-трихлорометил-1Н-бензоімідазол (Приклад 18, Стадія А, 100мг, 0,35ммоль) та піперазин (60мг, 0,71ммоль). Очищенням одержували 8мг (8%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{13}H_{15}ClN_4O$, 278,09; m/z знайдено, 279,1 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 7,75-7,28 (m, 2H), 4,72-4,69 (m, 2H), 3,85-3,82 (m, 2H), 3,03-3,00 (m, 4H), 2,49 (s, 3H).

Приклад 20



(4-Метил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(3-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

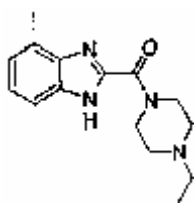
А. 4-Метил-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 1, використовуючи 2,3-діамінотолуол (1,19г, 9,74ммоль) та метил-2,2,2-трихлороацетимідат (1,20мл, 9,74ммоль). Очищенням на силікагелі (40г; 40% EtOAc/гексан) одержували 830мг (34%) зазначеної у заголовку проміжної сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_9H_7Cl_3N_2$, 247,97; m/z знайдено, 249,0 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 9,78 (s, 1H), 7,52 (ушир, s, 1H), 7,27 (d, J=7,4, 8,1Гц, 1H), 7,17 (d, J=7,4Гц, 1H), 2,64 (s, 3H).

В. (4-Метил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(3-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 4-метил-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол (100мг, 0,40ммоль) та 2-метилпіперазин (80мг, 0,80ммоль) в ТГФ (3мл). Очищенням одержували 27мг (26%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{14}H_{18}N_4O$ 258,15; m/z знайдено, 259,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): суміш ротамерів: 11,61-11,58 (m, 1H), 7,68-7,57 (m, 0,5H), 7,24-7,18 (m, 1H), 7,10 (d, J=7,1Гц, 1H), 6,18-5,84 (m, 1H), 4,73-4,67 (m, 1H), 3,40 (ddd, J=3,03, 12,6, 14,15Гц, 0,5H), 3,18-3,13 (m, 1H), 3,10-2,86 (m, 3,5 H), 2,70-2,45 (m 4H), 1,80 (ушир, s, 1 H), 1,17 (d, J= 6,32Гц, 3H).

Приклад 21

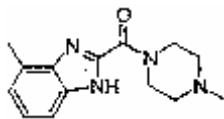


(4-Етил-піперазин-1-іл)-(4-метил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 4-метил-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол (Приклад 20, Стадія А, 100мг, 0,40ммоль) та N-етилпіперазин (0,10мл, 0,80ммоль) в ТГФ (3мл). Очищенням одержували 67мг (62%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована

для $C_{15}H_{20}N_4O$, 272,16; m/z знайдено, 273,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 10,89 (s, 1H), 7,64 (d, $J=8,6$ Гц, 0,5H), 7,33 (d, $J=8,6$ Гц, 0,5H), 7,22-7,18 (m, 1H), 7,13 (d, $J=7,4$ Гц, 0,5H), 7,10 (d, $J=7,4$ Гц, 0,5H), 4,86-4,84 (m, 1H), 4,80-4,78 (m, 1H), 3,93-3,90 (m, 2H), 2,66 (s, 1,5H), 2,63-2,56 (m, 4H), 2,52 (s, 1,5H), 2,48 (q, $J=7,3$ Гц, 2H), 1,14 (t, $J=7,1$ Гц, 3H).

Приклад 22



(4-Метил-1H-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 4-метил-2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (Приклад 20, Стадія А, 100мг, 0,40ммоль) та N-метилпіперазин (0,09мл, 0,80ммоль). Очищенням одержували 51мг (50%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{14}H_{18}N_4O$, 258,15; m/z знайдено, 259,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 11,53 (ушир, s, 1H), 7,64 (d, $J=8,3$ Гц, 0,5H), 7,32 (d, $J=8,3$ Гц, 0,5H), 7,25-7,18 (m, 1H), 7,10 (t, $J=7,3$ Гц, 1H), 4,87-4,82 (m, 1H), 4,79-4,75 (m, 1H), 3,95-3,92 (m, 2H), 2,66 (s, 1,5H), 2,59-2,54 (m, 4H), 2,50 (s, 1,5H), 2,36 (s, 3H).

Альтернативне одержання прикладу 22 (схема 1)

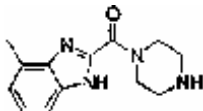
А. (4-Метил-1H-бензоімідазол-2-іл)-метанол.

Суміш 3-метил-бензол-1,2-діаміну (3,77г, 30,8ммоль) та гліколевої кислоти (5мл, 70% розчин у воді) в 4N HCl (30мл) нагрівали до 100°C протягом 2 годин. Теплу суміш охолоджували та відфільтровували. Нейтралізація фільтрату концентрованим NH_4OH призводила до утворення твердої фази, яку збирали фільтруванням, промивали водою та сушили під вакуумом, одержуючи 0,95г (19%) зазначеної у заголовку проміжної сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_9H_{10}N_2O$, 162,08; m/z знайдено, 163,1 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 7,35 (d, $J=8,1$ Гц, 1H) 7,10 (dd, $J=7,3$, 8,1Гц, 1H), 7,00 (d, $J=7,3$ Гц, 1H), 4,88 (ушир., 3H), 2,55 (s, 3H).

В. (4-Метил-1H-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

До суспензії (4-метил-1H-бензоімідазол-2-іл)-метанолу (0,84г, 5,18ммоль) у воді (10мл) додавали 2M Na_2CO_3 (10мл). До суміші додавали по краплинам розчин 0,1M $KMnO_4$ (1,4г, 8,8ммоль). Цю суміш нагрівали до 100°C протягом 2 годин та потім відфільтровували гарячою, та охолоджений фільтрат підкислювали 3N оцтовою кислотою. Одержану тверду фазу збирали фільтруванням, промивали водою та сушили під вакуумом. Неочищену кислоту (0,56г, 62%) використовували в амідному сполученні без подальшого очищення. До суспензії кислоти (111,6мг, 0,63ммоль) в DMF (3мл) додавали GDI (108,9мг, 0,67ммоль) та цю суміш перемішували протягом 1 години. Потім додавали метилпіперазин (80мкл) та реакційну суміш перемішували 16 годин при кімнатній температурі. Суміш виливали у воду (50мл) та екстрагували дихлорметаном. Об'єднані екстракти концентрували при зниженому тиску, та залишок очищали на силікагелі (10г; 1-8% метанол (2M NH_3)/дихлорметан), одержуючи 124,3мг (76%) білого твердого осаду. Дані MS та 1H ЯМР відповідають отриманому вище продукту.

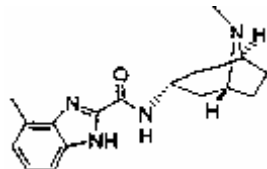
Приклад 23



(4-Метил-1H-бензоімідазол-2-іл)-піперазин-1-іл-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 4-метил-2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (Приклад 20, Стадія А, 100мг, 0,40ммоль) та піперазин (69мг, 0,80ммоль). Очищенням одержували 4мг (4%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{13}H_{16}N_4O$, 244,13; m/z знайдено, 245,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 10,36 (s, 1H), 7,65 (d, $J=8,3$ Гц, 0,5H), 7,34 (d, $J=8,3$ Гц, 0,5H), 7,24-7,20 (m, 1H), 7,15 (d, $J=7,3$ Гц, 0,5H), 7,11 (d, $J=7,3$ Гц, 0,5H), 4,80-4,78 (m, 1H), 4,75-4,73 (m, 1H), 3,03-2,99 (m, 2H), 2,67 (s, 1,5H), 2,54 (s, 1,5H).

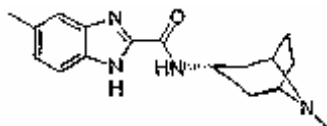
Приклад 24



(8-метил-8-аза-біцикло[3,2,1]окт-3-іл)-амід 4-метил-1H-бензоімідазол-2-карбонової кислоти.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 4-метил-2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (Приклад 20, Стадія А, 100мг, 0,40ммоль) та 8-метил-8-азабіцикло[3,2,1]октан-3-амін дигідрохлорид (170мг, 0,80ммоль). Очищенням одержували 16мг (13%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{17}H_{22}N_4O$, 298,18; m/z знайдено, 299,3 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): суміш ротамерів: 11,65-11,46 (m, 1H), 8,12-8,07 (m, 1H), 7,64 (d, $J=8,1$ Гц, 0,6H), 7,36 (d, $J=8,1$ Гц, 0,4H), 7,24 (t, $J=8,1$ Гц, 1H), 7,14 (d, $J=7,3$ Гц, 0,6H), 7,11 (d, $J=7,3$ Гц, 0,4H), 4,34 (quin, $J=6,8$ Гц, 1H), 3,23 (ушир, s, 2H), 2,68 (s, 1,4H), 2,60 (s, 1,6H), 2,34 (mm, 5H), 2,24-2,20 (m, 2H), 2,02-1,96 (m, 2H), 1,87 (d, $J=14,4$ Гц, 2H).

Приклад 25



(8-метил-8-аза-біцикло[3,2,1]окт-3-ил)-амід 5-метил-1Н-бензоімідазол-2-карбонової кислоти.

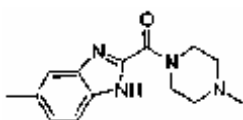
А. 5-Метил-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 1, використовуючи 3,4-діамінотолуол (1,33г, 10,88ммоль) та метил-2,2,2-трихлороацетимідат (1,33мл, 10,88ммоль). Очищенням на силікагелі (40г; 40% EtOAc/гексан) одержували 980мг (36%) зазначеної у заголовку проміжної сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_9H_7Cl_3N_2$, 247,97; m/z знайдено, 249,0 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 9,77 (ушир, s, 1H), 7,60 (ушир, s, 1H), 7,43 (ушир, s, 1H), 7,19 (dd, $J=1,3$, 8,6Гц, 1H), 2,50 (s, 3H).

В. (8-метил-8-аза-біцикло[3,2,1]окт-3-ил)-амід 5-метил-1Н-бензоімідазол-2-карбонової кислоти.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 5-метил-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол (100мг, 0,40ммоль) та 8-метил-8-азабіцикло[3,2,1]окт-3-иламін дигідрохлорид (170мг, 0,80ммоль) в ТГФ (3мл). Очищенням одержували 12мг (10%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{17}H_{22}N_4O$, 298,18; m/z знайдено, 299,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 11,55 (ушир, s, 1H), 8,02-7,96 (m, 1H), 7,67 (d, $J=8,4$ Гц, 0,55H), 7,58 (ушир, s, 0,45H), 7,42 (d, $J=8,6$ Гц, 0,45H), 7,33 (ушир, s, 0,55H), 7,18-7,13 (m, 1H), 4,34 (q, $J=7,07$ Гц, 1H), 3,24-3,22 (m, 2H), 2,49 (s, 3H), 2,39-2,33 (m, 2H), 2,23 (s, 3H), 2,23-2,18 (m, 2H), 2,01-1,95 (m, 2H), 1,88 (d, $J=14,4$ Гц, 2H).

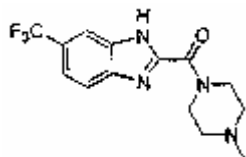
Приклад 26



(5-Метил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 5-метил-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол (Приклад 25, Стадія А, 100мг, 0,40ммоль) та N-метилпіперазин (0,09мл, 0,80ммоль). Очищенням одержували 36мг (35%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{14}H_{18}N_4O$, 258,15; m/z знайдено, 259,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 11,24 (ушир, s, 1H), 7,69 (d, $J=8,3$ Гц, 0,6H), 7,60 (ушир, s, 0,4H), 7,39 (d, $J=8,3$ Гц, 0,4H), 7,29 (ушир, s, 0,6H), 7,18 (d, $J=8,3$ Гц, 0,4H), 7,13 (d, $J=8,3$ Гц, 0,6H), 4,81-4,77 (m, 2H), 3,95-3,93 (m, 2H), 2,59-2,55 (m, 4H), 2,49 (s, 3H), 2,36 (s, 3H).

Приклад 27



(4-Метил-піперазин-1-іл)-(5-трифторметил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-метанон.

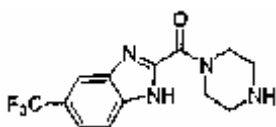
А. 2-Трихлорометил-5-трифторметил-1Н-бензоімідазол.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 1, використовуючи 4-(трифторметил)-1,2-фенілендіамін (1,0г, 5,68ммоль) та метил-2,2,2-трихлороацетимідат (0,70мл, 5,68ммоль). Очищенням на силікагелі (40г; 40% EtOAc/гексан) одержували 930мг (54%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_9H_4Cl_3F_3N_2$, 301,94; m/z знайдено, 303,0 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 10,16 (ушир, s, 1H), 8,18 (ушир, s, 0,55H), 7,98 (ушир, d, $J=8,08$ Гц, 0,5H), 7,83 (ушир, s, 0,45H), 7,71-7,63 (m, 1,5H).

В. (4-Метил-піперазин-1-іл)-(5-трифторметил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 2-трихлорометил-5-трифторметил-1Н-бензоімідазол (100мг, 0,33ммоль) та N-метилпіперазин (0,07мл, 0,66ммоль). Очищенням одержували 42мг (41%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{14}H_{15}F_3N_4O$, 312,12; m/z знайдено, 313,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 8,01 (ушир, s, 1H), 7,74-7,70 (m, 1H), 7,58 (dd, $J=1,3$, 8,6Гц, 1H), 4,78-4,76 (m, 2H), 3,96-3,94 (m, 2H), 2,60-2,56 (m, 4H), 2,37 (s, 3H).

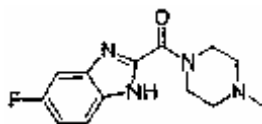
Приклад 28



Піперазин-1-іл-(5-трифторметил-1Н-бензоімідазол-2-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 2-трихлорометил-5-трифторметил-1Н-бензоімідазол (Приклад 27, Стадія А, 100мг, 0,33ммоль) та піперазин (57мг, 0,66ммоль). Очищенням одержували 6мг (6%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{13}H_{13}F_3N_4O$, 298,10; m/z знайдено, 299,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 11,01 (ушир, s, 1H), 8,12 (ушир, s, 0,5H), 7,87 (ушир, s, 1H), 7,58-7,60 (m, 1,5H), 4,74-4,72 (m, 2H), 3,89-3,86 (m, 2H), 3,06-3,03 (m, 4H).

Приклад 29



(5-Фтор-1H-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

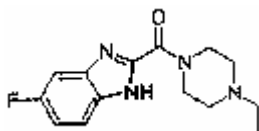
А. 5-Фтор-2-трихлорометил-1H-бензоімідазол.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 1, використовуючи 4-фтор-1,2-фенілендіамін (1,0г, 8,12ммоль) та метил-2,2,2-трихлороацетимідат (1,0мл, 8,12ммоль). Розтиранням в порошок отриманого осаду одержували 1,20г (60%) зазначеної у заголовку проміжної сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_8H_4Cl_3FN_2$, 251,94; m/z знайдено 253,0 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 7,64 (ушир, s, 1H), 7,31 (ушир, s, 1H), 7,07 (dt, J=2,27, 9,09Гц, 1H).

В. (5-Фтор-1H-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 5-фтор-2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (100мг, 0,39ммоль) та N-метилпіперазин (0,09мл, 0,79ммоль). Очищенням одержували 28мг (27%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{13}H_{15}FN_4O$, 262,12; m/z знайдено, 236,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 11,55 (ушир, s, 1H), 7,74 (ушир, s, 0,5H), 7,46 (ушир, s, 1H), 7,19-7,17 (m, 0,5H), 7,09-7,07 (m, 1H), 4,79-4,77 (m, 2H), 3,95-3,92 (m, 2H), 2,59-2,57 (m, 4H), 2,37 (s, 3H).

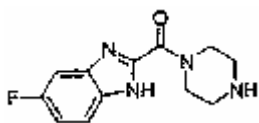
Приклад 30



(4-Етил-піперазин-1-іл)-(5-фтор-1H-бензоімідазол-2-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 5-фтор-2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (Приклад 29, Стадія А, 100мг, 0,39ммоль) та N-етилпіперазин (0,10мл, 0,79ммоль). Очищенням одержували 30мг (28%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{14}H_{17}FN_4O$, 276,14; m/z знайдено, 277,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 11,62 (ушир, s, 1H), 7,74 (ушир, s, 0,5H), 7,46 (ушир, s, 1H), 7,1-9 (ушир, s, 0,5H), 7,08 (ушир, s, 1H), 4,80-4,76 (m, 2H), 3,96-3,93 (m, 2H), 2,63-2,60 (m, 4H), 2,50 (q, J=7,3Гц, 2H), 1,14 (t, J=7,3Гц, 3H).

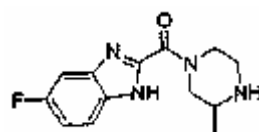
Приклад 31



(5-Фтор-1H-бензоімідазол-2-іл)-піперазин-1-іл-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 5-фтор-2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (Приклад 29, Стадія А, 100мг, 0,39ммоль) та піперазин (68мг, 0,79ммоль). Очищенням одержували 7мг (7%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{12}H_{13}FN_4O$, 248,11; m/z знайдено, 249,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 11,26 (ушир, s, 1H), 7,72 (ушир, s, 0,5H), 7,46 (ушир, s, 1H), 7,19 (ушир, s, 0,5H), 7,09 (ушир, s, 1H), 4,74-4,71 (m, 2H), 3,89-3,86 (m, 2H), 3,05-3,02 (m, 4H).

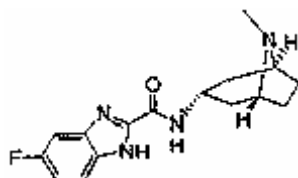
Приклад 32



(5-Фтор-1H-бензоімідазол-2-іл)-(3-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 5-фтор-2-трихлорометил-1H-бензоімідазол (Приклад 29, Стадія А, 100мг, 0,39ммоль) та 2-метилпіперазин (79мг, 0,79ммоль). Очищенням одержували 17мг (17%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{13}H_{15}FN_4O$, 262,12; m/z знайдено, 263,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 11,45 (ушир, s, 1H), 7,74 (ушир, s, 0,5H), 7,46 (ушир, s, 1H), 7,19 (ушир, s, 0,5H), 7,08 (ушир, s, 1H), 6,57-6,03 (m, 0,5H), 5,94-5,89 (m, 0,5H), 4,72-4,65 (m, 1H), 3,42-3,35 (m, 0,5H), 3,20-3,14 (m, 1H), 3,08-2,87 (m, 3H), 2,66-2,59 (m, 0,5H), 1,19 (d, J=6,3Гц, 1,5H), 1,18(d, J=6,3Hz, 1,5H).

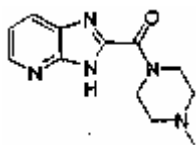
Приклад 33



(8-метил-8-аза-біцикло[3,2,1]окт-3-іл)-амід 5-фтор-1H-бензоімідазол-2-карбонової кислоти.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 5-фтор-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол (Приклад 29, Стадія А, 100мг, 0,39ммоль) та 8-метил-8-азабіцикло[3,2,1]октан-3-амін дигідрохлорид (168мг, 0,79ммоль). Очищенням одержували 17мг (15%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{16}H_{19}FN_4O$, 302,15; m/z знайдено, 303,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 12,01 (ушир, s, 1H), 8,06 (d, $J=7,8$ Гц, 1H), 7,73 (ушир, s, 0,6H), 7,47 (ушир, s, 1H), 7,22 (ушир, s, 0,4H), 7,10 (m, 1H), 4,35 (q, $J=7,1$ Гц, 1H), 3,28-3,25 (m, 2H), 2,41-2,35 (m, 2H), 2,34 (s, 3H), 2,28-2,21 (m, 2H), 2,02-1,97 (m, 2H), 1,88 (d, $J=14,4$ Гц, 2H).

Приклад 34



(3H-Імідазо[4,5-*b*]піридин-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

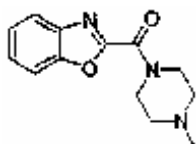
А. 2-Трихлорометил-3H-імідазо[4,5-*b*]піридин.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 2,3-діамінопіридин (1,0г, 9,16ммоль) та метил-2,2,2-трихлороацетимідат (1,13мл, 9,16ммоль). Очищенням на силікагелі (40г; 60% EtOAc/гексан) одержували 600мг (28%) зазначеної у заголовку проміжної сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_7H_4Cl_3N_3$, 234,95; m/z знайдено, 236,0 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 8,65 (dd, $J=1,5$, 8,1Гц, 1H), 8,32 (dd, $J=1,3$, 8,1Гц, 1H), 7,45 (dd, $J=4,8$, 8,1Гц, 1H).

В. (3H-Імідазо[4,5-*b*]піридин-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 2-трихлорометил-3H-імідазо[4,5-*b*]піридин (100мг, 0,43ммоль) та N-метилпіперазин (0,09мл, 0,86ммоль) в ТГФ (3мл). Очищенням одержували 29мг (28%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{12}H_{15}N_5O$, 245,13; m/z знайдено, 246,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 13,63 (s, 1H), 8,71 (d, $J=4,3$ Гц, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,34 (dd, $J=4,8$, 8,3Гц, 1H), 4,77 (ушир, s, 2H), 3,96-3,93 (m, 2H), 2,58 (m, 4H), 2,36 (s, 3H).

Приклад 35

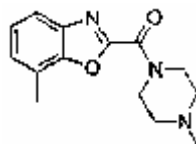


Бензооксазол-2-іл-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

Загальна методика 3:

Перемішаний розчин 2-амінофенолу (300мг, 2,75ммоль), метил 2,2,2-триметоксіяцетату (902мг, 5,50ммоль) та трифлат ітербію (170мг, 0,28ммоль) в толуолі (10мл) нагрівали до кипіння зі зворотним холодильником. Через 5 годин суміш охолоджували та осад збирали і сушили. Неочищену тверду фазу суспендували в толуолі (5мл), та додавали N-метилпіперазин (1,5мл, 13,7ммоль) з подальшим використанням 2-гідроксипіридину (26мг, 0,28ммоль). Суміш нагрівали до 125°C в ампулі протягом 4 годин. Одержаний жовтий розчин концентрували при зниженому тиску та залишок очищали на силікагелі (12г; 2% метанол/дихлорметан), одержуючи 320мг (48%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{13}H_{15}N_3O_2$, 245,12; m/z знайдено, 246,1 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 7,83-7,79 (m, 1H), 7,66-7,65 (m, 2H), 7,47-7,41 (m, 2H), 4,19 (t, $J=5,1$ Гц, 4H), 3,88 (t, $J=5,1$ Гц, 4H), 2,55-2,52 (m, 4H), 2,35 (s, 3H). ^{13}C ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 156,1, 154,6, 149,9, 140,1, 127,1, 125,3, 121,3, 111,5, 55,3, 54,6, 46,9, 45,9, 42,8.

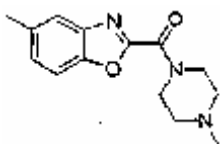
Приклад 36



(7-Метил-бензооксазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

Послідовність реакцій проводили, як описано в Загальній методиці 3, починаючи з 2-аміно-6-метилфенолу (300мг, 2,43ммоль). Очищенням одержували 410мг (65%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{14}H_{17}N_3O_2$, 259,13; m/z знайдено, 260,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 7,66 (d, $J=8,1$ Гц, 1H), 7,43 (s, 1H), 7,23 (dd, $J=8,1$, 1,0Гц, 1H), 4,22 (t, $J=5,1$ Гц, 4H), 3,88 (t, $J=5,1$ Гц, 4H), 2,54-2,52 (m, 7H), 2,35 (s, 3H). ^{13}C ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 156,2, 154,4, 150,2, 138,0, 137,9, 126,7, 120,6, 111,5, 55,4, 54,6, 46,9, 46,0, 42,8, 21,9.

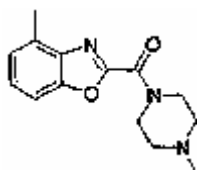
Приклад 37



(5-Метил-бензооксазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

Послідовність реакцій проводили, як описано в Загальній методиці 3, починаючи з 2-аміно-4-метил-фенол (300мг, 2,43ммоль). Очищенням одержували 212мг (34%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{14}H_{17}N_3O_2$, 259,13; m/z знайдено, 260,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 7,47 (s, 1H), 7,40 (d, J=8,3Гц, 1H), 7,16 (dd, J=8,3, 1,7Гц, 1H), 4,08 (t, J=5,1Гц, 4H), 3,76 (t, J=5,1Гц, 4H), 2,43-2,40 (m, 4H), 2,38 (s, 3H), 2,24 (s, 3H). ^{13}C ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 156,5, 155,3, 158,5, 140,7, 135,5, 128,7, 121,3, 111,2, 55,7, 54,69, 47,2, 46,3, 43,2, 21,8.

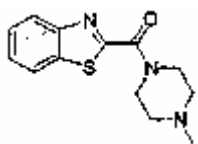
Приклад 38



(4-Метил-бензооксазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

Послідовність реакцій проводили, як описано в Загальній методиці 3, починаючи з 2-аміно-3-метил-фенолу (300мг, 2,43ммоль). Очищенням одержували 230мг (37%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{14}H_{17}N_3O_2$, 259,13; m/z знайдено, 260,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 7,37 (d, J=8,1Гц, 1H), 7,27 (t, J=8,1Гц, 1H), 7,13 (d, J=8,1Гц, 1H), 4,12 (t, J=5,1Гц, 4H), 3,81 (t, J=5,1Гц, 4H), 2,56 (s, 3H), 2,48-2,44 (m, 4H), 2,28 (s, 3H). ^{13}C ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 156,7, 154,6, 150,1, 139,9, 132,3, 127,2, 126,0, 109,1, 55,7, 54,9, 47,3, 46,3, 43,2, 16,8.

Приклад 39



Бензотіазол-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

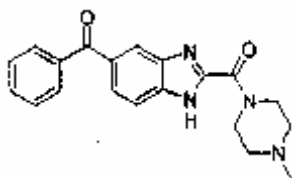
А. Метилловий ефір бензотіазол-2-карбонової кислоти.

Перемішаний розчин 2-амінотіофенолу (1,70мл, 15,9ммоль), метил 2,2,2-триметоксіацетату (3,93г, 23,9ммоль), та трифлат ітербію (620мг, 1,59ммоль) в толуолі (10мл) нагрівали до кипіння зі зворотним холодильником. Після 1,5 годин суміш охолоджували та розчинник видаляли при зниженому тиску. Неочищене масло очищали на силікагелі (40г; 20-100% етилацетат/гескан) одержуючи 2,00г (66%) зазначеної у заголовку проміжної сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_9H_7NO_2S$, 193,02; m/z знайдено, 194,1 $[M+H]^+$, 216,0 $[M+Na]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 7,58-7,54 (m, 1H), 7,37-7,35 (m, 2H), 6,95-6,87 (m, 2H), 3,37 (s, 3H). ^{13}C ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 164,82, 162,5, 156,9, 140,7, 131,9, 131,4, 128,6, 126,5, 57,0.

В. Бензотіазол-2-іл-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

Суміш метилового ефіру бензотіазол-2-карбонової кислоти (100мг, 0,52ммоль), N-метилпіперазину (0,29мл, 2,59ммоль), та 2-гідроксипіридину (5мг, 0,05ммоль) в толуолі (1,5мл) нагрівали мікрохвилями до 170°C протягом 10 хвилин. Одержаний жовтий розчин концентрували при зниженому тиску, та залишок очищали обернено-фазовою ВЕРХ, одержуючи 50мг (19%) зазначеної у заголовку сполуки у вигляді трифторацетатної солі. $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 8,11-8,08 (m, 1H), 7,97-7,96 (m, 2H), 7,55-7,45 (m, 2H), 4,45 (t, J=5,1Гц, 4H), 3,88 (t, J=5,1Гц, 4H), 2,55-2,52 (m, 4H), 2,35 (s, 3H). ^{13}C ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 164,7, 159,7, 153,0, 136,1, 126,6, 126,5, 124,6, 121,8, 55,5, 54,7, 46,4, 46,0, 43,5.

Приклад 40



(5-Бензоіл-1H-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

А. (2-Гідроксиметил-1H-бензоімідазол-5-іл)-феніл-метанон.

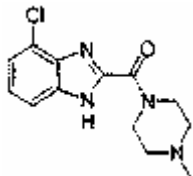
Суміш (3,4-діаміно-феніл)-феніл-метанону (4,28г, 20,16ммоль) та гліколевої кислоти (5мл, 70% розчин у воді) в 4N HCl (40мл) нагрівали до 100°C протягом 2 годин. Теплу суміш виливали у воду (350мл) та охолоджували. Нейтралізація концентрованим NH_4OH призводила до утворення твердої фази, яку збирали фільтруванням, промивали водою та сушили під вакуумом, одержуючи 4,99г (98%) зазначеної у заголовку проміжної сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $C_{15}H_{12}N_2O_2$, 252,09; m/z знайдено, 253,1 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$): 8,02-7,99 (m, 1H), 7,79-7,73 (m, 3H), 7,66-7,62 (m, 2H), 7,56-7,51 (m, 2H), 4,90 (ушир., 4H).

В. (5-Бензоіл-1H-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

До суспензії (2-гідроксиметил-1H-бензоімідазол-5-іл)-феніл-метанону (2,0г, 7,9ммоль) у воді (250мл) додавали 2M Na_2CO_3 (10мл). До суміші додавали по краплинам розчин 0,1M $KMnO_4$ (1,9г, 12,0ммоль). Цю суміш нагрівали до 100°C протягом 2 годин та потім відфільтровували гарячою, та охолоджений фільтрат підкислювали 3N оцтовою кислотою. Одержану тверду фазу збирали фільтруванням, промивали водою та

сушили під вакуумом. Неочищену кислоту (0,63г, 30%) використовували в амідному сполученні без подальшого очищення. До суспензії кислоти (120,7мг, 0,45ммоль) в DMF (3мл) додавали GDI (82,3мг, 0,51ммоль) та цю суміш перемішували протягом 1 години. Потім додавали N-метил піперазин (55мл) та реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 16 годин. Суміш виливали у воду (50мл) та екстрагували дихлорметаном. Об'єднані екстракти концентрували при зниженому тиску та залишок очищали на силікагелі (10г; 1-8% метанол (2M NH₃)/дихлорметан), одержуючи 71,8мг (45%) не зовсім білого осаду. MS (ESI): маса, розрахована для C₂₀H₂₀N₄O₂, 348,16; m/z знайдено, 349,1 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃): 12,21 (ушир, s, 1H), 8,25-8,22 (m, 0,5H), 7,93-7,91 (m, 1,5H), 7,83-7,79 (m, 2H), 7,62-7,56 (m, 1H), 7,51-7,46 (m, 2H), 4,83-4,73 (m, 2H), 3,96-3,93 (m, 2H), 2,61-2,59 (m, 2H), 2,56-2,53 (m, 2H), 2,36 (s, 3H).

Приклад 41



(4-Хлоро-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

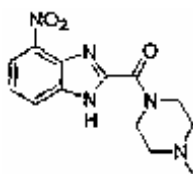
А. 4-Хлоро-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 1, використовуючи 3-хлоро-1,2-фенілендіамін (647мг, 4,52ммоль). Через 1,5 години додавали воду (10мл) та осад збирали фільтруванням, одержуючи 1,04мг (86%) зазначеної у заголовку проміжної сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для C₈H₄Cl₄N₂, 269,9; m/z знайдено, 271,0 [M+H]⁺.

В. (4-Хлоро-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 4-хлоро-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол (1,04г, 3,86ммоль) та N-метилпіперазин (0,39мл, 4,25ммоль). Очищенням одержували 594мг (56%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для C₁₃H₁₅ClN₄O, 278,74; m/z знайдено, 279,5 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃): 12,3-11,19 (s, 1H), 7,71-7,40 (m, 1H), 7,32 (d, J=7,8Гц, 1H), 7,23 (d, J=7,8Гц, 1H), 4,82-4,72 (m, 2H), 3,96-3,93 (m, 2H), 2,60-2,55 (m, 4H), 2,37 (s, 3H).

Приклад 42



(4-Метил-піперазин-1-іл)-(4-нітро-1Н-бензоімідазол-2-іл)-метанон.

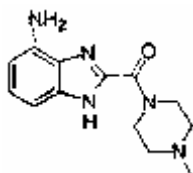
А. 4-Нітро-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 1, використовуючи 3-нітро-1,2-фенілендіамін (1г, 6,54ммоль). Через 1,5 години додавали воду (10мл) та осад збирали фільтруванням, одержуючи 1,18мг (64%) зазначеної у заголовку проміжної сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для C₈H₄Cl₃N₃O₂, 280,49; m/z знайдено, 281,2 [M+H]⁺.

В. (4-Метил-піперазин-1-іл)-(4-нітро-1Н-бензоімідазол-2-іл)-метанон.

Реакцію проводили, як описано в Загальній методиці 2, використовуючи 4-нітро-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазол (1,18г, 4,20ммоль) та N-метилпіперазин (0,70мл, 6,30ммоль). Очищенням одержували 801мг (66%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для C₁₃H₁₅N₅O₃, 289,29; m/z знайдено, 290,3 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃): 11,36-11,24 (s, 1H), 8,29 (d, J=7,8Гц, 1H), 8,17 (d, J=7,8Гц, 1H), 7,45 (t, J=7,8Гц, 1H), 4,71-4,68 (m, 2H), 3,92-3,89 (m, 2H), 2,58-2,54 (m, 4H), 2,37 (s, 3H).

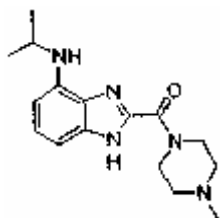
Приклад 43



(4-Аміно-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон.

До розчину (4-метил-піперазин-1-іл)-(4-нітро-1Н-бензоімідазол-2-іл)-метанону (640мг, 2,21ммоль) в 1:1 ТГФ/етанол (10мл з декількома краплями етилацетату) додавали 10% паладію на вуглецї (640мг). Реакційну суміш розміщали під 1атм. водню протягом 72 годин. Утворену суміш відфільтровували через діатомову землю та фільтрат концентрували при зниженому тиску. Неочищений продукт очищали на силікагелі (40г; 0-10% метанол/CH₂Cl₂), одержуючи 519мг (91%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для C₁₃H₁₇N₅O, 259,31; m/z знайдено, 260,3 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃): 12,21-11,36 (s, 1H), 7,12 (t, J=7,8Гц, 1H), 6,94-6,83 (m, 1H), 6,53 (d, J=7,8Гц, 1H), 4,82-4,78 (m, 2H), 4,43-4,40 (m, 2H), 3,94-3,92 (m, 2H), 2,56-2,54 (m, 4H), 2,35 (s, 3H).

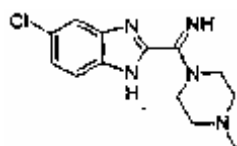
Приклад 44



(4-Ізопропіламіно-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанол.

До розчину (4-аміно-1Н-бензоімідазол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанолу (Приклад 43; 50мг, 0,19ммоль) в дихлороетані (10мл) додавали ацетон (0,07мл, 0,96ммоль) та оцтову кислоту (10 крапель), потім додавали $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (203мг, 0,96ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 16 годин та потім гасили насиченим водн. NaHCO_3 (5мл). Водний шар екстрагували CDCl_3 (10мл) та об'єднані органічні шари сушили (Na_2SO_4) та потім концентрували при зниженому тиску. Неочищений продукт очищали на силікагелі (10г; 0-10% метанол (2М NH_3)/ CH_2Cl_2), одержуючи 35мг зазначеної у заголовку сполуки (60%). MS (ESI): маса, розрахована для $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}$, 301,39; m/z знайдено, 302,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3): 11,11-11,07 (s, 1H), 7,18 (t, $J=7,8$ Гц, 1H), 6,76 (d, $J=7,8$ Гц, 1H), 6,37 (d, $J=7,8$ Гц, 1H), 4,80-4,65 (m, 2H), 3,92-3,78 (m, 2H), 2,56-2,53 (m, 4H), 2,36 (s, 3H), 1,85-1,81, (m, 1H), 1,32 (d, $J=6,3$ Гц, 6H).

Приклад 45



C-(5-Хлоро-1Н-бензоімідазол-2-іл)-C-(4-метил-піперазин-1-іл)-метиленамін.

До суспензії 5-хлоро-2-трихлорометил-1Н-бензоімідазолу (100мг, 0,37ммоль) в ацетонітрилі (4мл) додавали N-метилпіперазин (0,04мл, 0,4ммоль). Суміш перемішували протягом 10 хвилин, потім додавали ацетат амонію (29мг, 0,38ммоль). Через 18 годин реакційну суміш розбавляли насиченим водн. NaHCO_3 (10мл) та потім екстрагували дихлорметаном (3×10мл). Об'єднані екстракти сушили (Na_2SO_4) та потім концентрували при зниженому тиску. Неочищений продукт очищали на силікагелі (10г; 0-10% метанол (2М NH_3)/дихлорметан), одержуючи 23мг (22%) зазначеної у заголовку сполуки. MS (ESI): маса, розрахована для $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}$, 277,11; m/z знайдено, 278,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3): 7,79-7,74 (m, 2H), 7,45 (dd, $J=8,6$, 2,0 Гц, 1H), 4,23-4,17 (m, 4H), 3,63-3,58 (m, 4H), 3,01 (s, 3H).

Біологічні Приклади

Аналіз зв'язування на рекомбінантному людському H_4 рецепторі гістаміну.

SK-N-MC клітини або COS7 клітини тимчасово заражали pH4R та вирощували в 150см тканинних чашках для культивування. Клітини промивали розчином солі, зскрібали клітинним скальпелем та збирали центрифугуванням (1000об/хв, 5 хвилин). Клітинні мембрани готували гомогенізацією клітинного осаду після центрифугування в 20мМ Трис- HCl з політрон-тканинним гомогенізатором протягом 10с при високій швидкості. Гомогенат центрифугували при 1000об/хв протягом 5 хвилин при 4°C. Потім збирали надосадову рідину та центрифугували при 20,000 x г протягом 25 хвилин при 4°C. Кінцевий осад ресуспендували в 50мМ Трис- HCl . Клітинні мембрани інкубували ^3H -гістаміном (5-70нМ) в присутності або відсутності надлишку гістаміну (10000нМ). Інкубація відбувалася при кімнатній температурі протягом 45 хвилин. Мембрани одержували швидким фільтруванням через фільтри Whatman GF/C та промивали 4 рази крижаним 50мМ Трис HCl . Потім фільтри сушили, змішували зі сцинтилятором та розраховували радіоактивність. SK-N-MC або COS7 клітини, експресуючі H_4 рецептор людського гістаміну, використовували, щоб виміряти спорідненість до зв'язування інших сполук та їх здатність витіснити ^3H -ліганд зв'язування за допомогою інкубації вище-описаної реакції в присутності різних концентрацій інгібітора або тестованих сполук. Для конкуренції зв'язуючих досліджень, використовуючи ^3H -гістамін, значення K_i розраховували, базуючись на експериментально визначеному значенні K_i 5нМ та концентрації ліганду 5нМ, відповідно до [Y.-C. Cheng та W.H. Prusoff (Biochem. Pharmacol. 1973, 22(23):3099-3108)]: $K_i = (\text{IC}_{50}) / (1 + ([L] / (K_D)))$.

Результати аналізу зв'язування

ПР	K_i (нМ)	ПР	K_i (нМ)	ПР	K_i (нМ)
1	32	16	1300	31	42
2	490	17	535	32	460
3	331	18	226	34	833
4	1400	19	1000	35	620
5	89	20	156	36	1200
6	25	21	468	37	1300
7	87	22	31	38	1600
8	300	23	135	39	810
9	28	24	270	40	8000
10	620	25	613	41	57
11	355	26	528	45	110
12	807	27	11	46	64

13	380	28	420	47	158
14	53	29	26	48	23
15	216	30	370	49	51

Аналіз хемотаксису мастоцитів

Нагромадження мастоцитів в епітелію слизової оболонки є відомою ознакою алергічних ринітів та астми. Переносні лунки (Costar, Cambridge, MA) з розміром пор 8мкм покривали 100мкл 100нг/мл людського фібронектину (Sigma) протягом 2 годин при кімнатній температурі. Після видалення фібронектину 600мкл RPMI з 5% BSA в присутності 10мкМ гістаміну додавали до нижньої камери. Щоб дослідити різні антагоністи рецептора гістаміну (HR), 10мкМ та/або 1мкМ розчини тестових сполук додавали до верхньої та нижньої камер. Мастоїдити (2×10^5 /лунка) додавали до верхньої камери. Планшети інкубували протягом 3 годин при 37°C. Переносні лунки видаляли та клітини в нижній камері рахували протягом шістдесяти секунд, використовуючи проточний цитометр.

10мкМ Гістамін	HR Антагоніст (мкМ)				Аналіз зв'язування
	10		1		
ПР	% Інг.	Stdev	% Інг.	Stdev	K _i (нМ)
9	97		72	11	28
6	97	1	84	5	25
7	101	1	8	15	87
25	27	75	66	12	613

Розподілення клітинного типу H₄ експресії

RNA готували з різних клітин, використовуючи комплект RNeasy (Qiagen, Valencia, CA) згідно інструкцій виробника. RNA зразки (5мкг) проявляли на RNA гелі та потім переміщали на ніч до нейлонового блоту (Hybond, Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ). Блот попередньо гібридизували ExpressHyb розчином (CLONTECH) протягом 30 хвилин при 68°C. H₄ Рецептор DNA помічали, використовуючи комплект Rediprime II (Amersham Pharmacia Biotech). Блот гібридизували протягом 2 годин при 68°C, з наступною однією стадією промивки (23 SSC та 0,05% SDS) 40 хвилин при кімнатній температурі та другою стадією промивки (0,13 SSC та 0,1% SDS) 40 хвилин при 50°C. Блот піддавали дії рентгенівських променів при -70°C з двома підсилюючими екранами протягом ночі.

Результати

Результати Northern Blot вказують, що H₄ рецептор виражений на кістково-мозгових вторинних мастоцитах (BMMC), перитонеальних мастоцитах та еозинофілах. Ці позитивні результати узгоджуються з опублікованою літературою [наприклад Oda та інші, Nguyen та інші, та Morse та інші в розділі „Передумови створення винаходу“]. Проте, негативні результати Northern Blot-експерименту, такі як виявлення можливо невимірних рівнів H₄ рецептора, вираженого нейтрофілами, відрізняється дещо від згаданих вище отриманих даних літератури. Це може пояснюватися використанням різних методик. Нагромадження мастоцитів та еозинофілів в уражених тканинах є однією з основних ознак алергічних ринітів та астми. Оскільки експресія H₄ рецептора є обмежена цими типами клітин; сигналізація H₄ рецептора, ймовірно, опосередковує інфільтрацію мастоцитів та еозинофілів у відповідь на гістамін. Додаткове дослідження може також прояснити ці проблеми. Наступна таблиця показує розподілення клітинного типу H₄ експресії за допомогою Northern Blot.

Вид	Тип клітини	H ₄
Людина	Еозинофіли	+
	Незрілі дендроподібні клітини	-
	Зрілі дендроподібні клітини	-
	CD14 ⁺ моноцити	-
	CD4 ⁺ Т клітини	-
	CD8 ⁺ Т клітини	-
	В клітини	-
	Нейтрофіли	-
Миша/(Щур)	Еозинофіли	+
	Перитоніальні мастоцити (щур)	+
	BMMC	+
	BM вторинні макрофаги	-
	Перитоніальні макрофаги	-
	CD4 ⁺ Т	-
	В клітини	-

Інгібування зміни форми еозинофілів за допомогою антагоністів H₄ рецептора гістаміну

Нагромадження еозинофілів на ділянках алергічної реакції є відомою ознакою алергічних ринітів та астми. Цей приклад демонструє, що антагоністи рецептора H₄ гістаміну можуть блокувати реакцію змін форми в людських еозинофілах у відповідь на гістамін. Зміна форми є клітинною властивістю, яка передуює хемотаксису еозинофілів.

Способи

Людські зернисті лейкоцити відокремлювали з людської крові за допомогою Ficoll градієнта. Червоні кров'яні клітини розчиняли в 5-10X Qiagen буфері лізису при кімнатній температурі протягом 5-7 хвилин. Зернисті лейкоцити збирали та промивали один раз FACS буфером. Клітини ресуспендували з густиною 2×10^6 клітин/мл в реакційному буфері. Щоб дослідити інгібування за допомогою особливих антагоністів рецепторів гістаміну, 90мкл суспензії клітин ($\sim 2 \times 10^5$ клітин) інкубували 10мкМ однієї з багатьох тестованих

сполук. Після 30 хвилин додавали 11мкл однієї з різних концентрацій гістаміну. Через десять хвилин клітини переміщали в лід та фіксували 250мкл крижаного фіксуючого буферу (2% формальдегіду) протягом 1 хвилини. Зміну форми кількісно визначали, використовуючи керовану автофлуоресценцію перед аналізом розсіювання (GAPS) [Byran та інші, Am. J. Crit. Care Med. 2002, 165:1602-1609].

Результати - гістамін опосередковує зміну форми еозинофілів за допомогою H_4 рецептора

Зміна у формі еозинофілів є результатом змін цитоскелету, що передуює хемотаксису, і, таким чином, є мірою хемотаксису. Дані в наступній таблиці показують, що гістамін індукує дозо-залежну зміну форми в еозинофілах. Антагоністи рецептора гістаміну (HR) використовують, щоб відсортувати, який рецептор гістаміну відповідальний за зміну форми. Антагоністи, видові для H_1 рецептора гістаміну (дифенгідрамін) або для H_2 рецептора (ранатидин), не змінювали гістамін-викликану зміну форми. Проте, подвійний H_3/H_4 антагоніст (тіоперамід) та специфічний антагоніст H_4 рецептора гістаміну ((5-Хлоро-1Н-індол-2-іл)-(4-метил-піперазин-1-іл)-метанон, $K_i=5\text{нМ}$) інгібували гістамін-викликану зміну форми еозинофілів з IC_{50} 1,5 та 0,27мкМ, відповідно.

	Зміна складки				
Гістамін (мкМ):	10	1	0,1	0,01	0
He HR					
антагоніст	1,34	1,31	1,21	0,01	1,00
10мкМ H_4					
антагоніст	1,09	1,05	1,05	1,01	1,00
10мкМ Thiop	1,08	1,05	1,01	1,04	1,00
10мкМ Diphen	1,63	1,50	1,18	1,03	1,00
10мкМ Ranat	1,64	1,49	1,21	1,04	1,00

Інгібування хемотаксису еозинофілів за допомогою антагоністів H_4 рецептора гістаміну

Нагромадження еозинофілів на ділянках алергічної реакції є відомою ознакою алергічних ринітів та астми. Еозинофіли очищають від людської крові стандартними способами. Аналіз хемотаксису проводять, використовуючи переносні лунки (Costar, Cambridge, MA) з розміром пор 5мкм, вкриті 100мкл 100нг/мл людського фібронектину (Sigma) протягом 2 годин при кімнатній температурі. Після видалення фібронектину 600мкл RPMI з 5% BSA в присутності гістаміну (діапазон 1,25-20мкМ) додають до нижньої камери. Щоб дослідити різні антагоністи рецептора гістаміну, 10мкМ тестових сполук можуть бути додані до верхньої та нижньої камер. Еозинофіли будуть додавати до верхньої камери, тоді як гістамін або чинники, які викликають хемотаксис, будуть розміщені в нижній камері. Планшети інкубують протягом 3 годин при 37°C. Переносні лунки видаляють та кількість клітин в нижній камері може бути визначена протягом шістдесяти секунд, використовуючи проточний цитометр, або може бути кількісно визначена, використовуючи метод забарвлювання по Гімза.

Інгібування зимозан-викликаного перитоніту в мишах за допомогою антагоністів H_4 рецептора гістаміну

Було продемонстровано, що антагоністи H_4 рецептора гістаміну можуть блокувати перитоніт, викликаний зимозаном, який є нерозчинним полісахаридним компонентом на стінці клітин *Saccharomycetes cerevisiae*. Він звичайно використовується, щоб викликати перитоніт в мишах та, проявляє дію в мастоцит-залежному способі. Сполуки за даним винаходом можуть бути досліджені в такій моделі, щоб продемонструвати їх використання як анти-запальних агентів. Мишам дають сполуку або PBS, або s.c. або p.o. (час приймався за 0). Через п'ятнадцять хвилин кожна миша одержує 1мг зимозану (Sigma) i.p. Мишей вбивають через 4 години, та черевні порожнини промивають 3мл PBS, що містить 3мМ EDTA. Кількість мігрованих лейкоцитів визначають, беручи аліквотну пробу (100мкл) рідини промивання та розбавляючи її 1:10 розчином Тюрка (0,01% кристалічного фіолетового в 3% оцтової кислоті). Потім зразки струшують, та 10мкл забарвленого розчину клітин поміщають в лічильну камеру Нойбаєра. Диференціальні підрахунки клітин виконують, використовуючи оптичний мікроскоп (Olympus B061). Зважаючи на їх колірні характеристики та зовнішній вигляд ядра і цитоплазми, поліморфно-ядерні лейкоцити (PMN; >95% нейтрофілів) можуть бути легко ідентифіковані. Обробка зимозаном збільшує кількість нейтрофілів, що є характерним для запальної реакції. Обробка антагоністом H_4 рецептора блокує це збільшення.

Інгібування хемотаксису мастоцитів за допомогою антагоніста H_4 рецептора в тваринній моделі астми та алергічного риніту

Тваринна модель буде використана, щоб спостерігати за ходом досліджень, що мастоцити нагромаджуються у відповідь на алергічне запалення, та що це може бути блоковане за допомогою антагоністів H_4 рецептора. Сполуки за даним винаходом можуть бути досліджені в цій моделі, щоб продемонструвати їх використання при лікуванні алергічного риніту або астми. В мишах збільшують чутливість за допомогою інтраперитонеальної ін'єкції яєчного альбуміну/квасци (10нг в 0,2мл $Al(OH)_3$; 2%) на День 0 та День 14. На День 21 23 мишам зроблять ін'єкцію PBS або яєчного альбуміну, та вб'ють через 24 години після введення на День 24. Ділянка трахеї буде видалена та зафіксована у формаліні. Введення тканини у парафін та продольний розтин трахеї, буде виконаний з подальшим забарвленням мастоцитів толуїдиновим синім. Альтернативно, трахея буде заморожена в OCT для кріостатного зрізу, та мастоцити будуть ідентифіковані за допомогою IgE забарвлювання. Мастоцити будуть кількісно визначені як підслизова або під-епітеліальна залежність від їх розташування в межах кожної секції трахеї. Піддавання впливу алергену повинне збільшити кількість під-епітеліальних мастоцитів, та цей ефект буде блокований антагоністами H_4 рецептора.

Особливості та переваги винаходу очевидні фахівцю в даній області техніки. Базуючись на цьому описі, включаючи короткий опис, детальний опис, передумови створення винаходу, приклади та формулу, фахівець в даній області техніки буде здатний здійснити модифікації та адаптації до різних умов та використань. Публікації, описані тут, включені за допомогою посилань в повному обсязі. Ці інші втілення винаходу також включені в межі даного винаходу.