

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03824969.3

A61K 31/496

A61K 31/551

A61K 31/439

A61K 31/4184

C07D235/16

C07D471/04

C07D413/06

[43] 公开日 2005 年 11 月 9 日

[11] 公开号 CN 1694704A

[22] 申请日 2003.9.4 [21] 申请号 03824969.3

[30] 优先权

[32] 2002.9.6 [33] US [31] 60/408,569

[86] 国际申请 PCT/US2003/027461 2003.9.4

[87] 国际公布 WO2004/022060 英 2004.3.18

[85] 进入国家阶段日期 2005.5.8

[71] 申请人 詹森药业有限公司

地址 比利时比尔斯

[72] 发明人 N·L·卡鲁特尔斯

C·A·德沃拉克

J·P·爱德华兹 C·A·格里斯

J·A·亚布洛诺夫斯基

K·S·利 B·A·皮奥

C·R·沙 J·D·维纳布尔

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 庞立志

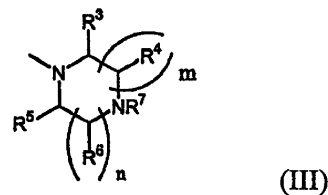
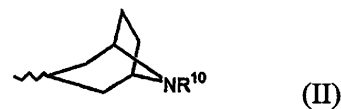
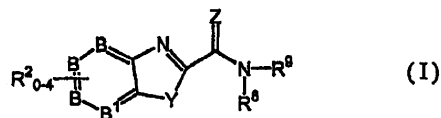
C07D417/06

权利要求书 13 页 说明书 53 页

[54] 发明名称 (1H-苯并咪唑-2-基)-(哌嗪基)-甲酮衍生物及其相关化合物作为组胺 H₄ 受体拮抗剂用于治疗炎症和过敏性疾病

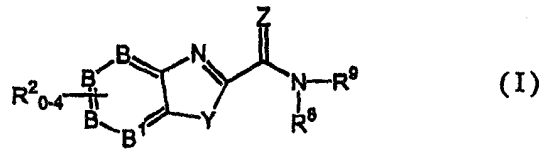
[57] 摘要

式(I)的(1H-苯并咪唑-2-基)-(哌嗪基)-甲酮衍生物及其相关化合物作为组胺 H₄受体拮抗剂,用于治疗炎症和过敏性疾病,式(I)中 B 和 B¹为 C,或最多 B 和 B¹中的一个可为 N; Y 为 O、S 或 NR²,其中 R²为 H 或 C₁₋₄烷基; Z 为 O 或 S; R⁸为 H, R⁹为(II),其中 R¹⁰为 H 或 C₁₋₄烷基,或者 R⁸和 R⁹以及连接它们的 N 共同形成(III); n 为 1 或 2; m 为 1 或 2; n+m 为 2 或 3; 其它取代基如权利要求 1 中的定义。



ISSN 1008-4274

1.一种式(I)的化合物及其对映异构体、非对映异构体、以及它们的药学可接受的盐和酯:



5

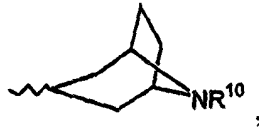
其中

B 和 B¹ 为 C, 或最多 B 和 B¹ 中的一个可为 N;

Y 为 O、S 或 NR^Z, 其中 R^Z 为 H 或 C₁₋₄ 烷基;

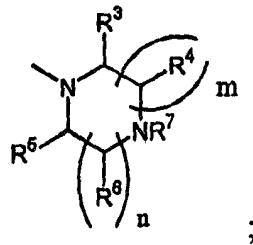
Z 为 O 或 S;

10 R⁸ 为 H, R⁹ 为



其中 R¹⁰ 为 H 或 C₁₋₄ 烷基, 或者

R⁸ 和 R⁹ 与连接它们的 N 共同形成



15 n 为 1 或 2;

m 为 1 或 2;

n + m 为 2 或 3;

R² 独立为 H、F、Cl、Br、I、C₁₋₄ 烷基、C₁₋₄ 烷氧基、-C₃₋₆ 环烷基、-

OC₃₋₆ 环烷基、-OCH₂Ph、-CF₃、-OCF₃、-SCF₃、-OH、-(C=O)R^k(其中

20 R^k 为 H、C₁₋₄ 烷基、-OH、苯基、苯甲基、苯乙基或 C₁₋₆ 烷氧基)、-

(N-R^t)(C=O)R^k(其中 R^t 为 H 或 C₁₋₄ 烷基)、-(N-R^t)SO₂C₁₋₄ 烷基、-

- (S=(O)_p)-C₁₋₄ 烷基(其中 p 为 0、1 或 2)、硝基、-NR^lR^m(其中 R^l 和 R^m 独立选自 H、C₁₋₄ 烷基、苯基、苯甲基或苯乙基, 或者 R^l 和 R^m 与连接它们的氮共同形成 4-7 元杂环, 该杂环另外带有 0 或 1 个选自 O、S、NH 或 NC₁₋₄ 烷基的杂原子)、-SO₂NR^lR^m、-(C=O)NR^lR^m、氰基或苯基, 并且前述基团中的任何苯基或烷基或环烷基部分任选独立被 1-3 个选自 C₁₋₃ 烷基、卤基、羟基、氨基和 C₁₋₃ 烷氧基的取代基取代;
- R³ 和 R⁴ 独立为 H、C₁₋₄ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、C₁₋₄ 烷基(C₃₋₆ 环烷基)、氰基、-CF₃、-(CO)NR^pR^q、-(CO)OR^r、-CH₂NR^pR^q 或 -CH₂OR^r; 其中 R^p、R^q 和 R^r 独立选自 H、C₁₋₄ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、苯基、-C₁₋₂ 烷基(C₃₋₆ 环烷基)、苯甲基或苯乙基, 或者 R^p 和 R^q 与连接它们的氮共同形成 4-7 元杂环, 该杂环还另外带有 0 或 1 个选自 O、S、NH 或 NC₁₋₆ 烷基的杂原子, 并且前述基团中的任何苯基或烷基或环烷基部分任选独立被 1-3 个选自 C₁₋₃ 烷基、卤基、羟基、氨基和 C₁₋₃ 烷氧基的取代基取代;
- R⁵ 和 R⁶ 独立为 H 或 C₁₋₆ 烷基;
- R⁷ 为 -R^a、-R^bR^a、-R^e-O-R^a 或 -R^e-N(R^c)(R^d), 其中 R^a 为 H、氰基、-(C=O)N(R^c)(R^d)、-C(=NH)(NH₂)、C₁₋₁₀ 烷基、C₂₋₈ 烯基、C₃₋₈ 环烷基、C₄₋₇ 杂环基或苯基, 其中 C₄₋₇ 杂环基在其碳原子上与所述 N 连接并包含一个 O、S、NH 或 NC₁₋₄ 烷基, 而且 5 或 6 或 7 元环中还任选包含一个 NH 或 NC₁₋₆ 烷基; R^b 为 C₁₋₈ 亚烷基或 C₂₋₈ 亚烯基; R^e 为 C₂₋₈ 亚烷基或 C₂₋₈ 亚烯基; R^c 和 R^d 各自独立为 H、C₁₋₄ 烷基、C₂₋₄ 烯基、C₃₋₆ 环烷基或苯基, 或 R^c 和 R^d 与连接它们的氮共同形成 4-7 元杂环, 该杂环另外带有 0 或 1 个选自 O、S、NH 或 NC₁₋₆ 烷基的杂原子, 并且前述基团中的任何苯基或烷基或环烷基部分任选独立被 1-3 个选自 C₁₋₃ 烷基、卤基、羟基、氨基和 C₁₋₃ 烷氧基的取代基取代;
- 或者, R⁷ 可与相邻的 R⁴ 以及连接它们的碳和氮共同形成 5、6 或 7 元杂环, 该杂环还另外带有 0 或 1 个选自 O、S、NH 或 NC₁₋₆ 烷基的杂原子, 并任选独立被 1-3 个选自 C₁₋₃ 烷基、卤基、羟基、氨基和 C₁₋₃ 烷氧基的取代基取代;

前提条件为:

与 N 相邻的 R^4 不为 H 时与 N 相邻的 R^6 必须为 H, 当 R^4 和 R^6 之一为甲基而另一个为氢时 R^2 不可为苯甲酰基。

2. 权利要求 1 的化合物, 其中 B 和 B^1 为 C, 或 B^1 可为 N。
- 5 3. 权利要求 1 的化合物, 其中 B 和 B^1 为 C。
4. 权利要求 1 的化合物, 其中 Y 为 NH。
5. 权利要求 1 的化合物, 其中 Z 为 O。
6. 权利要求 1 的化合物, 其中 R^{10} 为 H 或甲基。
7. 权利要求 1 的化合物, 其中 n 为 1, m 为 1。
- 10 8. 权利要求 1 的化合物, 其中 R^2 独立选自 H、-F、-Cl、-Br、-I、-CH₃、-CH₂CH₃、-OCH₃、-OCH₂CH₃、-OCH(CH₃)₂、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、-O 环戊基、-O 环己基、-CF₃、-OCF₃、-SCF₃、-C(O)CH₃、-C(O)CH₂CH₃、-OH、-COOH、-C(O)苯基、-C(O)苯甲基、-COOCH₃、-COOCH₂CH₃、-NHCOCH₃、-NCH₃COCH₃、-NHSO₂CH₃、-NCH₃SO₂CH₃、-SOCH₃、-SO₂CH₃、-NO₂、-NH₂、-NHCH₃、-N(CH₃)₂、-N(CH₂CH₃)₂、-吡咯烷-1-基、-咪唑烷-1-基、-吡唑烷-1-基、-哌啶-1-基、-哌嗪-1-基、-吗啉-4-基、-硫代吗啉-4-基、-SO₂NH₂、-SO₂NHCH₃、-SO₂N(CH₃)₂、-SO₂N(CH₂CH₃)₂、-SO₂吡咯烷-1-基、-SO₂咪唑烷-1-基、-SO₂吡唑烷-1-基、-SO₂哌啶-1-基、-SO₂哌嗪-1-基、-SO₂吗啉-4-基、-SO₂硫代吗啉-4-基、-C(O)NH₂、-C(O)N(CH₃)₂、-C(O)NH(CH₃)、-C(O)N(CH₂CH₃)₂、-C(O)吡咯烷-1-基、-C(O)咪唑烷-1-基、-C(O)吡唑烷-1-基、-C(O)哌啶-1-基、-C(O)哌嗪-1-基、-C(O)吗啉-4-基、-C(O)硫代吗啉-4-基、-CN 和苯基。
- 15 9. 权利要求 1 的化合物, 其中 R^2 独立选自氢、甲基、三氟甲基、甲氧基、三氟甲氧基、硝基、氯、氟和苯甲酰基。
- 25 10. 权利要求 1 的化合物, 其中一个或两个 R^2 不为氢。
11. 权利要求 1 的化合物, 其中 R^3 和 R^4 独立选自
 - a) H,

b) $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、正丁基、异丁基、叔丁基，

c) 环丙基、环戊基、环己基、 $-\text{CH}_2$ 环丙基、 $-\text{CH}_2$ 环戊基、 $-\text{CH}_2$ 环己基、 $-\text{CH}_2\text{O}$ 环丙基、 $-\text{CH}_2\text{O}$ 环戊基、 $-\text{CH}_2\text{O}$ 环己基，

5 d) 氰基，

e) 三氟甲基，

f) $-(\text{C}=\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{C}=\text{O})\text{NHC}_{1-4}$ 烷基、 $-(\text{C}=\text{O})\text{N}(\text{C}_{1-4} \text{烷基})_2$ 、 $-(\text{C}=\text{O})\text{NH}$ 苯基、 $-(\text{C}=\text{O})$ 吡咯烷-1-基、 $-(\text{C}=\text{O})$ 咪唑烷-1-基、 $-(\text{C}=\text{O})$ 吡唑烷-1-基、 $-(\text{C}=\text{O})$ 哌啶-1-基、 $-(\text{C}=\text{O})$ 哌嗪-1-基、 $-(\text{C}=\text{O})$ 吗啉-4-基、 $-(\text{C}=\text{O})$ 硫代吗啉-4-基，

10

g) $-\text{COOH}$ 、 $-\text{COOCH}_3$ 、 $-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{COO}$ 苯基、 $-\text{COO}$ 苯甲基，

h) $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{NHC}_{1-4}$ 烷基、 $-\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_{1-4} \text{烷基})_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{NH}$ 苯基、 $-\text{CH}_2\text{NH}$ 苯甲基、 $-\text{CH}_2$ 吡咯烷-1-基、 $-\text{CH}_2$ 咪唑烷-1-基、 $-\text{CH}_2$ 吡唑烷-1-基、 $-\text{CH}_2$ 哌啶-1-基、 $-\text{CH}_2$ 哌嗪-1-基、 $-\text{CH}_2$ 吗啉-4-基、 $-\text{CH}_2$ 硫代吗啉-4-基，

15

i) $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{O}$ -正丁基、 $-\text{CH}_2\text{O}$ -异丁基、 $-\text{CH}_2\text{O}$ -叔丁基、 $-\text{CH}_2\text{O}$ 苯基、 $-\text{CH}_2\text{O}$ 苯甲基和 $-\text{CH}_2\text{OCH}_2$ 环丙基。

20

12. 权利要求 1 的化合物，其中 R^3 和 R^4 独立为 H 或 $-\text{CH}_3$ 。

13. 权利要求 1 的化合物，其中 R^5 和 R^6 独立选自 H 和甲基。

14. 权利要求 1 的化合物，其中 R^5 和 R^6 为 H。

15. 权利要求 1 的化合物，其中 R^7 选自

25

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

b) 氰基，

c) $-(\text{C}=\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{C}=\text{O})\text{NHC}_{1-4}$ 烷基、 $-(\text{C}=\text{O})\text{N}(\text{C}_{1-4} \text{烷基})_2$ 、 $-(\text{C}=\text{O})\text{NH}$ 苯基、 $-(\text{C}=\text{O})$ 吡咯烷-1-基、 $-(\text{C}=\text{O})$ 咪唑烷-1-基、 $-(\text{C}=\text{O})$ 吡唑烷-1-基、

- (C=O)哌啶-1-基、-(C=O)哌嗪-1-基、-(C=O)吗啉-4-基、-(C=O)硫代吗啉-4-基、-CH₂(C=O)NH₂、-CH₂(C=O)NHC₁₋₄ 烷基、-CH₂(C=O)N(C₁₋₄ 烷基)₂、-CH₂(C=O)NH 苯基、-CH₂(C=O)吡咯烷-1-基、-CH₂(C=O)咪唑烷-1-基、-CH₂(C=O)吡啶烷-1-基、-CH₂(C=O)哌啶-1-基、-CH₂(C=O)哌嗪-1-基、-CH₂(C=O)吗啉-4-基、-CH₂(C=O)硫代吗啉-4-基、-CH₂CH₂O(C=O)NH₂、-CH₂CH₂O(C=O)NHC₁₋₄ 烷基、-CH₂CH₂O(C=O)N(C₁₋₄ 烷基)₂、-CH₂CH₂O(C=O)NH 苯基、-CH₂CH₂O(C=O)吡咯烷-1-基、-CH₂CH₂O(C=O)咪唑烷-1-基、-CH₂CH₂O(C=O)吡啶烷-1-基、-CH₂CH₂O(C=O)哌啶-1-基、-CH₂CH₂O(C=O)哌嗪-1-基、-CH₂CH₂O(C=O)吗啉-4-基、-CH₂CH₂O(C=O)硫代吗啉-4-基,
- d) -C(=NH)(NH₂)、-CH₂C(=NH)(NH₂),
- e) -CH₃、-CH₂CH₃、-CH₂CH₂CH₃、-CH(CH₃)₂、正丁基、异丁基、叔丁基、-CH₂CH₂OCH₃、-CH₂CH₂OCH₂CH₃、-CH₂CH₂OCH₂CH₂CH₃、-CH₂CH₂OCH(CH₃)₂、-CH₂CH₂O-正丁基、-CH₂CH₂O-异丁基、-CH₂CH₂O-叔丁基,
- f) -CH=CH₂、-CH₂CH=CH₂,
- g) 环丙基、环戊基、环己基、-CH₂环丙基、-CH₂环戊基、-CH₂环己基、-CH₂CH₂O环丙基、-CH₂CH₂O环戊基、-CH₂CH₂O环己基,
- h) 吡咯烷基、咪唑烷基、吡啶烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、-CH₂吡咯烷基、-CH₂咪唑烷基、-CH₂吡啶烷基、-CH₂哌啶基、-CH₂哌嗪基、-CH₂吗啉基、-CH₂硫代吗啉基,
- i) -CH₂CH₂NH₂、-CH₂CH₂NHC₁₋₄ 烷基、-CH₂CH₂N(C₁₋₄ 烷基)₂、-CH₂CH₂NH 苯基、-CH₂CH₂吡咯烷-1-基、-CH₂CH₂咪唑烷-1-基、-CH₂CH₂吡啶烷-1-基、-CH₂CH₂哌啶-1-基、-CH₂CH₂哌嗪-1-基、-CH₂CH₂吗啉-4-基、-CH₂CH₂硫代吗啉-4-基,
- j) 苯基、苯甲基、苯乙基和苯甲基氧基甲基。
16. 权利要求 1 的化合物, 其中 R⁷ 选自 H、-CH₃ 和 -CH₂CH₃。

17.权利要求1的化合物,其中R⁷与相邻的R⁴以及连接它们的碳和氮共同为吡咯烷-1,2-基、咪唑烷-1,2-基、咪唑烷-1,5-基、吡唑烷-1,5-基、哌啶-1,2-基、哌嗪-1,2-基、吗啉-4,5-基和硫代吗啉-4,5-基。

18.权利要求1的化合物,其中R⁷与相邻的R⁴以及连接它们的碳和氮共同为吡咯烷-1,2-基和哌啶-1,2-基。

19.权利要求1的化合物,所述化合物选自:

- | 实施例 | 化合物 |
|-----|---|
| | 1 (1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 2 (1H-苯并咪唑-2-基)-(4-乙基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| 10 | 3 (1H-苯并咪唑-2-基)-(3-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 4 (1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-[1,4]二氮杂环庚烷-1-基)-甲酮; |
| | 5 1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲酰胺; |
| | 6 (5-氯-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 7 (5-氯-1H-苯并咪唑-2-基)-哌嗪-1-基-甲酮; |
| 15 | 8 (5-氯-1H-苯并咪唑-2-基)-(3-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 9 (5,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 10 (5,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-乙基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 11 (5,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(3-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 12 (5,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-[1,4]二氮杂环庚烷-1-基)-甲 |
| 20 | 酮; |
| | 13 5,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲 |
| | 酰胺; |
| | 14 (6-氯-5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 15 (6-氯-5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-哌嗪-1-基-甲酮; |
| 25 | 16 (6-氯-5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-[1,4]二氮杂环庚烷-1-基)-甲 |
| | 酮; |
| | 17 6-氯-5-氟-1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲 |
| | 酰胺; |

- 18 (5-氯-6-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 19 (5-氯-6-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-哌嗪-1-基-甲酮;
- 20 (4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(3-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 21 (4-乙基-哌嗪-1-基)-(4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮;
- 5 22 (4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 23 (4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-哌嗪-1-基-甲酮;
- 24 4-甲基-1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲酰胺;
- 25 5-甲基-1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲酰胺;
- 10 26 (5-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 27 (4-甲基-哌嗪-1-基)-(5-三氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮;
- 28 哌嗪-1-基-(5-三氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮;
- 29 (5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 15 30 (4-乙基-哌嗪-1-基)-(5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮;
- 31 (5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-哌嗪-1-基-甲酮;
- 32 (5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(3-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 33 5-氟-1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲酰胺;
- 20 34 (3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 35 苯并噁唑-2-基-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 36 (7-甲基-苯并噁唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 37 (5-甲基-苯并噁唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 38 (4-甲基-苯并噁唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 25 39 苯并噻唑-2-基-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 40 (5-苯甲酰基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 41 (4-氯-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 42 (4-甲基-哌嗪-1-基)-(4-硝基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮;

- 43 (4-氨基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
 44 (4-异丙基氨基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
 45 C-(5-氯-1H-苯并咪唑-2-基)-C-(4-甲基-哌嗪-1-基)-亚甲基胺。

20. 权利要求 1 的化合物, 所述化合物选自:

5 实施例 化合物

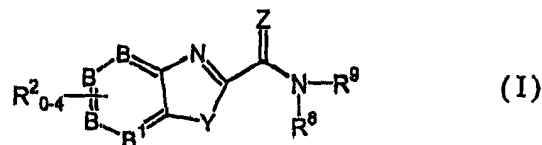
- 46 (4,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
 47 (4-甲基-哌嗪-1-基)-(5-硝基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮;
 48 (5-氟-4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
 49 (5-溴-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。

10 21. 权利要求 1 的化合物, 所述化合物选自:

实施例 化合物

- 50 (5,6-二氯-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
 51 (4,5-二甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
 52 (5,6-二甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
 15 53 (5-甲氧基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
 54 (5-氯-苯并噁唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
 55 (5-氟-苯并噁唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
 56 (6-氟-苯并噁唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
 57 (5,7-二氟-苯并噁唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
 20 58 (4-甲基-哌嗪-1-基)-(5-三氟甲氧基-苯并噁唑-2-基)-甲酮;
 59 (5-氯-苯并噻唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
 60 (4-甲基-哌嗪-1-基)-(5-三氟甲基-苯并噻唑-2-基)-甲酮。

22. 一种药用组合物, 所述组合物包含式(I)化合物及其对映异构体、非对映异构体、以及它们的药学可接受的盐和酯:



25

其中

B 和 B^1 为 C, 或最多 B 和 B^1 中的一个可为 N;

Y 为 O、S 或 NR^Z , 其中 R^Z 为 H 或 C_{1-4} 烷基;

Z 为 O 或 S;

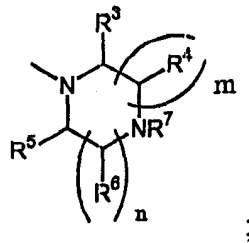
R^8 为 H, R^9 为

5



其中 R^{10} 为 H 或 C_{1-4} 烷基, 或者

R^8 和 R^9 与连接它们的 N 共同形成



n 为 1 或 2;

10 m 为 1 或 2;

n + m 为 2 或 3;

R^2 独立为 H、F、Cl、Br、I、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-C_{3-6}$ 环烷基、 $-OC_{3-6}$ 环烷基、 $-OCH_2Ph$ 、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-SCF_3$ 、 $-OH$ 、 $-(C=O)R^k$ (其中 R^k 为 H、 C_{1-4} 烷基、 $-OH$ 、苯基、苯甲基、苯乙基或 C_{1-6} 烷氧基)、

15 $-(N-R^l)(C=O)R^k$ (其中 R^l 为 H 或 C_{1-4} 烷基)、 $-(N-R^l)SO_2C_{1-4}$ 烷基、 $-(S(O)_p)-C_{1-4}$ 烷基 (其中 p 为 0、1 或 2)、硝基、 $-NR^lR^m$ (其中 R^l 和 R^m 独立选自 H、 C_{1-4} 烷基、苯基、苯甲基或苯乙基, 或者 R^l 和 R^m 与连接它们的氮共同形成 4-7 元杂环, 该杂环另外带有 0 或 1 个选自 O、S、NH 或 NC_{1-4} 烷基的杂原子)、 $-SO_2NR^lR^m$ 、 $-(C=O)NR^lR^m$ 、氰基或苯基,
20 并且前述基团中的任何苯基或烷基或环烷基部分任选独立被 1-3 个选自 C_{1-3} 烷基、卤基、羟基、氨基和 C_{1-3} 烷氧基的取代基取代;

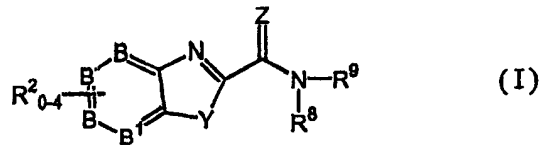
R^3 和 R^4 独立为 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{1-4} 烷基(C_{3-6} 环烷基)、氰基、 $-CF_3$ 、 $-(CO)NR^pR^q$ 、 $-(CO)OR^r$ 、 $-CH_2NR^pR^q$ 或 $-CH_2OR^r$; 其中 R^p 、

- R^q 和 R^r 独立选自 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、苯基、 $-C_{1-2}$ 烷基(C_{3-6} 环烷基)、苯甲基或苯乙基, 或者 R^p 和 R^q 与连接它们的氮共同形成 4-7 元杂环, 该杂环还另外带有 0 或 1 个选自 O、S、NH 或 NC_{1-6} 烷基的杂原子, 并且前述基团中的任何苯基或烷基或环烷基部分任选独立被
- 5 1-3 个选自 C_{1-3} 烷基、卤基、羟基、氨基和 C_{1-3} 烷氧基的取代基取代;
 R^5 和 R^6 独立为 H 或 C_{1-6} 烷基;
 R^7 为 $-R^a$ 、 $-R^bR^a$ 、 $-R^c-O-R^a$ 或 $-R^c-N(R^c)(R^d)$, 其中 R^a 为 H、氰基、 $-(C=O)N(R^c)(R^d)$ 、 $-C(=NH)(NH_2)$ 、 C_{1-10} 烷基、 C_{2-8} 烯基、 C_{3-8} 环烷基、 C_{4-7} 杂环基或苯基, 其中 C_{4-7} 杂环基在其碳原子上与所述 N 连接并包
- 10 含一个 O、S、NH 或 NC_{1-4} 烷基, 而且 5 或 6 或 7 元环中还任选包含一个 NH 或 NC_{1-6} 烷基; R^b 为 C_{1-8} 亚烷基或 C_{2-8} 亚烯基; R^c 为 C_{2-8} 亚烷基或 C_{2-8} 亚烯基; R^c 和 R^d 各自独立为 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、 C_{3-6} 环烷基或苯基, 或 R^c 和 R^d 与连接它们的氮共同形成 4-7 元杂环, 该杂环另外带有 0 或 1 个选自 O、S、NH 或 NC_{1-6} 烷基的杂原子, 并且前
- 15 述基团中的任何苯基或烷基或环烷基部分任选独立被 1-3 个选自 C_{1-3} 烷基、卤基、羟基、氨基和 C_{1-3} 烷氧基的取代基取代;
 或者, R^7 可与相邻的 R^4 以及连接它们的碳和氮共同形成 5、6 或 7 元杂环, 该杂环还另外带有 0 或 1 个选自 O、S、NH 或 NC_{1-6} 烷基的杂原子, 并任选独立被 1-3 个选自 C_{1-3} 烷基、卤基、羟基、氨基和 C_{1-3}
- 20 烷氧基的取代基取代;

前提条件为:

与 N 相邻的 R^4 不为 H 时与 N 相邻的 R^6 必须为 H, 当 R^4 和 R^6 之一为甲基而另一个为氢时 R^2 不可为苯甲酰基。

23. 一种治疗或预防 H_4 介导疾病的方法, 所述方法包括给予需要
- 25 这种治疗或预防的患者药用组合物的步骤, 所述药用组合物包括有效剂量的式(I)化合物及其对映异构体、非对映异构体、以及它们的药学可接受的盐和酯:



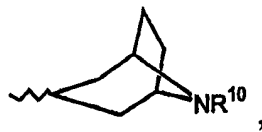
其中

B 和 B¹ 为 C, 或最多 B 和 B¹ 中的一个可为 N;

Y 为 O、S 或 NR^Z, 其中 R^Z 为 H 或 C₁₋₄ 烷基;

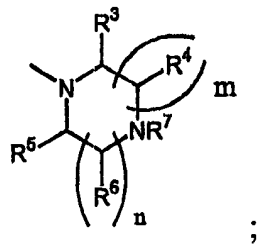
5 Z 为 O 或 S;

R⁸ 为 H, R⁹ 为



其中 R¹⁰ 为 H 或 C₁₋₄ 烷基, 或者

R⁸ 和 R⁹ 与连接它们的 N 共同形成



10

n 为 1 或 2;

m 为 1 或 2;

n + m 为 2 或 3;

15 R² 独立为 H、F、Cl、Br、I、C₁₋₄ 烷基、C₁₋₄ 烷氧基、-C₃₋₆ 环烷基、-OC₃₋₆ 环烷基、-OCH₂Ph、-CF₃、-OCF₃、-SCF₃、-OH、-(C=O)R^k(其中 R^k 为 H、C₁₋₄ 烷基、-OH、苯基、苯甲基、苯乙基或 C₁₋₆ 烷氧基)、-(N-R^t)(C=O)R^k(其中 R^t 为 H 或 C₁₋₄ 烷基)、-(N-R^t)SO₂C₁₋₄ 烷基、-(S=(O)_p)-C₁₋₄ 烷基(其中 p 为 0、1 或 2)、硝基、-NR¹R^m(其中 R¹ 和 R^m 独立选自 H、C₁₋₄ 烷基、苯基、苯甲基或苯乙基, 或者 R¹ 和 R^m 与连接
20 它们的氮共同形成 4-7 元杂环, 该杂环另外带有 0 或 1 个选自 O、S、NH 或 NC₁₋₄ 烷基的杂原子)、-SO₂NR¹R^m、-(C=O)NR¹R^m、氰基或苯基, 并且前述基团中的任何苯基或烷基或环烷基部分任选独立被 1-3 个选

- 自 C₁₋₃ 烷基、卤基、羟基、氨基和 C₁₋₃ 烷氧基的取代基取代；
- R³ 和 R⁴ 独立为 H、C₁₋₄ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、C₁₋₄ 烷基(C₃₋₆ 环烷基)、氰基、-CF₃、-(CO)NR^pR^q、-(CO)OR^r、-CH₂NR^pR^q 或 -CH₂OR^r；其中 R^p、R^q 和 R^r 独立选自 H、C₁₋₄ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、苯基、-C₁₋₂ 烷基(C₃₋₆ 环烷基)、苯甲基或苯乙基，或者 R^p 和 R^q 与连接它们的氮共同形成 4-7 元杂环，该杂环还另外带有 0 或 1 个选自 O、S、NH 或 NC₁₋₆ 烷基的杂原子，并且前述基团中的任何苯基或烷基或环烷基部分任选独立被 1-3 个选自 C₁₋₃ 烷基、卤基、羟基、氨基和 C₁₋₃ 烷氧基的取代基取代；
- 5 R⁵ 和 R⁶ 独立为 H 或 C₁₋₆ 烷基；
- 10 R⁷ 为 -R^a、-R^bR^a、-R^c-O-R^a 或 -R^c-N(R^c)(R^d)，其中 R^a 为 H、氰基、-(C=O)N(R^c)(R^d)、-C(=NH)(NH₂)、C₁₋₁₀ 烷基、C₂₋₈ 烯基、C₃₋₈ 环烷基、C₄₋₇ 杂环基或苯基，其中 C₄₋₇ 杂环基在其碳原子上与所述 N 连接并包含一个 O、S、NH 或 NC₁₋₄ 烷基，而且 5 或 6 或 7 元环中还任选包含一个 NH 或 NC₁₋₆ 烷基；R^b 为 C₁₋₈ 亚烷基或 C₂₋₈ 亚烯基；R^c 为 C₂₋₈ 亚烷基或 C₂₋₈ 亚烯基；R^c 和 R^d 各自独立为 H、C₁₋₄ 烷基、C₂₋₄ 烯基、C₃₋₆ 环烷基或苯基，或 R^c 和 R^d 与连接它们的氮共同形成 4-7 元杂环，该杂环另外带有 0 或 1 个选自 O、S、NH 或 NC₁₋₆ 烷基的杂原子，并且前述基团中的任何苯基或烷基或环烷基部分任选独立被 1-3 个选自 C₁₋₃ 烷基、卤基、羟基、氨基和 C₁₋₃ 烷氧基的取代基取代；
- 15 或者，R⁷ 可与相邻的 R⁴ 以及连接它们的碳和氮共同形成 5、6 或 7 元杂环，该杂环还另外带有 0 或 1 个选自 O、S、NH 或 NC₁₋₆ 烷基的杂原子，并任选独立被 1-3 个选自 C₁₋₃ 烷基、卤基、羟基、氨基和 C₁₋₃ 烷氧基的取代基取代；
- 20 前提条件为：
- 25 与 N 相邻的 R⁴ 不为 H 时与 N 相邻的 R⁶ 必须为 H，当 R⁴ 和 R⁶ 之一为甲基而另一个为氢时 R² 不可为苯甲酰基。

24. 权利要求 23 的方法，其中 H₄ 介导疾病选自炎症性疾病、哮喘、牛皮癣、类风湿性关节炎、溃疡性结肠炎、节段性回肠炎、炎症性肠

病、多发性硬化症、过敏性疾病、过敏性鼻炎、皮肤疾病、自身免疫功能、淋巴性疾病、动脉粥样硬化和免疫缺陷疾病。

25. 权利要求 23 的方法，其中 H₄ 介导疾病选自癌症或皮肤搔痒，并且给予作为辅助治疗药物的所述化合物。

(1H-苯并咪唑-2-基)-(哌嗪基)-甲酮衍生物及其相关化合物作为组胺
H4受体拮抗剂用于治疗炎性和过敏性疾病

5

发明领域

本发明涉及新型药理学活性的稠合杂环化合物和用它们治疗或预防组胺 H₄受体介导疾病的方法。

10

发明背景

组胺首先被鉴定为激素(G. Barger 和 H. H. Dale, J. Physiol. (London) 1910, 41: 19-59), 表现为在多种生理过程中起主要作用, 包括通过 H₁受体参与炎性“三重反应”(A. S. F. Ash 和 H. O. Schild, Br. J. Pharmac. Chemother. 1966, 27: 427-439), 通过 H₂受体参与胃酸分泌(J. W. Black et al., Nature 1972, 236: 385-390), 以及通过 H₃受体参与中枢神经系统中神经递质的释放(J.-M. Arrang et al., Nature 1983, 302: 832-837)(综述参见 S. J. Hill et al., Pharmacol. Rev. 1997, 49(3): 253-278)。所有三种组胺受体亚型都是 G 蛋白偶联受体超家族的成员(I. Gantz et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1991, 88: 429-433; T. W. Lovenberg et al., Mol. Pharmacol. 1999, 55(6): 1101-1107; M. Yamashita et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1991, 88: 11515-11519)。但是, 还报道组胺有其它的功能, 然而没有鉴定到相应的受体。例如, 1994 年 Raible 等证明, 组胺和 R- α -甲基组胺可在人嗜酸性粒细胞中激活钙动员(D. G. Raible et al., Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1994, 149: 1506-1511)。这些反应被 H₃受体拮抗剂噻普酰胺阻断。但是, R- α -甲基组胺的效力明显比组胺低, 这与已知的 H₃受体亚型不符。因此, Raible 等认为在嗜酸性粒细胞上存在非 H₁、非 H₂、非 H₃的新型组胺受体。最近一些研究小组(T. Oda et al., J. Biol. Chem. 2000, 275(47): 36781-36786; C. Liu et al., Mol. Pharmacol. 2001, 59(3):

420-426; T. Nguyen et al., *Mol. Pharmacol.* 2001,59(3): 427-433; Y. Zhu et al., *Mol. Pharmacol.* 2001, 59(3): 434-441; K. L. Morse et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2001, 296(3): 1058-1066)发现和鉴定了第四种组胺受体亚型 H₄ 受体。该受体为 390 氨基酸、7 次跨膜的 G 蛋白偶连受体, 与组胺 H₃ 受体有约 40% 同源性。Morse 等报道, 与主要分布于脑中的 H₃ 受体相比, H₄ 受体在嗜中性粒细胞和肥大细胞中的表达水平更高(参见上述文献)。

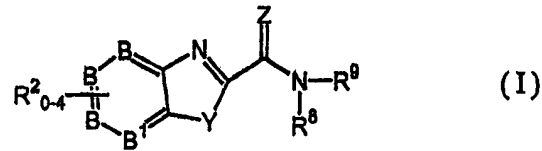
引起炎性反应的事件包括物理刺激(包括外伤)、化学刺激、感染和异物侵入。炎性反应特征为疼痛、体温升高、发红、肿胀、功能降低或这些反应的组合。许多疾病以过度或持续的炎症为特征, 如过敏、哮喘、肺慢性阻塞性肺病(COPD)、动脉粥样硬化和自身免疫病(包括类风湿性关节炎和狼疮)。白细胞募集的抑制具有显著的治疗价值。炎性疾病或炎症介导疾病包括但不限于急性炎症、过敏性炎症和慢性炎症。

肥大细胞脱粒(胞吐)导致炎性反应, 其最初特征为组胺调节的风团和潮红反应。各种免疫的(如变态反应原或抗体)和非免疫的(如化学的)刺激可使肥大细胞活化、募集和脱粒。肥大细胞的活化引起过敏性(H₁)炎性反应, 这又反过来导致进一步促进炎性反应的其它效应细胞的募集。组胺 H₂ 受体调节胃酸分泌, 组胺 H₃ 受体影响中枢神经系统中神经介质的释放。

主题为炎症的教科书实例包括 J. I. Gallin and R. Snyderman, Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates, 3rd Edition, (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 1999); V. Stvrtnova, J. Jakubovsky and I. Hulin, "Inflammation and Fever", Pathophysiology Principles of Diseases (Textbook for Medical Students, Academic Press, 1995); Cecil et al., Textbook Of Medicine, 18th Edition(W. B. Saunders Company, 1988); 和 Steadmans Medical Dictionary。

发明简述

本发明的特征之一为式(I)的化合物及其对映异构体、非对映异构体、以及它们的药学可接受的盐和酯:



5 其中

B 和 B¹ 为 C, 或最多 B 和 B¹ 中的一个可为 N;

Y 为 O、S 或 NH;

Z 为 O 或 S 或 NR^Z, 其中 R^Z 为 H 或 C₁₋₄ 烷基;

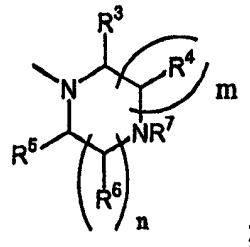
R⁸ 为 H, R⁹ 为

10



其中 R¹⁰ 为 H 或 C₁₋₄ 烷基, 或者

R⁸ 和 R⁹ 与连接它们的 N 共同形成



n 为 1 或 2;

15 m 为 1 或 2;

n + m 为 2 或 3;

R² 独立为 H、F、Cl、Br、I、C₁₋₄ 烷基、C₁₋₄ 烷氧基、-C₃₋₆ 环烷基、-OC₃₋₆ 环烷基、-OCH₂Ph、-CF₃、-OCF₃、-SCF₃、-OH、-(C=O)R^k(其中 R^k 为 H、C₁₋₄ 烷基、-OH、苯基、苯甲基、苯乙基或 C₁₋₆ 烷氧基)、

20 -(N-R¹)(C=O)R^k(其中 R¹ 为 H 或 C₁₋₄ 烷基)、-(N-R¹)SO₂C₁₋₄ 烷基、-(S(O)_p)-C₁₋₄ 烷基(其中 p 为 0、1 或 2)、硝基、-NR¹R^m(其中 R¹ 和 R^m 独立选自 H、C₁₋₄ 烷基、苯基、苯甲基或苯乙基, 或者 R¹ 和 R^m 与连

接它们的氮共同形成 4-7 元杂环, 该杂环另外带有 0 或 1 个选自 O、S、NH 或 NC_{1-4} 烷基的杂原子)、 $-\text{SO}_2\text{NR}^m$ 、 $-(\text{C}=\text{O})\text{NR}^m$ 、氰基或苯基, 并且前述基团中的任何苯基或烷基或环烷基部分任选独立被 1-3 个选自 C_{1-3} 烷基、卤基、羟基、氨基和 C_{1-3} 烷氧基的取代基取代;

- 5 R^3 和 R^4 独立为 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{1-4} 烷基(C_{3-6} 环烷基)、氰基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-(\text{CO})\text{NR}^p$ 、 $-(\text{CO})\text{OR}^r$ 、 $-\text{CH}_2\text{NR}^p$ 或 $-\text{CH}_2\text{OR}^r$; 其中 R^p 、 R^q 和 R^r 独立选自 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、苯基、 $-\text{C}_{1-2}$ 烷基(C_{3-6} 环烷基)、苯甲基或苯乙基, 或者 R^p 和 R^q 与连接它们的氮共同形成 4-7 元杂环, 该杂环还另外带有 0 或 1 个选自 O、S、NH 或 NC_{1-6} 烷基的杂原子, 并且前述基团中的任何苯基或烷基或环烷基部分任选独立被 1-3 个选自 C_{1-3} 烷基、卤基、羟基、氨基和 C_{1-3} 烷氧基的取代基取代;

R^5 和 R^6 独立为 H 或 C_{1-6} 烷基;

- 15 R^7 为 $-\text{R}^a$ 、 $-\text{R}^b\text{R}^a$ 、 $-\text{R}^e\text{-O-R}^a$ 或 $-\text{R}^e\text{-N(R}^c)(\text{R}^d)$, 其中 R^a 为 H、氰基、 $-(\text{C}=\text{O})\text{N(R}^c)(\text{R}^d)$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})(\text{NH}_2)$ 、 C_{1-10} 烷基、 C_{2-8} 烯基、 C_{3-8} 环烷基、 C_{4-7} 杂环基或苯基, 其中 C_{4-7} 杂环基在其碳原子上与所述 N 连接并包含一个 O、S、NH 或 NC_{1-4} 烷基, 而且 5 或 6 或 7 元环中还任选包含一个 NH 或 NC_{1-6} 烷基; R^b 为 C_{1-8} 亚烷基或 C_{2-8} 亚烯基; R^e 为 C_{2-8} 亚烷基或 C_{2-8} 亚烯基; R^c 和 R^d 各自独立为 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、 C_{3-6} 环烷基或苯基, 或 R^c 和 R^d 与连接它们的氮共同形成 4-7 元杂环, 该杂环另外带有 0 或 1 个选自 O、S、NH 或 NC_{1-6} 烷基的杂原子, 并且前述基团中的任何苯基或烷基或环烷基部分任选独立被 1-3 个选自 C_{1-3} 烷基、卤基、羟基、氨基和 C_{1-3} 烷氧基的取代基取代;

- 20 或者, R^7 可与相邻的 R^4 以及连接它们的碳和氮共同形成 5、6 或 7 元杂环, 该杂环还另外带有 0 或 1 个选自 O、S、NH 或 NC_{1-6} 烷基的杂原子, 并任选独立被 1-3 个选自 C_{1-3} 烷基、卤基、羟基、氨基和 C_{1-3} 烷氧基的取代基取代;

前提条件为:

与 N 相邻的 R^4 不为 H 时与 N 相邻的 R^6 必须为 H, 当 R^4 和 R^6 之一为甲基而另一个为氢时 R^2 不可为苯甲酰基。

本发明的另一特征为含所述化合物的药用组合物和使用该组合物治疗或预防 H_4 受体介导疾病的方法, 尤其是需要拮抗 H_4 受体的疾病。

5

发明详述

优选 B 和 B^1 为 C, 或 B^1 可为 N。

最优选 B 和 B^1 为 C。

10

优选 Y 为 NH。

优选 Z 为 O。

优选 R^{10} 为 H 或甲基。

优选 n 为 1, m 为 1。

15

优选 R^2 独立选自 H、-F、-Cl、-Br、-I、-CH₃、-CH₂CH₃、-OCH₃、-OCH₂CH₃、-OCH(CH₃)₂、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、-O 环戊基、-O 环己基、-CF₃、-OCF₃、-SCF₃、-C(O)CH₃、-C(O)CH₂CH₃、-OH、-COOH、-C(O)苯基、-C(O)苯甲基、-COOCH₃、-COOCH₂CH₃、-NHCOCH₃、-NCH₃COCH₃、-NHSO₂CH₃、-NCH₃SO₂CH₃、-SOCH₃、-SO₂CH₃、-NO₂、-NH₂、-NHCH₃、-N(CH₃)₂、-N(CH₂CH₃)₂、-吡咯烷-1-基、-咪唑烷-1-基、-吡唑烷-1-基、-哌啶-1-基、哌嗪-1-基、-吗啉-4-基、-硫代吗啉-4-基、-SO₂NH₂、-SO₂NHCH₃、-SO₂N(CH₃)₂、-SO₂N(CH₂CH₃)₂、-SO₂ 吡咯烷-1-基、-SO₂ 咪唑烷-1-基、-SO₂ 吡唑烷-1-基、-SO₂ 哌啶-1-基、-SO₂ 哌嗪-1-基、-SO₂ 吗啉-4-基、-SO₂ 硫代吗啉-4-基、-C(O)NH₂、-C(O)N(CH₃)₂、-C(O)NH(CH₃)、-C(O)N(CH₂CH₃)₂、-C(O)吡咯烷-1-基、-C(O)咪唑烷-1-基、-C(O)吡唑烷-1-基、-C(O)哌啶-1-基、-C(O)哌嗪-1-基、-C(O)吗啉-4-基、-C(O)硫代吗啉-4-基、-CN 和苯基。

20

25

最优选 R^2 独立选自氢、甲基、三氟甲基、甲氧基、三氟甲氧基、

硝基、氯、氟和苯甲酰基。此外，最优选 R^2 中的一个或两个不为氢。

优选 R^3 和 R^4 独立选自

a) H,

5 b) $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、正丁基、异丁基、叔丁基,

c) 环丙基、环戊基、环己基、 $-\text{CH}_2$ 环丙基、 $-\text{CH}_2$ 环戊基、 $-\text{CH}_2$ 环己基、 $-\text{CH}_2\text{O}$ 环丙基、 $-\text{CH}_2\text{O}$ 环戊基、 $-\text{CH}_2\text{O}$ 环己基,

d) 氰基,

e) 三氟甲基,

10 f) $-(\text{C}=\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{C}=\text{O})\text{NHC}_{1-4}$ 烷基、 $-(\text{C}=\text{O})\text{N}(\text{C}_{1-4} \text{烷基})_2$ 、 $-(\text{C}=\text{O})\text{NH}$ 苯基、 $-(\text{C}=\text{O})$ 吡咯烷-1-基、 $-(\text{C}=\text{O})$ 咪唑烷-1-基、 $-(\text{C}=\text{O})$ 吡唑烷-1-基、 $-(\text{C}=\text{O})$ 哌啶-1-基、 $-(\text{C}=\text{O})$ 哌嗪-1-基、 $-(\text{C}=\text{O})$ 吗啉-4-基、 $-(\text{C}=\text{O})$ 硫代吗啉-4-基,

15 g) $-\text{COOH}$ 、 $-\text{COOCH}_3$ 、 $-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{COO}$ 苯基、 $-\text{COO}$ 苯甲基,

h) $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{NHC}_{1-4}$ 烷基、 $-\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_{1-4} \text{烷基})_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{NH}$ 苯基、 $-\text{CH}_2\text{NH}$ 苯甲基、 $-\text{CH}_2$ 吡咯烷-1-基、 $-\text{CH}_2$ 咪唑烷-1-基、 $-\text{CH}_2$ 吡唑烷-1-基、 $-\text{CH}_2$ 哌啶-1-基、 $-\text{CH}_2$ 哌嗪-1-基、 $-\text{CH}_2$ 吗啉-4-基、 $-\text{CH}_2$ 硫代吗啉-4-基,

20 i) $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{O}$ -正丁基、 $-\text{CH}_2\text{O}$ -异丁基、 $-\text{CH}_2\text{O}$ -叔丁基、 $-\text{CH}_2\text{O}$ 苯基、 $-\text{CH}_2\text{O}$ 苯甲基和 $-\text{CH}_2\text{OCH}_2$ 环丙基。

最优选 R^3 和 R^4 独立为 H 或 $-\text{CH}_3$ 。

25 优选 R^5 和 R^6 独立选自 H 和甲基。

最优选 R^5 和 R^6 为 H。

优选 R^7 选自

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

b) 氰基,

c) $-(C=O)NH_2$ 、 $-(C=O)NHC_{1-4}$ 烷基、 $-(C=O)N(C_{1-4} \text{烷基})_2$ 、 $-(C=O)NH$ 苯基、 $-(C=O)$ 吡咯烷-1-基、 $-(C=O)$ 咪唑烷-1-基、 $-(C=O)$ 吡唑烷-1-基、
 5 $-(C=O)$ 哌啶-1-基、 $-(C=O)$ 哌嗪-1-基、 $-(C=O)$ 吗啉-4-基、 $-(C=O)$ 硫代
 吗啉-4-基、 $-CH_2(C=O)NH_2$ 、 $-CH_2(C=O)NHC_{1-4}$ 烷基、 $-CH_2(C=O)N(C_{1-4}$
 烷基) $_2$ 、 $-CH_2(C=O)NH$ 苯基、 $-CH_2(C=O)$ 吡咯烷-1-基、 $-CH_2(C=O)$ 咪
 唑烷-1-基、 $-CH_2(C=O)$ 吡唑烷-1-基、 $-CH_2(C=O)$ 哌啶-1-基、 $-CH_2(C=O)$
 哌嗪-1-基、 $-CH_2(C=O)$ 吗啉-4-基、 $-CH_2(C=O)$ 硫代吗啉-4-基、
 10 $-CH_2CH_2O(C=O)NH_2$ 、 $-CH_2CH_2O(C=O)NHC_{1-4}$ 烷基、
 $-CH_2CH_2O(C=O)N(C_{1-4} \text{烷基})_2$ 、 $-CH_2CH_2O(C=O)NH$ 苯基、
 $-CH_2CH_2O(C=O)$ 吡咯烷-1-基、 $-CH_2CH_2O(C=O)$ 咪唑烷-1-基、
 $-CH_2CH_2O(C=O)$ 吡唑烷-1-基、 $-CH_2CH_2O(C=O)$ 哌啶-1-基、
 $-CH_2CH_2O(C=O)$ 哌嗪-1-基、 $-CH_2CH_2O(C=O)$ 吗啉-4-基、 $-CH_2CH_2O(C=O)$
 硫代吗啉-4-基,

15 d) $-C(=NH)(NH_2)$ 、 $-CH_2C(=NH)(NH_2)$,

e) $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、 $-CH(CH_3)_2$ 、正丁基、异丁基、
 叔丁基、 $-CH_2CH_2OCH_3$ 、 $-CH_2CH_2OCH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_3$ 、
 $-CH_2CH_2OCH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2CH_2O$ -正丁基、 $-CH_2CH_2O$ -异丁基、
 $-CH_2CH_2O$ -叔丁基,

20 f) $-CH=CH_2$ 、 $-CH_2CH=CH_2$,

g) 环丙基、环戊基、环己基、 $-CH_2$ 环丙基、 $-CH_2$ 环戊基、 $-CH_2$
 环己基、 $-CH_2CH_2O$ 环丙基、 $-CH_2CH_2O$ 环戊基、 $-CH_2CH_2O$ 环己基,

h) 吡咯烷基、咪唑烷基、吡唑烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、
 硫代吗啉基、 $-CH_2$ 吡咯烷基、 $-CH_2$ 咪唑烷基、 $-CH_2$ 吡唑烷基、 $-CH_2$
 25 哌啶基、 $-CH_2$ 哌嗪基、 $-CH_2$ 吗啉基、 $-CH_2$ 硫代吗啉基,

i) $-CH_2CH_2NH_2$ 、 $-CH_2CH_2NHC_{1-4}$ 烷基、 $-CH_2CH_2N(C_{1-4} \text{烷基})_2$ 、
 $-CH_2CH_2NH$ 苯基、 $-CH_2CH_2$ 吡咯烷-1-基、 $-CH_2CH_2$ 咪唑烷-1-基、
 $-CH_2CH_2$ 吡唑烷-1-基、 $-CH_2CH_2$ 哌啶-1-基、 $-CH_2CH_2$ 哌嗪-1-基、 $-CH_2CH_2$

吗啉-4-基、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ 硫代吗啉-4-基，

j) 苯基、苯甲基、苯乙基和苯甲基氧基甲基。

最优选 R^7 选自 H 、 $-\text{CH}_3$ 和 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 。

5 优选 R^7 与相邻的 R^4 以及连接它们的碳和氮共同为吡咯烷-1,2-基、咪唑烷-1,2-基、咪唑烷-1,5-基、吡唑烷-1,5-基、哌啶-1,2-基、哌嗪-1,2-基、吗啉-4,5-基和硫代吗啉-4,5-基。

最优选 R^7 与相邻的 R^4 以及连接它们的碳和氮共同为吡咯烷-1,2-基和哌啶-1,2-基。

“其药学可接受的盐和酯”指本发明化合物的盐和酯形式，这种形式对于药物化学工作者是显而易见的，即无毒的和有利改变本发明化合物药动学性质的形式。这些具有良好药动学性质的化合物是药物化学工作者显而易见的，即无毒的和其药动学性质可提供足够的适口性、吸收性、分布性、代谢性和排泄性。在选择时，其它更实际的重要因素为原料成本、结晶难度、产量、稳定性、吸湿性和所得散装药物的流动性。此外，可接受的羧酸盐包括钠盐、钾盐、钙盐和镁盐。合适阳离子盐的实例包括氢溴酸盐、氢碘酸盐、氢氯酸盐、高氯酸盐、硫酸盐、马来酸盐、富马酸盐、苹果酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、苯甲酸盐、苦杏仁酸盐、甲磺酸盐、氢乙磺酸盐、苯磺酸盐、草酸盐、双羧基酸盐、2-羧基磺酸盐、对甲苯磺酸盐、环己基氨基磺酸盐和葡萄糖二酸盐。合适的酯实例包括一个或多个羧基被以下基团取代的酯：对甲氧基苯甲基氧基羰基、2,4,6-三甲基苯甲基氧基羰基、9-蒎基氧基羰基、 $\text{CH}_3\text{SCH}_2\text{COO}-$ 、四氢呋喃-2-基氧基羰基、四氢吡喃-2-基氧基羰基、呋喃-2-基氧基羰基、苯甲酰基甲氧基羰基、对硝基苯甲氧基羰基、4-吡啶基甲氧基羰基、2,2,2-三氯乙氧基羰基、2,2,2-三溴乙氧基羰基、叔丁基氧基羰基、叔戊基氧基羰基、二苯基甲氧基羰基、三苯基甲氧基羰基、金刚烷基氧基羰基、2-苯甲氧基苯基氧基羰基、4-甲硫基苯基氧基羰基或四氢吡喃-2-基氧基羰基。

10

15

20

25

限制条件是因为发现，满足每个限制条件说明的化合物中至少一种化合物没有活性。

优选式 I 化合物如实施例 1-45 和流程 1-4 中所述制备而且选自：

- | 实施例 | 化合物 |
|-----|--|
| 5 | 1 (1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 2 (1H-苯并咪唑-2-基)-(4-乙基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 3 (1H-苯并咪唑-2-基)-(3-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 4 (1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-[1,4]二氮杂环庚烷-1-基)-甲酮; |
| | 5 1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲酰胺; |
| 10 | 6 (5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 7 (5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-哌嗪-1-基-甲酮; |
| | 8 (5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(3-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 9 (5,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 10 (5,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-乙基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| 15 | 11 (5,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(3-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 12 (5,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-[1,4]二氮杂环庚烷-1-基)-甲酮; |
| | 13 5,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲酰胺; |
| 20 | 14 (6-氟-5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 15 (6-氟-5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-哌嗪-1-基-甲酮; |
| | 16 (6-氟-5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-[1,4]二氮杂环庚烷-1-基)-甲酮; |
| 25 | 17 6-氟-5-氟-1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲酰胺; |
| | 18 (5-氟-6-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 19 (5-氟-6-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-哌嗪-1-基-甲酮; |
| | 20 (4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(3-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |

- 21 (4-乙基-哌嗪-1-基)-(4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮;
- 22 (4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 23 (4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-哌嗪-1-基-甲酮;
- 24 4-甲基-1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲
5 酰胺;
- 25 5-甲基-1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲
酰胺;
- 26 (5-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 27 (4-甲基-哌嗪-1-基)-(5-三氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮;
- 10 28 哌嗪-1-基-(5-三氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮;
- 29 (5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 30 (4-乙基-哌嗪-1-基)-(5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮;
- 31 (5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-哌嗪-1-基-甲酮;
- 32 (5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(3-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 15 33 5-氟-1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲酰
胺;
- 34 (3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 35 苯并噁唑-2-基-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 36 (7-甲基-苯并噁唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 20 37 (5-甲基-苯并噁唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 38 (4-甲基-苯并噁唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 39 苯并噻唑-2-基-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 40 (5-苯甲酰基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 41 (4-氯-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 25 42 (4-甲基-哌嗪-1-基)-(4-硝基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮;
- 43 (4-氨基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 44 (4-异丙基氨基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮;
- 45 C-(5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-C-(4-甲基-哌嗪-1-基)-亚甲基胺。

其它优选式 I 化合物根据流程 1-3 中所述的合成方法制备而且选自：

- | 实施例 | 化合物 |
|-----|---|
| | 46 (4,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| 5 | 47 (4-甲基-哌嗪-1-基)-(5-硝基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮; |
| | 48 (5-氟-4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 49 (5-溴-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。 |

其它优选式 I 化合物根据流程 1-3 中所述的合成方法制备而且选自：

- | 实施例 | 化合物 |
|-----|--|
| | 50 (5,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 51 (4,5-二甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 52 (5,6-二甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 53 (5-甲氧基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| 15 | 54 (5-氟-苯并噁唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 55 (5-氟-苯并噁唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 56 (6-氟-苯并噁唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 57 (5,7-二氟-苯并噁唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 58 (4-甲基-哌嗪-1-基)-(5-三氟甲氧基-苯并噁唑-2-基)-甲酮; |
| 20 | 59 (5-氟-苯并噻唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮; |
| | 60 (4-甲基-哌嗪-1-基)-(5-三氟甲基-苯并噻唑-2-基)-甲酮。 |

下列术语定义如下，或者为它们在本公开中的具体定义。

- “烷基”包括直链和支链烃，其中至少除去一个氢形成基团。
- 烷基包括甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、1-甲基丙基、戊基、异戊基、仲戊基、己基、庚基、辛基等。烷基不包括环烷基。

“烯基”包括带有至少一个碳-碳双键(sp^2)的上述直链和支链烃基。烯基包括乙烯基、丙-1-烯基、丙-2-烯基(或烯丙基)、异丙烯基(或

1-甲基乙烯基)、丁-1-烯基、丁-2-烯基、丁间二烯基、戊烯基、己-2,4-二烯基等。烯基不包括环烯基。

5 “烷氧基”包括末端氧连接烷基和分子其余部分的直链或支链烃基。烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、叔丁氧基和戊氧基等。“烷基氨基”、“烷硫基”和“烷基磺酰基”与烷氧基类似，烷氧基的末端氧原子分别被NH(或NR)、S和SO₂取代。

“环烷基”包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基等。

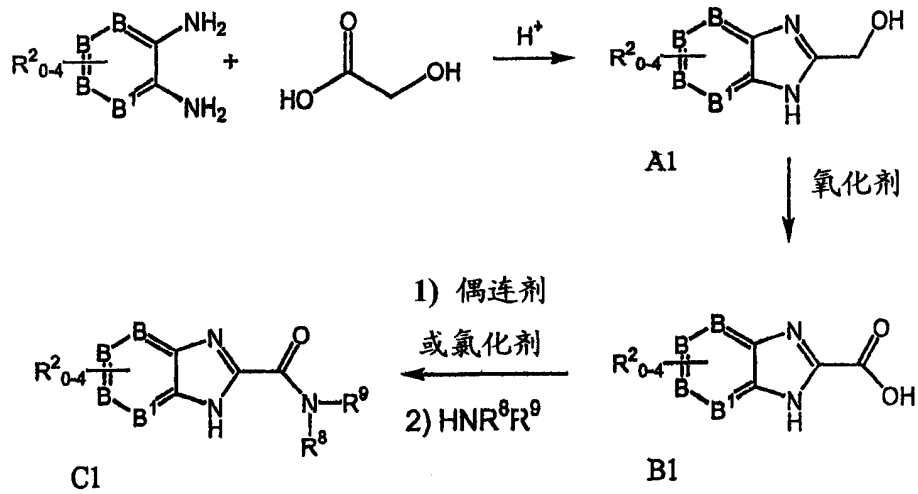
10 “卤基”包括氟、氯、溴和碘，优选氟或氯。

“患者”或“对象”包括需要观察、实验、治疗或预防有关疾病的哺乳动物，如人和动物(狗、猫、马、大鼠、兔、小鼠、非人的灵长目)。优选患者为人。

15 “组合物”包括含有特定量的特定组分的产品，以及任何直接或间接从特定量的特定组分的组合得到的产品。

上述化合物可根据本领域技术人员公知的方法制备，和/或根据下述流程和实施例中所述的方法制备。为获得本发明的各种化合物，可使用带有最终所需取代基的起始原料，该取代基酌情在反应流程中进行保护或不进行保护。或者，可能需要在最终所需取代基的位置采用可在反应流程中携带的合适基团，然后酌情用所需取代基取
20 代。

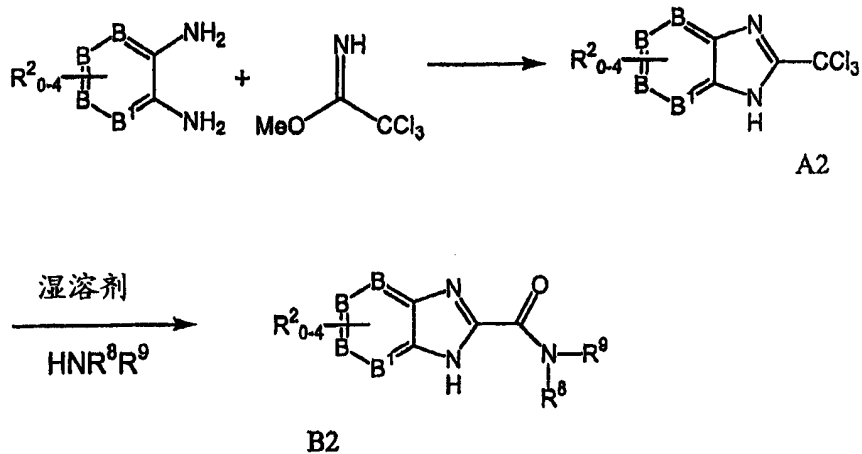
流程图 1



关于流程图 1, 公开了以下事项和相关内容。起始原料和 HNR^8R^9 有商品供应, 或它们的合成是本领域技术人员公知的。

5

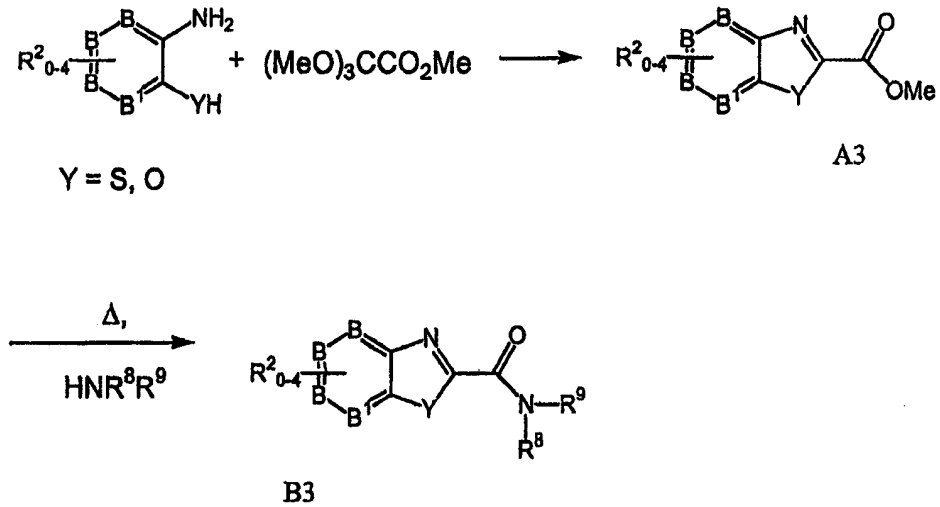
流程图 2



关于流程图 2, 公开了以下事项和相关内容。起始原料和 HNR^8R^9 有商品供应, 或它们的合成是本领域技术人员公知的。起始原料缩合产生苯并咪唑 A2。苯并咪唑 A2 的氯原子通过缩合被仲胺取代, 同时水解形成化合物 B2。在缩合和水解反应中使用弱碱性水溶液可获得较高产量的化合物 B2。合适的弱碱性水溶液为 2N K_2CO_3 、2N $NaHCO_3$ 、0.1N $NaOH$ 等。

15

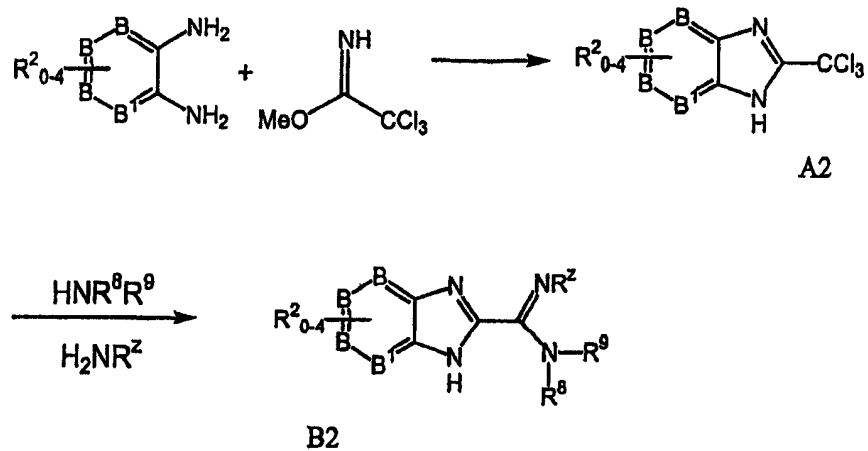
流程图 3



关于流程图 3, 公开了以下事项和相关内容。起始原料和 HNR^8R^9 有商品供应, 或它们的合成是本领域技术人员公知的。

5

流程图 4



关于流程图 4, 公开了以下事项和相关内容。起始原料缩合形成苯并咪唑 A2。苯并咪唑 A2 的氯原子通过缩合被仲胺取代, 同时用伯胺氨解, 形成化合物 B2。为获得较高产量的化合物 B2, 仲胺应在伯胺前加入。

10

H_4 受体在免疫细胞(包括某些白细胞和肥大细胞)中的表达使其成为治疗各种免疫和炎症疾病(如过敏、慢性或急性炎症)的重要治疗靶点。具体地说, H_4 受体配体可用于治疗或预防各种哺乳动物的疾

病状态。

因此，本发明公开的化合物(H_4 受体拮抗剂)和组合物用于缓解下述疾病症状、治疗和预防下述疾病：炎性疾病、哮喘、牛皮癣、类风湿性关节炎、溃疡性结肠炎、节段性回肠炎、炎症性肠病、多发性硬化症、过敏性疾病、过敏性鼻炎、皮肤疾病、自身免疫病、淋巴性疾病、动脉粥样硬化和免疫缺陷疾病。公开的化合物还可用作化疗或皮肤搔痒治疗中的辅助药物。

本发明的一个方面包括(a)包含式(I)化合物或一种或多种本文所述优选化合物、以及药学可接受载体的药用组合物；(b)包装药物，该包装药物包含(1)包含式(I)化合物和药学可接受载体的药用组合物和(2)给予所述组合物用于治疗或预防 H_4 介导疾病的使用说明书。

本发明还提供治疗患者 H_4 介导疾病的方法，该方法包括给予患者药学有效量的组合物，该组合物包含式(I)化合物和其它公开或优选的化合物。例如，本发明描述了治疗患者 H_4 介导疾病的方法，该方法包括给予患者药学有效 H_4 拮抗量的包含式(I)化合物的组合物。

拮抗剂的效果还可由反向激动剂产生。反向激动描述了化合物有效关闭组成型活性受体的性质。组成型活性可在被迫过度表达人 H_4 受体的细胞中发现。用 cAMP 刺激剂如毛喉素处理后，可通过检测 cAMP 水平或检测对 cAMP 水平敏感的报告基因，测定组成型活性。毛喉素处理后，过度表达 H_4 受体的细胞其 cAMP 水平会比不表达的细胞低。起 H_4 激动剂作用的化合物会在 H_4 表达细胞中剂量依赖性降低毛喉素刺激后的 cAMP 水平。起反向 H_4 激动剂作用的化合物会在 H_4 表达细胞中剂量依赖性刺激 cAMP 水平。起 H_4 拮抗剂作用的化合物会阻断 H_4 激动剂导致的 cAMP 抑制或反向 H_4 激动剂导致的 cAMP 升高。

本发明的其它实施方案包括为哺乳动物组胺 H_4 受体功能抑制剂、体内或体外炎症或炎性反应抑制剂、哺乳动物组胺 H_4 受体蛋白表达调节剂、体内或体外多形核白细胞活化抑制剂或上述组合的公

开化合物, 以及使用公开化合物进行治疗、预防和诊断的相应方法。

本领域的技术人员可根据已知方法, 考虑到年龄、体重、一般健康情况、待治疗症状的类型和其它药物治疗等因素, 决定患者的合适剂量。通常, 有效量在每日 0.01-1000 mg/kg 之间, 优选 0.5-300 mg/kg 体重, 正常体重成人的日剂量在 10-5000 mg 之间。胶囊、片剂或其它剂型(如液体和薄膜包衣片剂)可在 0.5-200 mg 之间, 如 1、3、5、10、15、25、35、50 mg、60 mg 和 100 mg, 可根据公开的方法给予。

剂量单位形式包括片剂、胶囊、丸剂、散剂、颗粒剂、水和非水口服溶液和悬浮液、以及包装在容器中、适合再分为单次剂量的肠道外溶液。剂量单位形式也可为适应各种给药方法的形式, 包括控释制剂(如皮下植入剂)。给药方法包括口服、直肠、肠道外(静脉、肌肉、皮下)、脑池内、阴道内、腹膜内、膀胱内、局部(滴剂、散剂、软膏剂、凝胶或霜剂)以及吸入(口或鼻喷雾)给药。

肠道外制剂包括药学可接受的水或非水性溶液、分散液、悬浮液、乳液和用于制备它们的无菌粉末。载体实例包括水、乙醇、多元醇(丙二醇、聚乙二醇)、植物油和可注射有机酯如油酸乙酯。可通过使用包衣(如卵磷脂)、表面活性剂或保持合适的颗粒大小以保持其流动性。固体剂型的载体包括(a)填充剂或增量剂, (b)粘合剂, (c)保湿剂, (d)崩解剂, (e)溶液延迟剂, (f)吸收促进剂, (g)吸收剂, (h)润滑剂, (i)缓冲剂和(j)抛射剂。

组合物还可包含辅料如防腐剂、湿润剂、乳化剂和分散剂; 抗菌剂如尼泊金酯、三氯叔丁醇、苯酚和山梨酸; 等张剂如糖或氯化钠; 吸收延长剂如一硬脂酸铝和明胶; 以及吸收增强剂。

实施例

常规实验:

NMR 光谱在 Bruker model DPX400 (400 MHz)或 DPX500 (500

MHz)光谱仪上获得。下面 ^1H NMR 数据为：相对于四甲基甲硅烷对照以 ppm 为单位的低场化学位移(多重性,以 Hz 为单位的耦合常数 J,积分)。

5 质谱在 Agilent 系列 1100 MSD 上,用电喷雾电离(ESI),在所指的阳极模式或阴极模式下获得。分子式的“计算质量”为化合物的单种同位素质量。

反相 HPLC

反相 HPLC 保留时间以分钟为单位给出,方法如下所述。

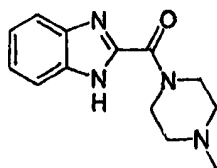
10 仪器: Gilson 215
 流动相: 乙腈(0.05% 三氟乙酸, TFA)/水(0.05% TFA)
 流速: 25 mL/min
 梯度:
 1) 0.0 分钟 2%乙腈, 0.05% TFA
 15 2) 18.0 分钟 98%乙腈, 0.05% TFA
 柱: YMC ODS-A (5 μm , 30 \times 150 mm)
 温度: 25°C
 波长: 在 254 和 220 μm 双波长检测。

20 正相硅胶柱色谱

正相硅胶柱色谱在 ISCO Foxy 200 或 ISCO OPTIX 10X 系统上用一种下述商品化供应的预包装柱完成: Biotage 40S (SiO_2 40 g), Biotage 或 ISCO Redisep (SiO_2 , 10 g, 12 g, 35 g, 40 g 或 120 g)。

25

实施例 1



(1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。**常规方法 1:**

A. 2-三氯甲基-1H-苯并咪唑。向苯二胺(1.0 g, 9.2 mmol)的乙酸溶液(30 mL)中加入 2,2,2-三氯乙酰亚胺酸甲酯(1.63 mL, 9.22 mmol), 在室温下搅拌 1 小时。向混合物中加入水(20 mL), 收集所得沉淀。固体用水(2 × 30 mL)洗涤, 真空干燥获得 1.90 g (88%) 2-三氯甲基-1H-苯并咪唑, 无需进一步纯化即可使用。MS (ESI): $C_8H_5Cl_3N_2$ 的计算质量 233.95; 测定 m/z , 235.0 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 13.45 (br s, 1H), 7.73-7.65 (m, 2H), 7.39-7.30 (m, 2H)。

10

常规方法 2:

B. (1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。向 2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(100 mg, 0.42 mmol)在 3: 1 乙腈/水中的悬浮液(4.0 mL)中加入 N-甲基哌嗪(0.93 mL, 0.84 mmol), 然后加入 4M K_2CO_3 (0.30 mL)。反应混合物搅拌 24 小时, 用饱和 $NaHCO_3$ 水溶液(3 mL)稀释, 用二氯甲烷提取(3 × 5 mL)。合并提取物, 干燥(Na_2SO_4), 然后减压浓缩。粗产物在硅胶上纯化(10 g; 4% 甲醇/二氯甲烷), 获得 54 mg (52%) 标题化合物。MS (ESI): $C_{13}H_{16}N_4O$ 的计算质量, 244.13; 测定 m/z , 245.2 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): 13.2(s, 1H), 7.74(d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.53(d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.34-7.24(m, 2H), 4.45-4.42(m, 2H), 3.71(t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 2.42-2.40(m, 4H), 2.22(s, 3H)。 ^{13}C NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): 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。

15

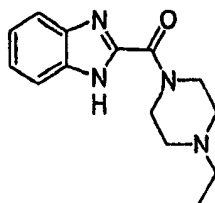
25 实施例 1 的其它制备方法(流程 1)

A. 苯并咪唑-2-甲酸。向装有热水(25 mL)的烧瓶中加入 2-羟基甲基苯并咪唑(6.75 mmol)。向反应混合物中加入 2N Na_2CO_3 溶液(5 mL), 直到 pH 达 10-12, 然后加入 $KMnO_4$ (~10 mmol)。反应混合

物回流 0.5 小时。过滤热的溶液，冷却滤液至室温，加入 3N 乙酸直到 pH 达到 3-4。过滤收集所得白色沉淀，用水和乙醚清洗，获得标题中间体。MS (ESI): $C_8H_6N_2O_2$ 的计算质量, 162.04; 测定 m/z , 163.10 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): 7.61-7.55(m, 2H), 7.44-7.38(m, 2H)。

5
10
15
B. (1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。向苯并咪唑-2-甲酸(3.59 mmol)、O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(HATU, 3.00 mmol)、1-羟基-7-氮杂苯并三唑(HOAT, 3.00 mmol)和 1-甲基哌嗪(2.00 mmol)的 DMF(0.5 M)溶液中加入二异丙基乙胺(2.2 mmol)。反应混合物在室温下搅拌过夜。除去溶剂，残留物溶于 EtOAc。溶液用 1N HCl、饱和 $NaHCO_3$ 水溶液和盐水洗涤。然后干燥(Na_2SO_4)、过滤、浓缩，获得粘稠油状粗产物，该产物在硅胶上纯化(40 g; 3-10%甲醇(2M NH_3)/二氯甲烷)，获得标题化合物(1.68 mmol, 47%)。元素分析: $C_{13}H_{16}N_4O$ 计算值, C 63.91, H 6.60, N 22.93; 测定值, C 63.76, H 6.79, N 22.87。MS 和 1H NMR 数据与上面制备的样品相符。

实施例 2



20

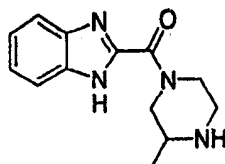
(1H-苯并咪唑-2-基)-(4-乙基-哌嗪-1-基)-甲酮。

反应按照常规方法 2 中的方法进行，使用 2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(实施例 1, 100 mg, 0.42 mmol)和 N-乙基哌嗪(0.10 mL, 0.84 mmol)。纯化获得 16 mg (15%)标题化合物。MS (ESI): $C_{14}H_{18}N_4O$ 的计算质量, 258.15; 测定 m/z , 259.2 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 11.60 (br s, 1H), 7.82(d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.54(d, $J = 8.0$ Hz,

25

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 Hz, 2H), 1.14 (t, J=7.2Hz, 3H).

实施例 3



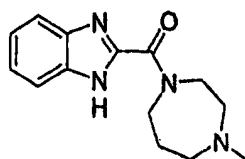
5

(1H-苯并咪唑-2-基)-(3-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。

反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(实施例 1, 100 mg, 0.42 mmol)和 2-甲基哌嗪(84 mg, 0.84 mmol)。纯化获得 55 mg (54%)标题化合物。MS (ESI): $C_{13}H_{16}N_4O$ 的计算质量, 244.13; 测定 m/z , 245.2 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$)旋转异构体的混合物: 12.1(br s, 1H), 7.80-7.52(m, 2H), 7.33-7.31(m, 2H), 6.02(d, J = 12.9 Hz, 0.5H), 5.93(d, J = 12.9 Hz, 0.5H), 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 Hz, 3H)。

15

实施例 4



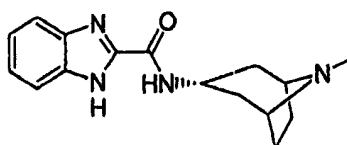
(1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-[1,4]二氮杂环庚烷-1-基)-甲酮。

反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(实施例 1, 100 mg, 0.42 mmol)和 N-甲基高哌嗪(96 mg, 0.84 mmol)。纯化获得 25 mg (23%)标题化合物。MS (ESI): $C_{14}H_{18}N_4O$ 的计算质量, 258.15; 测定 m/z , 259.2 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 7.66-7.64(m, 2H), 7.32-7.30(m, 2H), 4.72-4.69(m, 1H), 4.63(t,

25

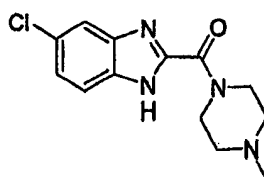
J = 6.3 Hz, 1H), 3.99-3.97(m, 1H), 3.94(t, J = 6.3 Hz, 1H), 2.90-2.87(m, 1H), 2.83-2.81(m, 1H), 2.67-2.63(m, 2H), 2.41(d, J = 3.5 Hz, 3H), 2.13-2.10(m, 2H).

5

实施例 5**1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲酰胺。**

反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用含 2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(实施例 1, 100 mg, 0.42 mmol)和 8-甲基-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-胺二盐酸盐(172 mg, 0.84 mmol)的四氢呋喃(THF, 3 mL)。纯化获得 10 mg (10%)标题化合物。MS (ESI): $C_{16}H_{20}N_4O$ 的计算质量, 284.16; 测定 m/z, 285.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 11.70 (br s, 1H), 8.10(d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.76(br s, 1H), 7.43(br s, 1H), 7.35-7.33(m, 2H), 4.37(q, J = 7.1Hz, 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 = 14.4 Hz, 2H)。

15

实施例 6

20

(5-氯-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。

反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用市售 5-氯-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(100 mg, 0.37 mmol)和 N-甲基哌嗪(0.08 mL, 0.75 mmol)。纯化获得 65 mg (63%)标题化合物。MS (ESI): $C_{13}H_{15}ClN_4O$

25

的计算质量, 278.09; 测定 m/z , 279.2[M+H]⁺。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 13.29(s, 1H), 7.67(br s, 2H), 7.33(d, J = 8.6Hz, 2H), 4.51-4.48(m, 2H), 3.71(t, J = 4.6 Hz, 2H), 2.41-2.39(m, 4H), 2.22(s, 3H)。

5

实施例 6 的其它制备方法(流程 1)

A. (5-氯-1H-苯并咪唑-2-基)-甲醇。3-氯-苯-1,2-二胺(5.68 g)在 4 N HCl(40 mL)中的混合物用羟基乙酸(7 mL, 70%水溶液)处理, 回流 2 小时。冷却混合物, 过滤。滤液用浓 NH₄OH 中和, 过滤收集所得固体, 真空干燥获得标题中间体(6.59 g)。该原料无需纯化即可用于步骤 B。

10

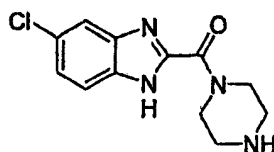
B. 5-氯-1H-苯并咪唑-2-甲酸。(5-氯-1H-苯并咪唑-2-基)-甲醇(3.8 g)悬浮于 2N 碳酸钠(110 mL), 混合物用 KMNO₄ (4.935 g 溶于 310 mL 水中)处理。所得混合物加热至 100 °C, 持续 2 小时, 然后过滤。滤液冷却至室温, 溶液通过加入 3N 乙酸调至酸性 pH, 获得沉淀。过滤分离固体, 用水洗涤, 真空干燥获得标题中间体(2.910 g)。该原料无需纯化即可用于步骤 C。

15

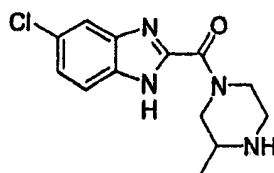
C. (5-氯-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。室温下, DMF(3 mL)中的 5-氯-1H-苯并咪唑-2-甲酸(0.197 g)用 1,1'-羰基二咪唑(CDI; 0.163 g)处理, 混合物搅拌 1 小时。所得混合物用 N-甲基哌嗪(0.111 mL)处理, 在室温下搅拌 16 小时。该混合物用水(50 mL)稀释, 用二氯甲烷提取(3 × 20 mL)。合并提取物, 用盐水洗涤, 干燥(Na₂SO₄), 减压浓缩。残留物在硅胶上纯化(10 g; 0-5%甲醇(2M NH₃)/二氯甲烷), 获得标题化合物的白色固体(0.160 g)。MS 和 ¹H NMR 数据与上面制备的化合物相符。

20

25

实施例 7**(5-氯-1H-苯并咪唑-2-基)-哌嗪-1-基-甲酮。**

5 反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用含 5-氯-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(100 mg, 0.37 mmol)和哌嗪(64 mg, 0.75 mmol)的市售 THF (3 mL)。纯化获得 10mg (10%)标题化合物。MS (ESI): $C_{12}H_{13}ClN_4O$ 的计算质量, 264.08; 测定 m/z , 265.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 13.29(s, 1H), 7.67(br s, 2H), 7.33(d, J= 8.6 Hz, 2H),
10 4.50-4.47(m, 2H), 3.71(t, J= 4.6 Hz, 2H), 2.41-2.39(m, 4H), 2.22(s, 3H)。

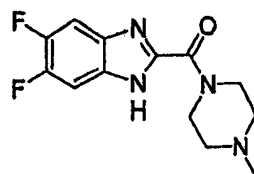
实施例 8

15

(5-氯-1H-苯并咪唑-2-基)-(3-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。

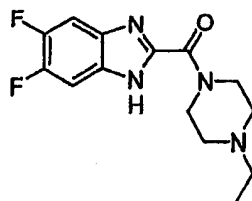
 反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用市售 5-氯-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(100 mg, 0.37 mmol)和 2-甲基哌嗪(74 mg, 0.74 mmol)。纯化获得 41mg (40%)标题化合物。MS (ESI): $C_{13}H_{15}ClN_4O$ 的计算质量, 278.09; 测定 m/z , 279.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$)旋转异构体的混合物: 7.61-7.52(b m, 2H), 7.27(d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.00(d, J = 12.6 Hz, 0.5 H), 5.89(d, J = 12.6 Hz, 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)。

25

实施例 9**(5,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。**

5 A. 5,6-二氟-2-三氟甲基-1H-苯并咪唑。反应按照常规方法 1 中所述的方法进行，使用 4,5-二氟-1,2-苯二胺(1.00 g, 6.94 mmol)。干燥沉淀，依次用二氯甲烷(3 × 10 mL)和己烷(3 × 10 mL)研磨，获得 890 mg (48%)标题中间体。MS (ESI): C₈H₃Cl₃F₂N₂ 的计算质量，269.93；测定 m/z, 271.0[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 10.0(s, 1H),
10 7.65(dd, J = 10.0, 7.3, 1H), 7.32(dd, J = 9.8, 6.3, 1H)。

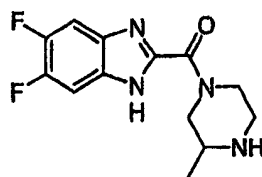
 B. (5,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。反应按照常规方法 2 中的方法进行，使用 5,6-二氟-2-三氟甲基-1H-苯并咪唑 (100 mg, 0.37 mmol)和 N-甲基哌嗪(0.08 mL, 0.75 mmol)。纯化获得 42 mg (40%)标题化合物。MS (ESI): C₁₃H₁₄F₂N₄O 的计算质量，280.11；
15 测定 m/z, 281.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 11.9(br s, 1H), 7.56-7.31(bm, 2H), 4.78-4.75(m, 2H), 3.95(t, J = 5.1Hz, 2H), 2.58(t, J = 5.1Hz, 4H), 2.37(s, 3H)。

实施例 10**(5,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-乙基-哌嗪-1-基)-甲酮。**

20 反应按照常规方法 2 中的方法进行，使用 5,6-二氟-2-三氟甲基-1H-苯并咪唑(实施例 9, 步骤 A, 100 mg, 0.39 mmol)和 N-乙基哌嗪(0.10

mL, 0.79 mmol)。纯化获得 31 mg (28%)标题化合物。MS (ESI):
 $C_{14}H_{16}F_2N_4O$ 的计算质量, 294.13; 测定 m/z , 295.2[M+H]⁺。¹H NMR (400
 MHz, CDCl₃): 11.70(br s, 1H), 7.61(br s, 1H), 7.31(br s, 1H),
 4.78-4.76(m, 2H), 3.96-3.92(m, 2H), 2.64-2.62(m, 4H), 2.49(q, J=
 5 7.2 Hz, 2H), 1.15(t, J=7.2Hz, 3H)。

实施例 11

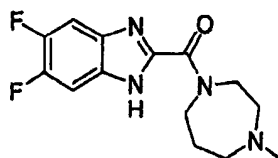


10 **(5,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(3-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。**

反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 5,6-二氟-2-三氟甲基-
 1H-苯并咪唑(实施例 9, 步骤 A, 100 mg, 0.37 mmol)和 2-甲基哌嗪(74
 mg, 0.37 mmol)。纯化获得 30 mg (28%)标题化合物。MS (ESI):
 $C_{13}H_{14}F_2N_4O$ 的计算质量, 280.11; 测定 m/z , 281.2[M+H]⁺。¹H NMR (400
 15 MHz, CDCl₃)旋转异构体的混合物: 11.6 (br s, 1H), 7.35-7.27 (bm,
 2H), 5.99 (d, J = 12.6 Hz, 0.5H), 5.88 (d, J = 12.6 Hz, 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)。

20

实施例 12

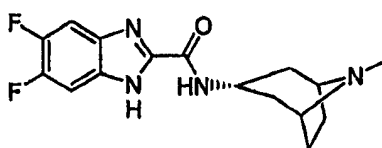


(5,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-[1,4]二氮杂环庚烷-1-基)-甲酮。

反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 5,6-二氟-2-三氟甲基-
 25 1H-苯并咪唑(实施例 9, 步骤 A, 100 mg, 0.37mmol)和 N-甲基高哌

嗪(84 mg, 0.74 mmol)。纯化获得 29 mg (27%)标题化合物。MS (ESI): $C_{14}H_{16}F_2N_4O$ 的计算质量, 294.13; 测定 m/z , 295.2 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 11.12(br s, 1H), 7.47-7.40(bm, 2H), 3.92-3.89(m, 1H), 3.87(t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 3.99-3.97(m, 1H), 3.94(t, $J = 6.3$ Hz, 1H), 2.90-2.87(m, 1H), 2.83-2.81(m, 1H), 2.67-2.63(m, 2H), 2.41(d, $J = 3.5$ Hz, 3H), 2.13-2.10(m, 2H)。

实施例 13



10

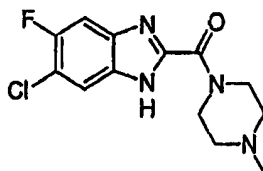
5,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲酰胺。

15

反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 5,6-二氟-2-三氟甲基-1H-苯并咪唑(实施例 9, 步骤 A, 100 mg, 0.37 mmol)和 8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-胺二盐酸盐(157 mg, 0.74 mmol)。纯化获得 25 mg (21%)标题化合物。MS (ESI): $C_{16}H_{18}F_2N_4O$ 的计算质量, 320.14; 测定 m/z , 321.2 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 8.04(d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.41(br 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, $J = 12.0$ Hz, 2H)。

20

实施例 14



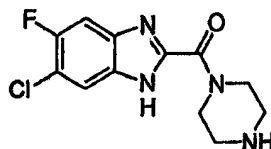
25

(6-氯-5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。

A. 6-氯-5-氟-2-三氟甲基-1H-苯并咪唑。反应按照常规方法 1 中的方法进行, 使用 4-氯-5-氟-1,2-苯二胺(1.00 g, 6.25 mmol)。干燥沉淀, 依次用二氯甲烷(3×10 mL)和己烷(3×10 mL)研磨, 获得 1.09 g (59%) 6-氯-5-氟-2-三氟甲基-1H-苯并咪唑。MS (ESI): $C_8H_3Cl_4FN_2$ 的计算质量, 285.90; 测定 m/z , 287.1[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 10.2(br s, 1H), 7.57(d, J = 5.6, 1H), 7.31(d, J = 9.0, 1H)。

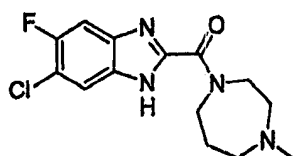
B. (6-氯-5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 6-氯-5-氟-2-三氟甲基-1H-苯并咪唑(100 mg, 0.35 mmol)和 N-甲基哌嗪(0.08 mL, 0.70 mmol)。纯化获得 58 mg (56%)标题化合物。MS (ESI): $C_{13}H_{14}ClFN_4O$ 的计算质量, 296.08; 测定 m/z , 297.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 7.71-7.69(br s, 1H), 7.39-7.37(br s, 2H), 4.65-4.63(m, 2H), 3.87(t, J = 4.5Hz, 2H), 2.59-2.57(m, 4H), 2.37(s, 3H)。

15

实施例 15**(6-氯-5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-哌嗪-1-基-甲酮。**

20 反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 6-氯-5-氟-三氟甲基-1H-苯并咪唑(实施例 14, 步骤 A, 100 mg, 0.35 mmol)和哌嗪(59 mg, 0.70 mmol)。纯化获得 10 mg (10%)标题化合物。MS (ESI): $C_{12}H_{12}ClFN_4O$ 的计算质量, 282.07; 测定 m/z , 283.1[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 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)。

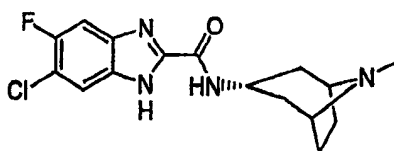
25

实施例 16

5 (6-氯-5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-[1,4]二氮杂环庚烷-1-基)-甲酮。

反应按照常规方法 2 中的方法进行，使用 6-氯-5-氟-2-三氟甲基-1H-苯并咪唑(实施例 14，步骤 A，100 mg，0.35mmol)和 N-甲基高哌嗪(79 mg，0.70 mmol)。纯化获得 29 mg (27%)标题化合物。MS (ESI): $C_{14}H_{16}ClFN_4O$ 的计算质量，310.10；测定 m/z ，311.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 11.2(br s, 1H), 7.72(br s, 1H), 7.41(br s, 1H), 4.64-4.61(m, 1H), 3.88(t, J = 6.1Hz, 1H), 3.93-3.91(m, 1H), 3.88(t, J = 6.1Hz, 1H), 2.87-2.84(m, 1H), 2.80-2.78(m, 1H), 2.66-2.62(m, 2H), 2.41(d, J = 5.1Hz, 3H), 2.17-2.11(m, 2H)。

10

实施例 17

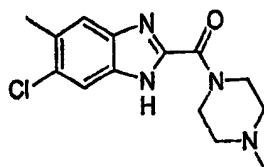
15 6-氯-5-氟-1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲酰胺。

20 反应按照常规方法 2 中的方法进行，使用 6-氯-5-氟-2-三氟甲基-1H-苯并咪唑(实施例 14，步骤 A，100 mg，0.35 mmol)和 8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-胺二盐酸盐(149 mg，0.70 mmol)。纯化获得 35 mg (30%)标题化合物。MS (ESI): $C_{16}H_{18}ClFN_4O$ 的计算质量，336.12；测定 m/z ，337.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 8.01(d, J = 8Hz, 1H), 7.71(br s, 1H), 7.52-7.38(m, 1H), 4.37-4.31(m, 1H), 3.24(s,

25

2H), 2.39-2.32(m, 5H), 2.26-2.22(m, 2H), 1.96-1.95(m, 2H), 1.86(d, J = 12.0 Hz, 2H).

实施例 18



5

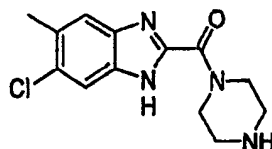
(5-氯-6-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。

A. 5-氯-6-甲基-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑。反应按照常规方法 1 中的方法进行, 使用 5-氯-6-甲基-1,2-苯二胺(1.00 g, 6.41 mmol)。干燥沉淀, 依次用二氯甲烷(3 × 10 mL)和己烷(3 × 10 mL)研磨, 获得 950mg (53%)标题中间体。MS (ESI): C₉H₆Cl₄N₂ 的计算质量, 281.93; 测定 m/z, 283.0[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.70(s, 1H), 7.52(s, 1H)。

B. (5-氯-6-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 5-氯-6-甲基-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(100 mg, 0.35 mmol)和 N-甲基哌嗪(0.08 mL, 0.71 mmol)。纯化获得 36mg (35%)标题化合物。MS (ESI): C₁₄H₁₇ClN₄O 的计算质量, 292.11; 测定 m/z, 293.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 11.5(br s, 1H), 7.71-7.32(bm, 2H), 4.74-4.72(m, 2H), 3.97-3.94(m, 2H), 2.58(t, J = 5.1Hz, 4H), 2.48(s, 3H), 2.38(s, 3H)。

20

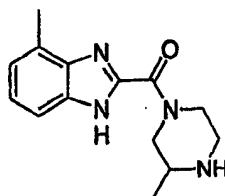
实施例 19



25

(5-氯-6-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-哌嗪-1-基-甲酮。

反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 5-氯-6-甲基-三氯甲基-1H-苯并咪唑(实施例 18, 步骤 A, 100 mg, 0.35 mmol)和哌嗪(60 mg, 0.71 mmol)。纯化获得 8 mg (8%)标题化合物。MS (ESI): $C_{13}H_{15}ClN_4O$ 的计算质量, 278.09; 测定 m/z , 279.1 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 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)。

实施例 20

10

(4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(3-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。

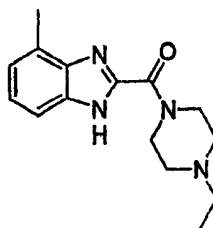
A. 4-甲基-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑。反应按照常规方法 1 中的方法进行, 使用 2,3-二氨基甲苯(1.19 g, 9.74 mmol)和 2,2,2-三氯乙亚氨酸甲酯(methyl-2,2,2-trichloroacidimidate)(1.20 mL, 9.74 mmol)。在硅胶上纯化(40 g; 40% EtOAc/己烷), 获得 830mg (34%)标题中间体。MS (ESI): $C_9H_7Cl_3N_2$ 的计算质量, 247.97; 测定 m/z , 249.0 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 9.78(s, 1H), 7.52(br s, 1H), 7.27(d, $J=7.4, 8.1$ Hz, 1H), 7.17(d, $J=7.4$ Hz, 1H), 2.64(s, 3H)。

B. (4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(3-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 THF (3mL)中的 4-甲基-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(100 mg, 0.40 mmol)和 2-甲基哌嗪(80 mg, 0.80 mmol)。纯化获得 27mg (26%)标题化合物。MS (ESI): $C_{14}H_{18}N_4O$ 的计算质量, 258.15; 测定 m/z , 259.2 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 旋转异构体的混合物: 11.61-11.58 (m, 1H), 7.68-7.57 (m, 0.5H), 7.24-7.18 (m, 1H), 7.10 (d, $J=7.1$ Hz, 1H), 6.18-5.84 (m, 1H), 4.73-4.67

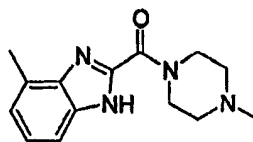
25

(m, 1H), 3.40 (ddd, $J = 3.03, 12.6, 14.15\text{Hz}$, 0.5H), 3.18-3.13 (m, 1H), 3.10-2.86 (m, 3.5 H), 2.70-2.45 (m, 4H), 1.80 (br s, 1H), 1.17 (d, $J = 6.32\text{ Hz}$, 3H)。

5

实施例 21**(4-乙基-哌嗪-1-基)-(4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮。**

反应按照常规方法 2 中的方法进行，使用 THF (3mL) 中的 4-甲
 10 基-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(实施例 20, 步骤 A, 100 mg, 0.40 mmol)
 和 N-乙基哌嗪(0.10 mL, 0.80 mmol)。纯化获得 67mg (62%) 标题化
 合物。MS (ESI): $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}$ 的计算质量, 272.16; 测定 m/z , 273.2
 [M+H]⁺。¹H NMR(400 MHz, CDCl_3): 10.89(s, 1H), 7.64(d, $J = 8.6\text{ Hz}$,
 0.5H), 7.33(d, $J = 8.6\text{ Hz}$, 0.5H), 7.22-7.18(m, 1H), 7.13(d, $J = 7.4\text{Hz}$,
 15 0.5H), 7.10(d, $J = 7.4\text{Hz}$, 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, $J = 7.3\text{ Hz}$, 2H), 1.14(t, $J = 7.1\text{Hz}$, 3H)。

实施例 22

20

(4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。

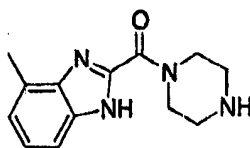
反应按照常规方法 2 中的方法进行，使用 4-甲基-2-三氯甲基-1H-
 苯并咪唑(实施例 20, 步骤 A, 100 mg, 0.40 mmol)和 N-甲基哌嗪(0.09

mL, 0.80 mmol)。纯化获得 51mg (50%)标题化合物。MS (ESI): $C_{14}H_{18}N_4O$ 的计算质量, 258.15; 测定 m/z , 259.2 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 11.53(br s, 1H), 7.64(d, $J = 8.3$ Hz, 0.5H), 7.32(d, $J = 8.3$ Hz, 0.5H), 7.25-7.18(m, 1H), 7.10(t, $J=7.3$ Hz, 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)。

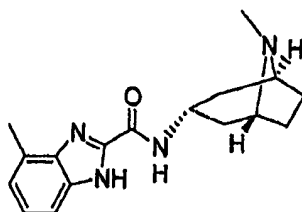
实施例 22 的其它制备方法(流程 1)

A. (4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲醇。3-甲基-苯-1,2-二胺(3.77g, 30.8 mmol)和羟基乙酸(5 mL, 70%水溶液)在 4N HCl (30 mL)中的混合物加热至 100 °C, 持续 2 小时。冷却热的混合物, 过滤。用浓 NH_4OH 中和滤液, 导致固体出现, 过滤收集该固体, 用水洗涤, 真空干燥, 得到 0.95g (19%)标题中间体。MS (ESI): $C_9H_{10}N_2O$ 的计算质量, 162.08; 测定 m/z , 163.1 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): 7.35(d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.10(dd, $J = 7.3, 8.1$ Hz, 1H), 7.00(d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 4.88(br, 3H), 2.55(s, 3H)。

B. (4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。向(4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲醇(0.84 g, 5.18 mmol)在水(10 mL)中的悬浮液加入 2M Na_2CO_3 (10 mL)。向混合物中滴加 0.1M $KMnO_4$ 溶液(1.4 g, 8.8 mmol)。该混合物加热至 100°C, 持续 2 小时, 然后趁热过滤, 冷却滤液, 用 3N 乙酸酸化。过滤收集所得固体, 用水洗涤, 真空干燥。酸粗品(0.56 g, 62%)无需进一步纯化即可用于酰胺偶联。向酸(111.6 mg, 0.63 mmol)在 DMF (3mL)中的悬浮液中加入 CDI (108.9 mg, 0.67 mmol), 混合物搅拌 1 小时。然后加入甲基哌嗪(80 μ L), 反应混合物在室温下搅拌 16 小时。将混合物倾入水(50 mL)中, 用二氯甲烷提取。合并提取物, 减压浓缩, 残留物在硅胶上纯化(10 g; 1-8%甲醇(2M NH_3)/二氯甲烷), 获得 124.3mg (76%)白色固体。MS 和 1H NMR 数据与上面获得的产物相符。

实施例 23**(4-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-哌嗪-1-基-甲酮。**

5 反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 4-甲基-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(实施例 20, 步骤 A, 100 mg, 0.40 mmol)和哌嗪(69 mg, 0.80 mmol)。纯化获得 4mg (4%)标题化合物。MS (ESI): $C_{13}H_{16}N_4O$ 的计算质量, 244.13; 测定 m/z , 245.2 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 10.36(s, 1H), 7.65(d, $J = 8.3$ Hz, 0.5H), 7.34(d, $J = 8.3$ Hz, 0.5H),
 10 7.24-7.20(m, 1H), 7.15(d, $J = 7.3$ Hz, 0.5H), 7.11(d, $J = 7.3$ Hz, 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)。

实施例 24

15

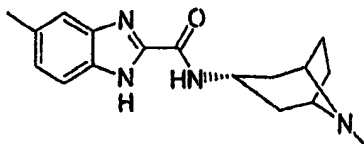
4-甲基-1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲酰胺。

20 反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 4-甲基-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(实施例 20, 步骤 A, 100 mg, 0.40 mmol)和 8-甲基-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-胺二盐酸盐(170 mg, 0.80 mmol)。纯化获得 16mg (13%)标题化合物。MS(ESI): $C_{17}H_{22}N_4O$ 的计算质量, 298.18; 测定 m/z , 299.3 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$)旋转异构体的混合物: 11.65-11.46(m, 1H), 8.12-8.07(m, 1H), 7.64(d, $J = 8.1$ Hz, 0.6H),

7.36(d, $J = 8.1\text{Hz}$, 0.4H), 7.24(t, $J = 8.1\text{Hz}$, 1H), 7.14(d, $J = 7.3\text{ Hz}$, 0.6H), 7.11(d, $J = 7.3\text{ Hz}$, 0.4H), 4.34(quin, $J = 6.8\text{ Hz}$, 1H), 3.23(br 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, $J = 14.4\text{ Hz}$, 2H).

5

实施例 25



5-甲基-1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲酰胺。

10

A. 5-甲基-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑。反应按照常规方法 1 中的方法进行, 使用 3,4-二氨基甲苯(1.33 g, 10.88 mmol)和 2,2,2-三氯乙亚氨酸甲酯(1.33 mL, 10.88 mmol)。在硅胶上纯化(40 g; 40% EtOAc/己烷), 获得 980mg (36%)标题中间体。MS (ESI): $\text{C}_9\text{H}_7\text{Cl}_3\text{N}_2$ 的计算质量, 247.97; 测定 m/z , 249.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 9.77(br s, 1H), 7.60(br s, 1H), 7.43(br s, 1H), 7.19(dd, $J = 1.3, 8.6\text{Hz}$, 1H), 2.50(s, 3H)。

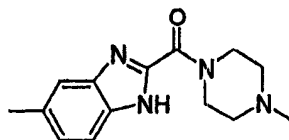
15

B. 5-甲基-1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲酰胺。反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 THF (3mL)中的 5-甲基-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(100 mg, 0.40mmol)和 8-甲基-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-胺二盐酸盐(170 mg, 0.80mmol)。纯化获得 12mg (10%)标题化合物。MS (ESI): $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}$ 的计算质量, 298.18; 测定 m/z , 299.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 11.55(br s, 1H), 8.02-7.96(m, 1H), 7.67(d, $J = 8.4\text{ Hz}$, 0.55H), 7.58(br s, 0.45H), 7.42(d, $J = 8.6\text{ Hz}$, 0.45H), 7.33(br s, 0.55H), 7.18-7.13(m, 1H), 4.34(q, $J = 7.07\text{Hz}$, 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, $J = 14.4\text{Hz}$,

25

2H)。

实施例 26



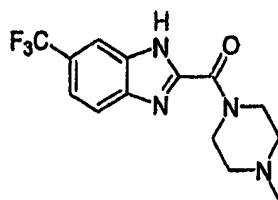
5

(5-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。

反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 5-甲基-2-三氟甲基-1H-苯并咪唑(实施例 25, 步骤 A, 100 mg, 0.40 mmol)和 N-甲基哌嗪(0.09 mL, 0.80 mmol)。纯化获得 36mg (35%)标题化合物。MS (ESI): $C_{14}H_{18}N_4O$ 的计算质量, 258.15; 测定 m/z , 259.2 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 11.24(br s, 1H), 7.69(d, $J = 8.3$ Hz, 0.6H), 7.60(br s, 0.4H), 7.39(d, $J = 8.3$ Hz, 0.4H), 7.29(br s, 0.6H), 7.18(d, $J = 8.3$ Hz, 0.4H), 7.13(d, $J = 8.3$ Hz, 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)。

15

实施例 27



(4-甲基-哌嗪-1-基)-(5-三氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮。

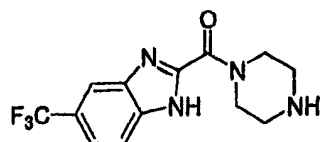
20 A. 2-三氟甲基-5-三氟甲基-1H-苯并咪唑。 反应按照常规方法 1 中的方法进行, 使用 4-(三氟甲基)-1,2-苯二胺(1.0g, 5.68 mmol)和 2,2,2-三氟乙亚氨酸甲酯(0.70mL, 5.68mmol)。在硅胶上纯化(40 g; 40% EtOAc/己烷), 获得 930mg (54%)标题中间体。MS (ESI): $C_9H_4Cl_3F_3N_2$ 的计算质量, 301.94; 测定 m/z , 303.0 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz,

CDCl₃): 10.16(br s, 1H), 8.18(br s, 0.55H), 7.98(br d, J = 8.08Hz, 0.5H), 7.83(br s, 0.45H), 7.71-7.63(m, 1.5H)。

5 B. (4-甲基-哌嗪-1-基)-(5-三氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮。反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 2-三氟甲基-5-三氟甲基-1H-苯并咪唑(100 mg, 0.33 mmol)和 N-甲基哌嗪(0.07 mL, 0.66 mmol)。纯化获得 42mg (41%)标题化合物。MS (ESI): C₁₄H₁₅F₃N₄O 的计算质量, 312.12; 测定 m/z, 313.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 8.01(br s, 1H), 7.74-7.70(m, 1H), 7.58(dd, J = 1.3, 8.6Hz, 1H), 4.78-4.76(m, 2H), 3.96-3.94(m, 2H), 2.60-2.56(m, 4H), 2.37(s, 3H)。

10

实施例 28

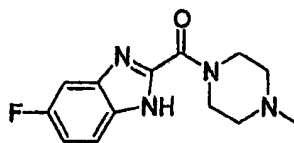


哌嗪-1-基-(5-三氟甲基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮。

15 反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 2-三氟甲基-5-三氟甲基-1H-苯并咪唑(实施例 27, 步骤 A, 100 mg, 0.33 mmol)和哌嗪(57 mg, 0.66 mmol)。纯化获得 6mg (6%)标题化合物。MS (ESI): C₁₃H₁₃F₃N₄O 的计算质量, 298.10; 测定 m/z, 299.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 11.01(br s, 1H), 8.12(br s, 0.5H), 7.87(br, 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)。

20

实施例 29

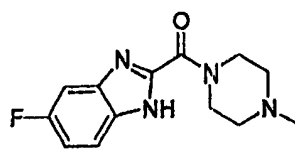


25

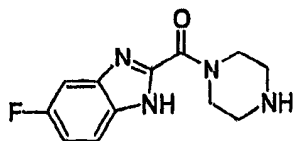
(5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。

A. 5-氟-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑。反应按照常规方法 1 中的方法进行，使用 4-氟-1,2-苯二胺(1.0g, 8.12mmol)和 2,2,2-三氯乙亚氨酸甲酯(1.0 mL, 8.12 mmol)。研磨所得沉淀，获得 1.20g (60%)标题
5 中间体。MS (ESI): $C_8H_4Cl_3FN_2$ 的计算质量, 251.94; 测定 m/z , 253.0 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 7.64(br s, 1H), 7.31(br s, 1H), 7.07(dt, $J = 2.27, 9.09$ Hz, 1H)。

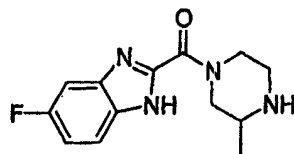
B. (5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。反应按照常规方法 2 中的方法进行，使用 5-氟-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(100
10 mg, 0.39 mmol)和 N-甲基哌嗪(0.09 mL, 0.79 mmol)。纯化获得 28 mg (27%)标题化合物。MS (ESI): $C_{13}H_{15}FN_4O$ 的计算质量, 262.12; 测定 m/z , 236.2 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 11.55(br s, 1H), 7.74(br s, 0.5H), 7.46(br s, 1H), 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,
15 3H)。

实施例 30**(4-乙基-哌嗪-1-基)-(5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮。**

反应按照常规方法 2 中的方法进行，使用 5-氟-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(实施例 29, 步骤 A, 100 mg, 0.39 mmol)和 N-乙基哌嗪(0.10mL, 0.79 mmol)。纯化获得 30mg (28%)标题化合物。MS(ESI): $C_{14}H_{17}FN_4O$ 的计算质量, 276.14; 测定 m/z , 277.2 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400
25 MHz, $CDCl_3$): 11.62(br s, 1H), 7.74(br s, 0.5H), 7.46(br s, 1H), 7.19(br s, 0.5H), 7.08(br s, 1H), 4.80-4.76(m, 2H), 3.96-3.93(m, 2H), 2.63-2.60(m, 4H), 2.50(q, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.14(t, $J = 7.3$ Hz, 3H)。

实施例 31**(5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-哌嗪-1-基-甲酮**

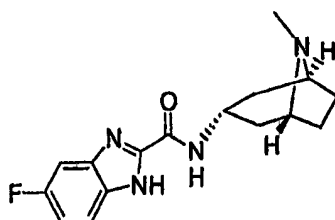
5 反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 5-氟-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(实施例 29, 步骤 A, 100 mg, 0.39 mmol)和哌嗪(68 mg, 0.79 mmol)。纯化获得 7mg (7%)标题化合物。MS (ESI): $C_{12}H_{13}FN_4O$ 的计算质量, 248.11; 测定 m/z , 249.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 11.26(br s, 1H), 7.72(br s, 0.5H), 7.46(br s, 1H), 7.19(br s, 0.5H), 10 7.09(br s, 1H), 4.74-4.71(m, 2H), 3.89-3.86(m, 2H), 3.05-3.02(m, 4H)。

实施例 32

15

(5-氟-1H-苯并咪唑-2-基)-(3-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。

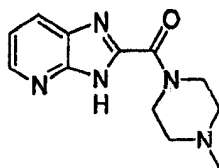
反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 5-氟-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(实施例 29, 步骤 A, 100 mg, 0.39 mmol)和 2-甲基哌嗪(79 mg, 0.79 mmol)。纯化获得 17mg (17%)标题化合物。MS (ESI): $C_{13}H_{15}FN_4O$ 的计算质量, 262.12; 测定 m/z , 263.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 11.45(br s, 1H), 7.74(br s, 0.5H), 7.46(br s, 1H), 7.19(br s, 0.5H), 7.08(br s, 1H), 6.57-6.03(m, 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), 20 3.08-2.87(m, 3H), 2.66-2.59(m, 0.5H), 1.19(d, $J = 6.3$ Hz, 1.5H), 25 1.18(d, $J = 6.3$ Hz, 1.5H)。

实施例 33**5-氟-1H-苯并咪唑-2-[N-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-基)]-甲酰胺。**

5 反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 5-氟-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(实施例 29, 步骤 A, 100 mg, 0.39 mmol)和 8-甲基-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-胺二盐酸盐(168 mg, 0.79 mmol)。纯化获得 17mg (15%) 标题化合物。MS (ESI): $C_{16}H_{19}FN_4O$ 的计算质量, 302.15; 测定 m/z , 303.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 12.01(br s, 1H), 8.06(d, J=7.8 Hz, 1H), 7.73(br s, 0.6H), 7.47(br s, 1H), 7.22(br s, 0.4H), 7.10(m, 1H), 4.35(q, J=7.1Hz, 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 Hz, 2H)。

10

15

实施例 34**(3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。**

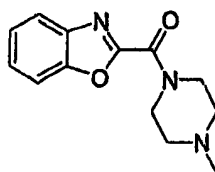
20 A. 2-三氯甲基-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶。 反应按照常规方法 1 中的方法进行, 使用 2,3-二氨基吡啶(1.0g, 9.16 mmol)和 2,2,2-三氯乙亚氨酸甲酯(1.13mL, 9.16mmol)。在硅胶上纯化(40g; 60% EtOAc/己烷), 获得 600mg (28%)标题中间体。MS (ESI): $C_7H_4Cl_3N_3$ 的计算质量, 234.95; 测定 m/z , 236.0 [M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 8.65(dd, J=1.5, 8.1Hz, 1H), 8.32(dd, J=1.3, 8.1Hz, 1H), 7.45(dd, J=4.8,

8.1Hz, 1H)。

5 B. (3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 THF (3mL) 中的 2-三氯甲基-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶(100mg, 0.43mmol)和 N-甲基哌嗪(0.09 mL, 0.86 mmol)。纯化获得 29mg (28%)标题化合物。MS(ESI): $C_{12}H_{15}N_5O$ 的计算质量, 245.13; 测定 m/z , 246.2[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 13.63(s, 1H), 8.71(d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 8.15(s, 1H), 7.34(dd, $J = 4.8, 8.3$ Hz, 1H), 4.77(br s, 2H), 3.96-3.93(m, 2H), 2.58(m, 4H), 2.36(s, 3H)。

10

实施例 35



苯并咪唑-2-基-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。

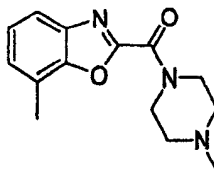
15 常规方法 3:

20 搅拌下, 2-氨基苯酚(300mg, 2.75 mmol)、2,2,2-三甲氧基乙酸甲酯(902mg, 5.50mmol)和三氟甲磺酸镱(170mg, 0.28 mmol)的甲苯(10mL)溶液加热至回流。5 小时后, 冷却混合物, 收集并干燥沉淀。固体粗品悬浮于甲苯(5 mL), 依次加入 N-甲基哌嗪(1.5mL, 13.7mmol)和 2-羟基吡啶(26mg, 0.28mmol)。混合物在密封的管中加热至 125°C, 持续 4 小时。减压浓缩所得黄色溶液, 残留物在硅胶上纯化(12g; 2% 甲醇/二氯甲烷), 获得 320mg (48%)标题化合物。MS (ESI): $C_{13}H_{15}N_3O_2$ 的计算质量, 245.12; 测定 m/z , 246.1[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 7.83-7.79(m, 1H), 7.66-7.65(m, 2H), 7.47-7.41(m, 2H), 4.19(t, $J = 5.1$ Hz, 4H), 3.88(t, $J = 5.1$ Hz, 4H), 2.55-2.52(m, 4H), 2.35(s, 3H)。¹³C NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 156.1, 154.6, 149.9, 140.1, 127.1,

25

125.3, 121.3, 111.5, 55.3, 54.6, 46.9, 45.9, 42.8。

实施例 36



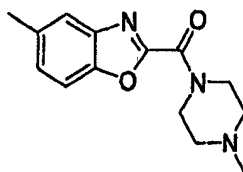
5

(7-甲基-苯并噁唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。

反应过程按照常规方法 3 中的方法进行, 起始原料为 2-氨基-6-甲基-苯酚(300 mg, 2.43 mmol)。纯化获得 410mg (65%)标题化合物。
MS (ESI): $C_{14}H_{17}N_3O_2$ 的计算质量, 259.13; 测定 m/z , 260.2[M+H]⁺。
10 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.66(d, J = 8.1Hz, 1H), 7.43(s, 1H), 7.23(dd, J = 8.1, 1.0 Hz, 1H), 4.22(t, J = 5.1Hz, 4H), 3.88(t, J = 5.1Hz, 4H), 2.54-2.52(m, 7H), 2.35(s, 3H)。 ¹³C NMR (400 MHz, CDCl₃): 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。

15

实施例 37



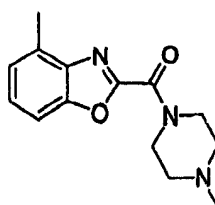
(5-甲基-苯并噁唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。

20

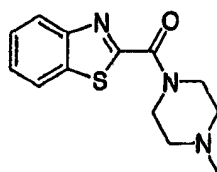
反应过程按照常规方法 3 中的方法进行, 起始原料为 2-氨基-4-甲基-苯酚(300 mg, 2.43 mmol)。纯化获得 212mg (34%)标题化合物。
MS (ESI): $C_{14}H_{17}N_3O_2$ 的计算质量, 259.13; 测定 m/z , 260.2[M+H]⁺。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.47(s, 1H), 7.40(d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.16(dd, J = 8.3, 1.7 Hz, 1H), 4.08(t, J = 5.1Hz, 4H), 3.76(t, J = 5.1Hz,

4H), 2.43-2.40(m, 4H), 2.38(s, 3H), 2.24(s, 3H)。¹³C NMR (400 MHz, CDCl₃): 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。

5

实施例 38**(4-甲基-苯并噁唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。**

反应过程按照常规方法 3 中的方法进行, 起始原料为 2-氨基-3-
 10 甲基-苯酚(300 mg, 2.43 mmol)。纯化获得 230mg (37%)标题化合物。
 MS (ESI): C₁₄H₁₇N₃O₂ 的计算质量, 259.13; 测定 m/z, 260.2[M+H]⁺。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.37(d, J = 8.1Hz, 1H), 7.27(t, J = 8.1Hz,
 1H), 7.13(d, J = 8.1Hz, 1H), 4.12(t, J = 5.1Hz, 4H), 3.81(t, J = 5.1Hz,
 4H), 2.56(s, 3H), 2.48-2.44(m, 4H), 2.28(s, 3H)。¹³C NMR (400 MHz,
 15 CDCl₃): 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。

实施例 39

20

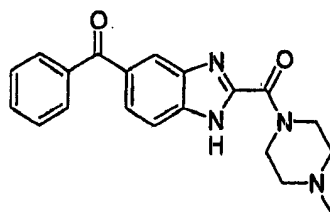
苯并噁唑-2-基-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。

A. 苯并噁唑-2-甲酸甲酯。搅拌下, 2-氨基苯硫酚(1.70 mL, 15.9 mmol)、2,2,2-三甲氧基乙酸甲酯(3.93 g, 23.9 mmol)和三氟甲磺酸镱(620 mg, 1.59 mmol)的甲苯溶液(10 mL)加热至回流。1.5 小时后, 冷

却混合物，减压除去溶剂。油状粗品在硅胶上纯化(40 g; 20-100%乙酸乙酯/己烷)，获得 2.00g (66%)标题中间体。MS (ESI): $C_9H_7NO_2S$ 的计算质量, 193.02; 测定 m/z , 194.1 $[M+H]^+$, 216.0 $[M+Na]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 7.58-7.54(m, 1H), 7.37-7.35(m, 2H), 6.95-6.87(m, 2H), 3.37(s, 3H)。 ^{13}C NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 164.82, 162.5, 156.9, 140.7, 131.9, 131.4, 128.6, 126.5, 57.0。

B. 苯并噻唑-2-基-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。苯并噻唑-2-甲酸甲酯(100 mg, 0.52 mmol)、N-甲基哌嗪(0.29 mL, 2.59 mmol)和 2-羟基吡啶(5mg, 0.05mmol)在甲苯(1.5 mL)中的混合物在微波炉中加热至 170°C, 持续 10 分钟。所得黄色溶液减压浓缩, 残余物用反相 HPLC 纯化, 获得 50mg (19%)标题化合物的三氟乙酸盐。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 8.11-8.08(m, 1H), 7.97-7.96(m, 2H), 7.55-7.45(m, 2H), 4.45(t, $J = 5.1Hz$, 4H), 3.88(t, $J = 5.1Hz$, 4H), 2.55-2.52(m, 4H), 2.35(s, 3H)。 ^{13}C NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 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。

实施例 40



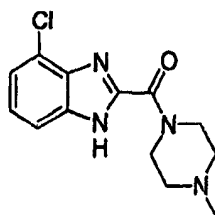
20 **(5-苯甲酰基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。**

A. (2-羟基甲基-1H-苯并咪唑-5-基)-苯基-甲酮。(3,4-二氨基-苯基)-苯基-甲酮(4.28g, 20.16 mmol)和羟基乙酸(5mL, 70%水溶液)在 4N HCl(40 mL)中的混合物加热至 100°C, 持续 2 小时。将热混合物倾入水中(350 mL), 使其冷却。用浓 NH_4OH 中和, 导致固体形成, 过滤收集该固体, 用水洗涤, 真空干燥获得 4.99g (98%)标题中间体。MS (ESI): $C_{15}H_{12}N_2O_2$ 的计算质量, 252.09; 测定 m/z , 253.1 $[M+H]^+$ 。 1H NMR

(400 MHz, CD₃OD): 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(br, 4H).

B. (5-苯甲酰基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。向(2-羟基甲基-1H-苯并咪唑-5-基)-苯基-甲酮(2.0g, 7.9mmol)在水(250mL)中的悬浮液中加入 2M Na₂CO₃ (10mL)。向混合物中滴加 0.1M KMnO₄ (1.9g, 12.0mmol)溶液。混合物加热至 100°C, 持续 2 小时, 然后趁热过滤, 冷却滤液, 用 3N 乙酸酸化。过滤收集所得固体, 用水洗涤, 真空干燥。酸粗品(0.63g, 30%)无需进一步纯化即可用于酰胺偶联。向酸(120.7mg, 0.45mmol)的 DMF (3mL)悬浮液中加入 CDI (82.3mg, 0.51mmol), 该混合物搅拌 1 小时。然后加入 N-甲基哌嗪(55μL), 反应混合物在室温下搅拌 16 小时。混合物倾入水中(50 mL), 用二氯甲烷提取。合并提取物, 减压浓缩, 残留物在硅胶上纯化(10 g; 1-8% 甲醇(2M NH₃)/二氯甲烷), 获得 71.8mg (45%)黄白色固体。MS (ESI): C₂₀H₂₀N₄O₂ 的计算质量, 348.16; 测定 m/z, 349.1[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 12.21(b 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)。

20

实施例 41

(4-氯-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。

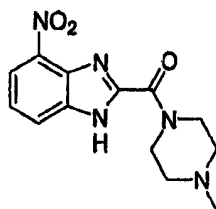
A. 4-氯-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑。反应按照常规方法 1 中的方法进行, 使用 3-氯-1,2-苯二胺(647mg, 4.52mmol)。1.5 小时后加入水(10mL), 过滤收集沉淀, 获得 1.04mg (86%)标题中间体。MS (ESI):

$C_8H_4C_4N_2$ 的计算质量, 269.9; 测定 m/z , 271.0 $[M+H]^+$ 。

5 B. (4-氯-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 4-氯-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑(1.04g, 3.86mmol)和 N-甲基哌嗪(0.39mL, 4.25mmol)。纯化获得 594mg (56%) 标题化合物。MS (ESI): $C_{13}H_{15}ClN_4O$ 的计算质量, 278.74; 测定 m/z , 279.5 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 12.3-11.19(s, 1H), 7.71-7.40 (m, 1H), 7.32(d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.23(d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 4.82-4.72(m, 2H), 3.96-3.93(m, 2H), 2.60-2.55(m, 4H), 2.37(s, 3H)。

10

实施例 42

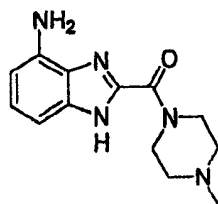


(4-甲基-哌嗪-1-基)-(4-硝基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮。

15 A. 4-硝基-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑。反应按照常规方法 1 中的方法进行, 使用 3-硝基-1,2-苯二胺(1g, 6.54mmol)。1.5 小时后加入水(10mL), 过滤收集沉淀, 获得 1.18mg (64%)标题中间体。MS (ESI): $C_8H_4Cl_3N_3O_2$ 的计算质量, 280.49; 测定 m/z , 281.2 $[M+H]^+$ 。

20 B. (4-甲基-哌嗪-1-基)-(4-硝基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮。反应按照常规方法 2 中的方法进行, 使用 4-硝基-2-三氯甲基-1H-苯并咪唑 (1.18g, 4.20mmol)和 N-甲基哌嗪(0.70mL, 6.30mmol)。纯化获得 801mg (66%)标题化合物。MS (ESI): $C_{13}H_{15}N_5O_3$ 的计算质量, 289.29; 测定 m/z , 290.3 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 11.36-11.24(s, 1H), 8.29(d, $J=7.8$ Hz, 1H), 8.17(d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.45(t, $J=7.8$ Hz, 1H), 4.71-4.68(m, 2H), 3.92-3.89(m, 2H), 2.58-2.54(m, 4H), 2.37(s, 3H)。

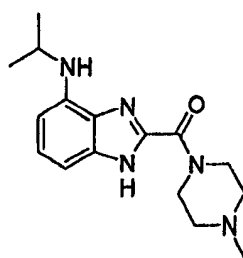
25

实施例 43**(4-氨基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。**

5 向(4-甲基-哌嗪-1-基)-(4-硝基-1H-苯并咪唑-2-基)-甲酮(640mg, 2.21mmol)的 1: 1 THF/乙醇溶液(10mL, 含有几滴乙酸乙酯)中加入 10%碳载钯(640mg)。反应混合物置于 1 大气压的氢下, 持续 72 小时。硅藻土过滤所得混合物, 减压浓缩滤液。粗产物在硅胶上纯化(40g; 0-10%甲醇/CH₂Cl₂), 获得 519mg (91%)标题化合物。MS (ESI):

10 C₁₃H₁₇N₅O 的计算质量, 259.31; 测定 m/z, 260.3[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 12.21-11.36(s, 1H), 7.12(t, J= 7.8 Hz, 1H), 6.94-6.83(m, 1H), 6.53(d, J= 7.8 Hz, 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)。

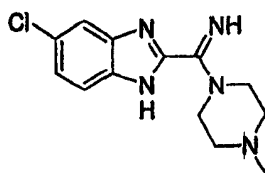
15

实施例 44**(4-异丙基氨基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮。**

20 向(4-氨基-1H-苯并咪唑-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮(实施例 43; 50mg, 0.19mmol)的二氯乙烷溶液(10mL)中加入丙酮(0.07mL, 0.96mmol)和乙酸(10 滴), 然后加入 NaBH(OAc)₃ (203mg, 0.96mmol)。反应混合物在室温下搅拌 16 小时, 然后用饱和 NaHCO₃ 水溶液(5mL)猝灭。水层用 CHCl₃ (10mL)提取, 合并有机层, 干燥(Na₂SO₄), 然后

减压浓缩。粗产物在硅胶上纯化(10 g; 0-10%甲醇(2M NH₃)/CH₂Cl₂), 获得 35mg 标题化合物(60%)。MS (ESI): C₁₆H₂₃N₅O 的计算质量, 301.39; 测定 m/z, 302.3[M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 11.11-11.07(s, 1H), 7.18(t, J = 7.8 Hz, 1H), 6.76(d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.37(d, J = 7.8 Hz, 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 = 6.3Hz, 6H)。

实施例 45



10

C-(5-氯-1H-苯并咪唑-2-基)-C-(4-甲基-哌嗪-1-基)-亚甲基胺。

向 5-氯-2-三氟甲基-1H-苯并咪唑(100mg, 0.37mmol)的乙腈悬浮液(4mL)中加入 N-甲基哌嗪(0.04 mL, 0.4 mmol)。混合物搅拌 10 分钟, 然后加入乙酸铵(29mg, 0.38mmol)。18 小时后, 反应混合物用饱和 NaHCO₃ 水溶液(10mL)稀释, 用二氯甲烷提取(3 × 10mL)。合并提取物, 干燥(Na₂SO₄), 减压浓缩。粗产物在硅胶上纯化(10 g; 0-10% 甲醇(2M NH₃)/二氯甲烷), 获得 23mg (22%)标题化合物。MS (ESI): C₁₃H₁₆N₄O 的计算质量, 277.11; 测定 m/z, 278.2 [M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): 7.79-7.74(m, 2H), 7.45(dd, J = 8.6, 2.0Hz, 1H), 4.23-4.17(m, 4H), 3.63-3.58(m, 4H), 3.01(s, 3H)。

20

生物学实施例

对重组人组胺 H₄ 受体的结合测定

SK-N-MC 细胞或 COS7 细胞用 pH4R 瞬时转染, 在 150cm² 组织培养皿中培养。细胞用盐溶液冲洗, 用细胞刮棒刮取细胞, 离心收

25

集(1000rpm, 5分钟)。细胞沉淀在 20mM Tris-HCl 中用 polytron 组织匀浆器高速匀浆 10 秒, 制备细胞膜。匀浆在 4°C 下于 1000rpm 离心 5 分钟。收集上清, 4°C 下 20,000 × g 离心 25 分钟。最终沉淀重悬于 50mM Tris-HCl 中。在有或没有过量组胺(10000nm)存在时, 细胞膜与 ³H-组胺(5-70nM)共同孵育。孵育在室温下进行 45 分钟。用 Whatman GF/C 过滤器快速过滤收集细胞膜, 用冰浴冷却的 50mM Tris HCl 洗涤 4 次。干燥滤器, 与闪烁液混合, 测定放射性。表达人组胺 H₄ 受体的 SK-N-MC 或 COS7 细胞用于测定其它化合物的结合亲和力, 以及通过在各种浓度的抑制剂或受试化合物存在下, 测定它们取代 ³H 配体结合的能力。对于使用 ³H-组胺的竞争性结合研究, 按照 Y.-C. Cheng 和 W.H. Prusoff (Biochem. Pharmacol. 1973, 22(23): 3099-3108): $K_i = (IC_{50}) / (1 + [L] / (K_D))$ 的方法, 根据实验测定 5nM 的 K_D 值和 5nM 的配体浓度, 计算 K_i 值。

15

结合测定的结果

<u>EX</u>	<u>K_i (nM)</u>	<u>EX</u>	<u>K_i (nM)</u>	<u>EX</u>	<u>K_i (nM)</u>
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

肥大细胞趋化性测定

肥大细胞在粘膜上皮的聚集是过敏性鼻炎和哮喘众所周知的特性。孔大小为 $8\mu\text{m}$ 的 Transwells(Costar, Cambridge, MA)用 $100\mu\text{l}$ 浓度为 100ng/mL 的人纤连蛋白(Sigma)在室温下包被 2 小时。除去纤连蛋白后, 在 $10\mu\text{M}$ 组胺存在下, 向底室中加入 $600\mu\text{L}$ 含有 5% BSA 的 RPMI。为测试各种组胺受体(HR)拮抗剂, 向顶室和底室中加入 $10\mu\text{M}$ 和/或 $1\mu\text{M}$ 受试化合物的溶液。向顶室中加入肥大细胞(2×10^5 /孔)。平板在 37°C 孵育 3 小时。除去 Transwells, 用流式细胞仪计数底室中的细胞, 持续 60 秒。

10 μM 组胺	HR 拮抗剂(μM):				结合测定 K _i (nM)
	10		1		
实施例	%抑制	Stdev	%抑制	Stdev	
9	97		72	11	28
6	97	1	84	5	25
7	101	1	8	15	87
25	27	75	66	12	613

10

H₄表达的细胞类型分布

根据厂商说明, 用 RNeasy 试剂盒(Qiagen, Valencia, CA)从不同细胞制备 RNA。RNA 样品($5\mu\text{g}$)在 RNA 凝胶上电泳, 然后转移过夜, 成为尼龙印迹(Hybond, Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ)。印迹与 ExpressHyb 溶液(CLONTECH)在 68°C 预杂交 30 分钟。H₄受体 DNA 用 Rediprime II 试剂盒(Amersham Pharmacia Biotech)标记。印迹在 68°C 杂交 2 小时, 然后进行第一洗涤步骤(室温, 40 分钟, 23 SSC 和 0.05% SDS)和第二洗涤步骤(50°C , 40 分钟, 0.13 SSC 和 0.1% SDS)。在 -70°C 下, 印迹暴露于带 2 个增感屏的 X-射线薄膜过夜。

20

结果

RNA 印迹的结果指出，H₄ 受体表达于骨髓衍生肥大细胞 (BMMC)、腹膜肥大细胞和嗜酸性粒细胞表面。这些阳性结果与发表的文献一致(如 Oda 等, Nguyen 等和 Morse 等, 参见发明背景)。但是, RNA 印迹实验的阴性结果与上述文献的发现不符, 例如发现不能测到嗜中性粒细胞中 H₄ 受体的表达水平。这可解释为使用的方法不同。肥大细胞和嗜酸性粒细胞在受影响组织中的聚集是过敏性鼻炎和哮喘的主要特征之一。由于 H₄ 受体的表达仅限于这些细胞类型; H₄ 受体信号传导可能介导组胺作用下的肥大细胞和嗜酸性粒细胞浸润。其它研究也可阐明这些问题。下表给出了 RNA 印迹法测定的 H₄ 表达的细胞类型分布。

物种	细胞类型	H ₄
人	嗜酸性粒细胞	+
	未成熟树突细胞	-
	成熟树突细胞	-
	CD14 ⁺ 单核细胞	-
	CD4 ⁺ T 细胞	-
	CD8 ⁺ T 细胞	-
	B 细胞	-
	嗜中性粒细胞	-
	小鼠/(大鼠)	嗜酸性粒细胞
小鼠/(大鼠)	腹膜肥大细胞(大鼠)	+
	BMMC	+
	BM 巨噬细胞	-
	腹膜巨噬细胞	-
	CD4 ⁺ T 细胞	-
	B 细胞	-

组胺 H₄受体拮抗剂对嗜酸性粒细胞形态改变的抑制

嗜酸性粒细胞在过敏反应部位的聚集是过敏性鼻炎和哮喘众所周知的特性。本实施例表明，组胺 H₄受体拮抗剂可阻断人嗜酸性粒细胞响应组胺的形态改变反应。形态改变是先于嗜酸性粒细胞趋化的细胞特征。

方法

通过菲可梯度从人血中分离人粒细胞。用 5-10 × Qiagen 裂解缓冲液在室温下裂解红细胞，持续 5-7 分钟。收集粒细胞，用 FACS 缓冲液洗涤一次。细胞以 2×10^6 细胞/mL 的密度重悬于反应缓冲液。为测试各种组胺受体拮抗剂的抑制，90 μL 细胞悬液 ($\sim 2 \times 10^5$ 细胞) 与 10 μM 一种受试化合物的溶液共同孵育。30 分钟后，加入 11 μL 一种浓度的组胺。10 分钟后，细胞转移到冰上，用 250 μL 冰冷却的固定缓冲液固定(2%甲醛)，持续 1 分钟。用门控自身荧光前向角散射测定(GAFS)(Byran et al., Am. J. Crit. Care Med. 2002, 165: 1602-1609)测试形态改变。

结果-组胺通过 H₄受体介导的嗜酸性粒细胞形态改变

嗜酸性粒细胞的形态改变是由趋化前细胞骨架改变引起的，因此是趋化性的衡量标准。下表中的数据表明，组胺对嗜酸性粒细胞以剂量依赖性引起形态改变。组胺受体(HR)拮抗剂用于寻找哪种组胺受体引起形态改变。特异性针对组胺 H₁受体的拮抗剂(苯海拉明)或针对 H₂受体的拮抗剂(雷尼替丁)不改变组胺引起的形态改变。但是，H₃/H₄双拮抗剂(噻普酰胺)和特异性组胺 H₄受体拮抗剂((5-氯-1H-吲哚-2-基)-(4-甲基-哌嗪-1-基)-甲酮, K_i = 5nM)抑制组胺引起的嗜酸性粒细胞形态改变，其 IC₅₀分别为 1.5 和 0.27 μM。

组胺(μM):	改变倍数				
	10	1	0.1	0.01	0
无 HR 拮抗剂	1.34	1.31	1.21	1.01	1.00
10 μM H ₄ 拮抗剂	1.09	1.05	1.05	1.01	1.00
10 μM 噻普酰胺	1.08	1.05	1.01	1.04	1.00
10 μM 苯海拉明	1.63	1.50	1.18	1.03	1.00
10 μM 雷尼替丁	1.64	1.49	1.21	1.04	1.00

组胺 H₄ 受体拮抗剂对嗜酸性粒细胞趋化性的抑制

嗜酸性粒细胞在过敏反应部位的聚集是过敏性鼻炎和哮喘众所周知的特性。嗜酸性粒细胞用标准方法从人血中纯化。趋化性测定用孔大小为 5 μm 的 Transwells (Costar, Cambridge, MA) 进行, 将其用 100 μL 100ng/mL 人纤连蛋白(Sigma)在室温下包被 2 小时。除去纤连蛋白后, 在组胺(范围为 1.25-20 μM)存在下, 向底室中加入 600 μL 含有 5% BSA 的 RPMI。为测试各种组胺受体拮抗剂, 可将 10 μM 受试化合物加入到顶室和底室中。将嗜酸性粒细胞加入到顶室中, 而将组胺或趋化因子加入到底室中。平板在 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 3 小时。除去 Transwells, 底室中的细胞数目用流式细胞仪计数, 持续 60 秒, 或者可用 Giemsa 染色法定量。

小鼠中组胺 H₄ 受体拮抗剂对酵母聚糖诱导腹膜炎的抑制

现已表明, 组胺 H₄ 受体拮抗剂可阻断酵母聚糖诱导的腹膜炎, 酵母聚糖为酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)细胞壁的不溶性多糖组分。它常用于在小鼠中诱导腹膜炎, 其作用方式显出肥大细胞依赖性。在该模型中测试本发明化合物, 以表明它们可用作抗炎剂。在时间 0 时, 皮下或口服给予小鼠化合物或 PBS。15 分钟后每只小鼠腹膜注射 1mg 酵母聚糖 A(Sigma)。4 小时后杀死小鼠, 用 3mL 含有 3mM EDTA 的 PBS 冲洗腹膜腔。取一份(100 μL)灌洗液, 用 Turk's

溶液(在 3%乙酸中的 0.01%结晶紫) 1: 10 稀释, 确定迁移白细胞的数量。漩涡振荡样品, 将 10 μ L 染色后的细胞溶液置于 Neubauer 血细胞计数器中。用光学显微镜(Olympus B061)进行不同细胞的计数。根据它们的染色特征和核与细胞质外观, 可轻松鉴别多形核白细胞 (PMN; >95%嗜中性粒细胞)。酵母聚糖处理增加嗜中性粒细胞的数量, 这是炎症反应的代表性特征。H₄受体拮抗剂处理阻断这种增加。

在哮喘和过敏性鼻炎动物模型中 H₄受体拮抗剂对肥大细胞趋化性的抑制

10 动物模型可用于测试响应过敏性炎症的肥大细胞聚集现象, 该现象可被 H₄受体拮抗剂阻断。可在该模型中测试本发明化合物, 以表明它们可用于治疗过敏性鼻炎或哮喘。在 0 天和 14 天, 小鼠通过腹膜内注射卵清蛋白/明矾(10 μ g 混和在 0.2ml Al(OH)₃ 中; 2%)致敏。在 21 天到 23 天, 用 PBS 或卵清蛋白刺激小鼠, 并在 24 天的最后刺激后 24 小时杀死小鼠。取出一段气管, 用福尔马林固定。进行石蜡包埋和气管纵切片后, 用甲苯胺蓝染色肥大细胞。或者, 气管冰冻

15 在 OCT 中, 冷冻切片, 用 IgE 染色鉴定肥大细胞。根据肥大细胞在每段气管中的位置, 测定其粘膜下或上皮下的数量。暴露于过敏原会增加上皮肥大细胞的数量, 这种效果会被 H₄受体拮抗剂阻断。

20 本发明的特征和优点是本领域普通技术人员显而易见的。基于本公开, 包括发明简述、发明详述、背景技术、实施例和权利要求书, 本领域的普通技术人员能针对各种情况和用途作出修改。本文中所述的出版物通过整体引用结合到本文中。其它的实施方案也在本发明的范围之内。